

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202390839** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2023.07.05

(51) Int. Cl. *A61K 39/00* (2006.01)
A61K 39/385 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.09.14

(54) **ГЕТЕРОЛОГИЧНАЯ ПРАЙМ-БУСТ ВАКЦИНА**

(31) 20195872.5; 20210671.2; 21155814.3;
21176373.5

(72) Изобретатель:
Вольман Гвидо, Дас Кришна (АТ),
Деруази Мадиха, Бельну Элоди (СН),
Эльберс Кнут (АТ)

(32) 2020.09.14; 2020.11.30; 2021.02.08;
2021.05.27

(33) EP

(74) Представитель:
Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)

(86) PCT/EP2021/075184

(87) WO 2022/053703 2022.03.17

(71) Заявитель:
**БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ
ИНТЕРНАЦИОНАЛЬ ГМБХ (DE)**

(57) Изобретение относится к вакцине, содержащей первый компонент (К) и второй компонент (V), в которой первый компонент (К) содержит комплекс, в котором проникающий в клетки пептид, антигенный домен и агонист TLR являются функционально связанными, и второй компонент (V) содержит онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, экспрессирующий антигенный домен. Изобретение дополнительно относится к применению вакцины по данному изобретению для лечения рака. Изобретение также обеспечивает рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, экспрессирующий антигенный домен, и его применение в противораковых вакцинах.

A1

202390839

202390839

A1

ГЕТЕРОЛОГИЧНАЯ ПРАЙМ-БУСТ ВАКЦИНА

5 **Область изобретения**

Настоящее изобретение относится к области противораковых вакцин, в частности, к гетерологичным прайм-буст вакцинам, которые содержат комплекс, состоящий из проникающего в клетку пептида, антигенного домена и агониста TLR в качестве первого компонента и рекомбинантного рабдовируса, кодирующего в своем геноме антигенный домен. Данное изобретение также относится к применению гетерологичной прайм-буст вакцины для лечения рака и обеспечивает рекомбинантный рабдовирус для применения в гетерологичных прайм-буст вакцинах.

Предпосылки создания изобретения

15 Большинство разрабатываемых стратегий вакцинации требуют многократных иммунизаций одним и тем же агентом, таким как вирусный вектор, кодирующий опухолевый антиген. Совсем недавно концепция гетерологичной прайм-буст иммунизации была протестирована на модели приматов, отличных от человека, с использованием рекомбинантного вируса вакцины, экспрессирующего SVmne gp160 для вакцинации, и рекомбинантно экспрессируемого gp160 в качестве бустерной вакцинации (Science 1992 Jan 24; 20 255(5043): 456-9). Эта стратегия включает последовательное введение различных вакцинных платформ, кодирующих один и тот же рекомбинантный антиген. Первоначально эффективность гетерологичной прайм-буст стратегии была продемонстрирована в исследованиях на животных инфекционных 25 заболеваний, таких как малярия и ВИЧ-1. В последнее время разрабатывается прайм-буст технология для использования у пациентов с опухолями: например, плазмидная ДНК, экспрессирующая укороченный рецептор эпидермального фактора роста человека 2 типа (HER2) и фактор стимуляции колоний гранулоцитов-макрофагов (GM-CSF) в качестве бицистронной мРНК, и 30 аденовирусный вектор, содержащий только такую же модифицированную последовательность HER2, использовали для лечения пациентов, страдающих раком молочной железы, экспрессирующим HER2 (Molecular Therapy — Methods & Clinical Development (2015) 2, 15031).

Принцип гетерологичной прайм-буст технологии заключается в том, чтобы заставить иммунную систему сфокусировать свой ответ на конкретном рекомбинантном антигене, избегая иммунного ответа на носитель антигена или систему доставки после последовательного введения того же антигенного носителя или системы доставки при использовании в гомологичных прайм-буст режимах. При гетерологичном прайм-буст режиме введение первого иммуногена праймирует цитотоксические Т-лимфоциты (CTL), специфичные к рекомбинантному антигену, однако праймирование также происходит для антигенного носителя или системы доставки. При введении неродственного второго носителя или системы доставки антигена, такого/такой как, например, вирусный вектор, во время «буст» фазы, иммунная система сталкивается с большим количеством новых антигенов. Поскольку второй носитель или система доставки антигена также кодирует рекомбинантный антиген, для которого уже существуют праймированные клетки, иммунная система вызывает сильную реакцию памяти, расширяя ранее праймированные CTL, которые специфичны для рекомбинантного антигена.

Недавно были изучены различные форматы гетерологичной прайм-буст вакцинации для лечения и профилактики опухолей, которые проходят как доклинические, так и клинические испытания (см., например: *Biomedicines* 2017, 5, 3).

Терапевтические противораковые вакцины, способные индуцировать опухолеспецифические иммунные ответы, становятся многообещающим терапевтическим подходом в онкологии. Однако по-прежнему сложно преодолеть аутоотолерантность и уклонение опухоли от распознавания иммунной системой, чтобы вызвать надежный долгосрочный клеточный иммунный ответ, способный распознавать и убивать опухолевые клетки. В настоящее время разрабатывается ряд противораковых вакцин, нацеленных на несколько опухолеспецифических антигенов, чтобы противодействовать ускользанию опухоли от распознавания иммунной системой и обеспечивать индукцию устойчивого клеточного иммунного ответа.

В других гетерологичных прайм-буст подходах применяется комбинация иммунизации с использованием аденовирусной вакцины перед лечением вирусом онколитического везикулярного стоматита (VSV), оба из которых экспрессируют один и тот же опухолеассоциированный антиген (Bridle, et al.

Molecular Therapy 18.8 (2010): 1430-1439). Однако этот тип гетерологичной прайм-буст вакцинации требует получения двух рекомбинантных вирусов, экспрессирующих соответствующие опухолеассоциированные антигены (ТАА), что технически сложно. Кроме того, было показано, что векторы, полученные из аденовируса (Ad), успешно вызывают сильные клеточные и гуморальные иммунные ответы у грызунов, нечеловеческих приматов (NHP), а также у людей после однократной инъекции (см., например, Molecular Therapy Vol 10 (4), октябрь 2004, стр. 616-629), что может исключить повторное введение того же аденовирусного вектора из-за сильного иммунного ответа против вектора при последующих применениях. Кроме того, ранее существовавший иммунитет против аденовирусных векторов может препятствовать клиническому использованию некоторых аденовирусных серотипов, таких как hAd5. В другом гетерологичном прайм-буст подходе на основе аденовирусов используется четырехвалентный мутированный трансген на основе белков E6 и E7 HPV16 и 18, который был клонирован в аденовирусный вирус и вирус Maraba MG1 (Atherton et al., Cancer Immunol Res 2017 окт; 5(10): 847-859). Однако этот подход требует производства двух вирусов, что технически сложно.

Таким образом, в данной области техники необходимо избегать технически сложного производства гетерологичной прайм-буст вакцины, включающей два вируса, и в то же время улучшать противоопухолевый эффект гетерологичных прайм-буст вакцин на основе VSV за счет уменьшения количества противовирусных CD8⁺ CTL, в то же время увеличивая количество антигенных CD8⁺ CTL, ассоциированных с опухолью, и иммунитет памяти, тем самым улучшая противоопухолевую эффективность гетерологичных прайм-буст вакцин.

Краткое описание изобретения

Настоящее изобретение удовлетворяет указанную выше потребность путем предоставления вакцины, которая включает два компонента, где первый компонент (K) содержит комплекс, который состоит из или содержит (i) пептид, проникающий в клетку; (ii) антигенный домен, содержащий по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, и (iii) по меньшей мере один пептидный агонист TLR, где компоненты (i) – (iii) ковалентно связаны, и где второй компонент (V) содержит рабдовирус, в частности, онколитический рабдовирус.

Следует понимать, что любой вариант осуществления, относящийся к конкретному аспекту, также может быть объединен с другим вариантом осуществления, также относящимся к этому конкретному аспекту, даже на множестве уровней и комбинаций, включающих несколько вариантов осуществления, относящихся к этому конкретному аспекту.

В соответствии с первым вариантом осуществления настоящее изобретение относится к вакцине, которая содержит два компонента, где первый компонент (К) включает комплекс, который состоит из или содержит (i) пептид, проникающий в клетку; (ii) антигенный домен, содержащий по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп; и (iii) по меньшей мере один пептидный агонист TLR, где компоненты (i) - (iii) ковалентно связаны, и где второй компонент (V) содержит рабдовирус, в частности, онколитический рабдовирус.

Согласно одному варианту осуществления проникающий в клетку пептид комплекса первого компонента (К) вакцины по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность в соответствии с одной из SEQ ID NO: 2 (Z13), SEQ ID NO: 3 (Z14), SEQ ID NO: 4 (Z15) или SEQ ID NO: 5 (Z18).

Согласно одному варианту осуществления первый компонент вакцины по данному изобретению содержит более одного пептидного агониста TLR, в частности 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более пептидных агонистов TLR, при этом по меньшей мере один агонист TLR вакцины по данному изобретению предпочтительно представляет собой пептидный агонист TLR2 и/или пептидный агонист TLR4.

В одном варианте осуществления, агонист TLR2 вакцины по данному изобретению содержит или состоит из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 6 или 7, агонист TLR4 содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 8 и/или варианты функциональной последовательности SEQ ID NO: 6 или 7 и/или SEQ ID NO: 8.

В одном варианте осуществления агонист TLR2 вакцины по данному изобретению представляет собой аннексин II или его иммуномоделирующий фрагмент.

В одном варианте осуществления, агонист TLR2 по данному изобретению содержит или состоит из аминокислотной последовательности в соответствии с аннексином II, кодирующей последовательность SEQ ID NO: 6 или SEQ ID NO: 7, или её фрагментов и/или функциональных фрагментов, или он может содержать

или состоять из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 9 (белок 1 высококомобильной группы) или по меньшей мере одного её иммуномодулирующего фрагмента.

5 В некоторых вариантах осуществления пептидный агонист TLR2 может содержать или состоять из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 9 (белок 1 высококомобильной группы) или по меньшей мере из одного её иммуномодулирующего фрагмента.

10 В одном варианте осуществления агонист TLR4 по данному изобретению состоит из или содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 8 (EDA).

15 В соответствии с одним вариантом осуществления по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп антигенного домена указанного первого компонента вакцины по данному изобретению выбран из группы, состоящей из пептида, полипептида или белка, где антигенный домен комплекса указанного первого компонента (К) предпочтительно содержит более одного антигена или антигенного эпитопа, в частности 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более антигенов или антигенных эпитопов, которые предпочтительно расположены последовательно в указанном комплексе.

20 В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп содержит или состоит из по меньшей мере одного опухолевого или ракового эпитопа. В соответствии с одним вариантом осуществления по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп по настоящему изобретению содержит или состоит из по меньшей мере одного опухолевого эпитопа, который предпочтительно выбирают из антигена, ассоциированного с опухолью, опухолеспецифического антигена или неантигена опухоли.

30 В одном варианте осуществления, по меньшей мере один опухолевый эпитоп антигенного домена указанного первого компонента (К) выбирают из группы опухолей, включающей эндокринные опухоли, опухоли желудочно-кишечного тракта, мочеполовые и гинекологические опухоли, рак молочной железы, опухоли головы и шеи, гематопозитические опухоли, опухоли кожи, опухоли органов грудной клетки и органов дыхания. Более конкретно, по меньшей мере один опухолевый или раковый эпитоп антигенного домена указанного первого компонента по настоящему изобретению может быть выбран

из группы опухолей или раковых заболеваний: опухоли желудочно-кишечного тракта, включая рак анального канала, рак аппендицита, холангиокарциному, карциноидную опухоль, рак толстой кишки желудочно-кишечного тракта, рак внепеченочного желчного протока, рак желчного пузыря, гастриальный рак (желудка), карциноидную опухоль желудочно-кишечного тракта, стромальную опухоль желудочно-кишечного тракта (GIST), гепатоцеллюлярный рак, рак поджелудочной железы, рак прямой кишки, колоректальный рак или метастатический колоректальный рак. Предпочтительно по меньшей мере один опухолевый или раковый эпитоп антигенного домена указанного первого компонента (К) выбирают из группы опухолеассоциированных антигенов, опухолеспецифических антигенов или опухолевых неоантигенов колоректального рака или метастатического колоректального рака.

Согласно одному варианту осуществления по меньшей мере один опухолевый или раковый эпитоп антигенного домена комплекса первого компонента (К) вакцины по данному изобретению представляет собой эпитоп антигена, выбранного из группы, состоящей из EpCAM, HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, CEA, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART, IL13Ральфа2, ASCL2, NY-ESO-1, MAGE-A3, мезотелина, PRAME, WT1.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления по меньшей мере один опухолевый или раковый эпитоп антигенного домена комплекса первого компонента (К) вакцины по данному изобретению представляет собой эпитоп антигена, выбранного из группы, состоящей из ASCL2, EpCAM, MUC-1, сурвивина, CEA, KRas, MAGE-A3 и IL13Ральфа2, предпочтительно по меньшей мере один опухолевый эпитоп представляет собой эпитоп антигена, выбранного из группы, состоящей из ASCL2, EpCAM, MUC-1, сурвивина, CEA, KRas и MAGE-A3, более предпочтительно по меньшей мере один опухолевый эпитоп представляет собой эпитоп антигена, выбранного из группы, состоящей из ASCL2, EpCAM, MUC-1, сурвивина и CEA; даже более предпочтительно по меньшей мере один опухоловой эпитоп представляет собой эпитоп антигена, выбранного из группы, состоящей из ASCL2, EpCAM, сурвивина и CEA; еще более предпочтительно по меньшей мере один опухоловой эпитоп представляет собой эпитоп антигена, выбранного из группы, состоящей из ACSL2, сурвивина и CEA.

В одном варианте осуществления, антигенный домен комплекса указанного первого компонента (К) вакцины по данному изобретению содержит эпитоп сурвивина, который предпочтительно содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 12, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности. Более предпочтительно, антигенный домен комплекса указанного первого компонента (К) вакцины по настоящему изобретению содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 22. Еще более предпочтительно, антигенный домен комплекса указанного первого компонента (К) вакцины по данному изобретению содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 23 или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

В одном варианте осуществления, антигенный домен комплекса указанного первого компонента (К) вакцины по данному изобретению содержит эпитоп СЕА, который предпочтительно содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 24, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности, более предпочтительно аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 26 и или SEQ ID NO: 27, более предпочтительно аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 25 или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

В одном варианте осуществления, антигенный домен комплекса указанного первого компонента (К) вакцины по данному изобретению содержит эпитоп ASCL2, который предпочтительно содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 15, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности, более предпочтительно аминокислотную

последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 16 и или SEQ ID NO: 17, более предпочтительно аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 18 или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности

5 последовательности.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления антигенный домен вакцины по данному изобретению содержит в направлении от N-конца к C-концу один или более эпитопов СЕА или вариантов его функциональной последовательности; один или несколько эпитопов сурвивина или вариантов его функциональной последовательности; и один или несколько эпитопов ASCL2 или вариантов его функциональной последовательности.

В соответствии с одним предпочтительным вариантом осуществления, антигенный домен комплекса первого компонента (К) вакцины по данному изобретению содержит в направлении от N-конца к C-концу пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 24, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, в частности имеющей по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности; пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 12 или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, в частности имеющей по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности; и пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 15, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, в частности имеющей по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

Предпочтительно пептид, состоящий из аминокислоты в соответствии с SEQ ID NO: 24, непосредственно связан с N-концом пептида, состоящего из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 12, который непосредственно связан с N-концом пептида, состоящего из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 15.

В соответствии с одним предпочтительным вариантом осуществления, антигенный домен комплекса первого компонента (К) вакцины по данному изобретению содержит пептид, состоящий из аминокислотной

последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 25 или варианта её функциональной последовательности, в частности имеющей по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности, пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 23 или варианта её функциональной последовательности, в частности имеющей по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности, и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 18 или варианта её функциональной последовательности, в частности имеющей по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности, предпочтительно, когда пептиды связаны, как описано выше.

В соответствии с более предпочтительным вариантом осуществления, антигенный домен комплекса первого компонента (К) вакцины по данному изобретению содержит пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 45 или варианта её функциональной последовательности, в частности имеющей по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения, комплекс первого компонента (К) содержит в направлении от N-конца к С-концу проникающий в клетку пептид, антигенный домен и агонист TLR, причем указанный комплекс содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 60 или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

В одном варианте осуществления второй компонент (V) вакцины по данному изобретению содержит рекомбинантный рабдовирус, предпочтительно рекомбинантный онколитический рабдовирус, выбранный из рода везикуловирусов, предпочтительно везикуловирус, более предпочтительно вирус везикулярного стоматита.

В одном варианте осуществления, рекомбинантный везикуловирус, в частности онколитический рекомбинантный везикуловирус, данного изобретения, как описано выше, выбирают из группы, включающей такие как: вирус везикулярного стоматита Алагоас (VSAV), вирус Караяс (CJSV), вирус Чандипура (CHPV), вирус Кокал (COCV), вирус везикулярного стоматита

Индиана (VSIV), вирус Исфахан (ISFV), вирус Мараба (MARAV), вирус
везикулярного стоматита Нью-Джерси (VSNJV) или вирус Пири (PIRYV),
преимущественно рекомбинантный везикуловирус, в частности онколитический
рекомбинантный везикуловирус, данного изобретения представляет собой вирус
5 везикулярного стоматита, более предпочтительно рекомбинантный
везикуловирус, в частности онколитический рекомбинантный везикуловирус,
данного изобретения представляет собой один из вирусов везикулярного
стоматита Индиана (VSIV) или вирус везикулярного стоматита Нью-Джерси
(VSNJV).

10 В одном варианте осуществления, рекомбинантный вирус везикулярного
стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус
везикулярного стоматита, такой как вирус везикулярного стоматита Индиана
(VSIV) или вирус везикулярного стоматита Нью-Джерси (VSNJV), данного
изобретения не содержит (функциональный) ген, кодирующий гликопротеин G,
15 и/или не содержит (функциональный) гликопротеин G, который может быть
замещен геном, кодирующим гликопротеин GP другого вируса, и/или
гликопротеин G замещен гликопротеином GP другого вируса. В некоторых
вариантах осуществления, ген, кодирующий гликопротеин G, замещен геном,
кодирующим гликопротеин GP аренавируса; и/или гликопротеин G замещен
20 гликопротеином GP аренавируса. В других вариантах осуществления, ген,
кодирующий гликопротеин G, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP
вируса Данденонг или вируса Мопея; и/или гликопротеин G замещен
гликопротеином GP вируса Данденонг или вируса Мопея. Преимущественно, ген,
кодирующий гликопротеин G, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP
25 вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и/или гликопротеин G
замещен гликопротеином GP вируса LCMV.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления,
рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно
онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, такой как
30 вирус везикулярного стоматита Индиана (VSIV) или вирус везикулярного
стоматита Нью-Джерси (VSNJV), в соответствии с данным изобретением, как
описано выше, включает ген, кодирующий гликопротеин GP вируса LCMV и/или
гликопротеин GP вируса LCMV, причем гликопротеин GP вируса LCMV
содержит или состоит из аминокислотной последовательности в соответствии с

SEQ ID NO: 46, или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95% идентична ей. Кроме того, рекомбинантный вирус везикулярного стоматита второго компонента (V) по данному изобретению преимущественно кодирует в своём геноме нуклеопротеин (N), большой белок (L), фосфопротеин (P), матриксный белок (M), гликопротеин (G) вируса везикулярного стоматита и по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп антигенного домена комплекса первого компонента (K), как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, второго компонента (V) кодирует в своём геноме по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп комплекса первого компонента (K), как раскрыто в данном описании, причем ген, кодирующий гликопротеин G вируса везикулярного стоматита, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и/или гликопротеин G вируса везикулярного стоматита замещен гликопротеином GP вируса LCMV. В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, второго компонента (V) кодирует в своём геноме нуклеопротеин (N), большой белок (L), фосфопротеин (P), матриксный белок (M), гликопротеин (G) вируса везикулярного стоматита и по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп комплекса первого компонента (K), как раскрыто в данном описании, причем ген, кодирующий гликопротеин G вируса везикулярного стоматита, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и/или гликопротеин G замещен гликопротеином GP вируса LCMV.

В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, второго компонента (V) кодирует в своём геноме второй антигенный домен, состоящий из аминокислотной последовательности антигенного домена первого компонента (K), в частности, как раскрыто в данном описании.

В соответствии с одним вариантом осуществления, рекомбинантный вирус везикулярного стоматита по данному изобретению, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, второго

компонента (V) вакцины по данному изобретению кодирует в своём геноме второй антигенный домен, содержащий по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, выбранный из группы, включающей CEA (SEQ ID NO: 24), Сурвивин (SEQ ID NO: 12), ASCL2 (SEQ ID NO: 15), MUC-1 (SEQ ID NO: 19),
5 EpCAM (SEQ ID NO: 40), KRas (SEQ ID NO: 30) и MAGE-A3 (SEQ ID NO: 10). Преимущественно, (второй) антигенный домен (кодируемый в геноме) рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, преимущественно онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, данного изобретения, как описано выше, содержит по меньшей мере один антиген или
10 антигенный эпитоп CEA (SEQ ID NO: 24). Также желательно, чтобы (второй) антигенный домен (кодируемый в геноме) рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, преимущественно онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, данного изобретения, как описано выше, содержал по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп сурвивина (SEQ
15 ID NO: 12). Также желательно, чтобы (второй) антигенный домен (кодируемый в геноме) рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, преимущественно онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, данного изобретения, как описано выше, содержал по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп ASCL2 (SEQ ID NO: 15).

20 В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления, рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, второго компонента (V) данного изобретения кодирует в своём геноме антигенный домен, содержащий в направлении от N-конца к С-концу один или несколько
25 эпитопов CEA или их вариантов функциональной последовательности, один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности и один или несколько эпитопов ASCL2 или их вариантов функциональной последовательности. Желательно, чтобы антигенный домен, кодируемый в геноме рекомбинантного вируса везикулярного стоматита,
30 преимущественно онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, второго компонента (V) в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном описании, содержал аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45.

В соответствии с одним вариантом осуществления, вакцина данного изобретения, как описано выше, предназначена для применения в лечении и/или предотвращении (или профилактике) опухоли или рака у пациента, которому это необходимо. Соответственно, первый компонент (К) и второй компонент (V) вакцины по данному изобретению, как раскрыто в данном описании, преимущественно вводят по меньшей мере один раз, преимущественно в порядке (К) – (V), более предпочтительно в порядке К-V-К. Желательно, чтобы первый компонент (К) и второй компонент (V) вакцины по данному изобретению вводили последовательно с разницей от 14 дней до приблизительно 30 дней. Для достижения долговременной памяти Т-клеток против антигенов антигенного домена, как раскрыто в данном описании, первый компонент (К) данного изобретения можно вводить повторно, например, через 14 дней, 21 день, 60 дней, 180 дней после последнего введения первого компонента (К) вакцины по данному изобретению, как раскрыто в данном описании, например, в порядке К-V-К-К.

Вакцину по настоящему изобретению можно использовать (в медицине) в сочетании с терапевтически активным агентом, таким как химиотерапевтический агент, иммунотерапевтический агент (такой как ингибитор контрольной точки иммунного ответа) или таргетное лекарственное средство. В одном из вариантов осуществления вакцину по настоящему изобретению, как описано выше, вводят в комбинации с терапевтически активным агентом, таким как химиотерапевтический агент, ингибитор контрольной точки иммунного ответа, иммунотерапевтический агент или таргетное лекарственное средство. Ингибитор контрольной точки иммунного ответа для применения (в медицине) в комбинации с вакциной по данному изобретению преимущественно представляет собой ингибитор пути PD-1/PD-L1, при этом ингибитор пути PD-1/PD-L1 можно, например, вводить одновременно, последовательно или попеременно с первым компонентом (К) и/или вторым компонентом (В) вакцины.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу увеличения инфильтрации опухоли специфичными к опухолевому антигену Т-клетками, при этом способ включает введение млекопитающему, преимущественно человеку, вакцины в соответствии с данным изобретением, как описано выше. В частности, настоящее изобретение обеспечивает способ увеличения инфильтрации опухоли опухолевыми антиген-специфическими Т-

клетками у пациента, при этом способ включает введение пациенту (пораженному опухолью или раком) вакцины по настоящему изобретению.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение дополнительно обеспечивает рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, как определено в настоящем документе, кодирующий в своем геноме второй антигенный домен, содержащий по меньшей мере один, два, три или преимущественно все антигены или антигенные эпитопы антигенного домена комплекса первого компонента (К). Настоящее изобретение дополнительно относится к применению рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, особенно онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, как определено в данном описании, для модулирования клеточного цитотоксического иммунного ответа против опухоли у млекопитающего, а также к его применению в вакцине данного изобретения.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения нуждающегося в этом пациента, пораженного опухолью, при этом способ включает введение указанному пациенту вакцины данного изобретения как раскрыто в данном описании. Как раскрыто в данном описании, способ лечения, например, также включает введение вакцины данного изобретения и по меньшей мере одного дополнительного фармацевтически активного агента, такого как, например, ингибитор контрольной точки иммунного ответа, и/или химиотерапии.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение относится к набору для использования в вакцинации для лечения, профилактики и/или стабилизации колоректального рака, включающему вакцину, как раскрыто в данном описании, и другие фармацевтически активные агенты, как раскрыто в данном описании, для применения в профилактике и/или лечении колоректального рака.

В соответствии с дополнительным вариантом осуществления настоящее изобретение относится к вирусу везикулярного стоматита, в котором РНК-геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80. Соответственно, рабдовирус,

преимущественно онколитический рабдовирус, второго компонента (V) вакцины по данному изобретению может представлять собой вирус везикулярного стоматита, в котором РНК-геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%,
5 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80.

В предпочтительном варианте осуществления, настоящее изобретение относится к вирусу везикулярного стоматита, в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК,
10 идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80, при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50,
15 нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49, матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52, большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51, гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную
20 последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59. Соответственно, рабдовирус, преимущественно онколитический рабдовирус, второго компонента (V) вакцины по данному изобретению может представлять собой вирус везикулярного стоматита, в
25 котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80, при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме фосфопротеин (P),
30 содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50, нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49, матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52, большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ

ID NO: 51, гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

5 В дополнительном предпочтительном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает вакцину, которая содержит два компонента, где первый компонент (K) содержит комплекс, который состоит из или содержит (i) проникающий в клетку пептид; (ii) антигенный домен, содержащий по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп; и (iii) по меньшей мере один пептидный агонист TLR, где указанные компоненты (i) – (iii) являются
10 ковалентно связанными, и где второй компонент (V) содержит рабдовирус, преимущественно онколитический рабдовирус, при этом рабдовирус, преимущественно онколитический рабдовирус, второго компонента (V) представляет собой вирус везикулярного стоматита, в котором РНК геном
15 вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80.

В более предпочтительном варианте осуществления, настоящее
20 изобретение обеспечивает вакцину, которая содержит два компонента, где первый компонент (K) содержит комплекс, который состоит из или содержит проникающий в клетку пептид; антигенный домен, содержащий по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп; и по меньшей мере один пептидный агонист TLR, и где второй компонент (V) содержит рабдовирус,
25 преимущественно онколитический рабдовирус, при этом рабдовирус, преимущественно онколитический рабдовирус, второго компонента (V) представляет собой вирус везикулярного стоматита, в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%,
30 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80, при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50, нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность,

состоящую из SEQ ID NO: 49, матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52, большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51, гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

В дополнительном аспекте, настоящее изобретение обеспечивает полипептид, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60, для применения в медицине, в частности для применения в схеме иммунизации, в комбинации с вирусом везикулярного стоматита, в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80.

В предпочтительном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает полипептид, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60 для применения в медицине, в частности для применения в схеме иммунизации, в комбинации с вирусом везикулярного стоматита, в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80, при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50, нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49, матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52, большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51, гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

В другом связанном аспекте настоящее изобретение относится к вирусу везикулярного стоматита, в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80 для применения в медицине, в частности для применения в схеме иммунизации, в комбинации с полипептидом, содержащим или состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60.

В предпочтительном варианте осуществления, настоящее изобретение относится к вирусу везикулярного стоматита, в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80, для применения в медицине, в частности для применения в схеме иммунизации, в комбинации с полипептидом, содержащим или состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60, при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50, нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49, матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52, большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51, гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

В ещё одном другом связанном аспекте, настоящее изобретение обеспечивает набор частей, содержащих полипептид и вирус везикулярного стоматита, в котором указанный полипептид содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60, и в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80, преимущественно дополнительно

включающий ингибитор контрольной точки иммунного ответа пути PD-1/PD-L1, преимущественно выбранный из группы, состоящей из таких как: пембролизумаб; ниволумаб; пидилизумаб; цемиплимаб; PDR-001; атезолизумаб; авелумаб; дурвалумаб, антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:63, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:64; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:65, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:68; и антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70.

В предпочтительном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает набор частей, содержащих полипептид и вирус везикулярного стоматита, в котором указанный полипептид содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60, и в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80, при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50, нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49, матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52, большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51, гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

Краткое описание рисунков

Фигура 1: А) Рисунок геномной организации вируса везикулярного стоматита вакцины по данному изобретению, в котором гликопротеин G заменен на гликопротеин GP вируса LCMV, экспрессирующий один или несколько опухолевых антигенов в качестве дополнительного трансгена. (В) Рисунок первого компонента (К) вакцины, включающего проникающий в клетку пептид (CPP), мультиантигенный домен (Mad) и агонист TLR (TLRag).

Фигура 2: *Гетерологичная прайм-буст вакцинация с использованием первого компонента (К) и второго компонента (V, «VSV-GP-ТАА») в соответствии с данным изобретением превосходит гомологичную вакцинацию с любой платформой вакцины.* (А-С) Мышей C57BL/6 без опухолей иммунизировали против (А) овальбумина (Ova, модельный антиген), (В) Adpgk и Reps1 (неоантиген, модель опухоли MC38, Mad24; Mad24 содержит два неоэпитопа класса I, т.е. adpgk и reps1 (описано в Yadav et al., 2014) или (С) E7 (вирусный антиген, модель опухоли Tc1) либо с 2 нмоль первого компонента (К), введенного подкожно (п.к.), либо с 10^7 TCID₅₀ VSV-GP-ТАА (второй компонент (V)), нацеленным на соответствующий опухолевый антиген, которые вводят (А) внутримышечно (в.м.) или (В, С) внутривенно (в.в.) в дни, указанные стрелками. Фракцию CD8⁺ Т-клеток, специфичных к (А) Ova, (В) Adppgk и (С) E7, в периферической крови иммунизированных мышей измеряли через 7 дней после каждой вакцинации с помощью МНС-мультимеров.

Фигура 3: *Гетерологичная прайм-буст вакцинация с использованием первого компонента (К) и второго компонента (V, «VSV-GP-ТАА») в соответствии с данным изобретением превосходит гомологичную вакцинацию с любой платформой вакцины.* Мышей иммунизировали 2 нмоль первого компонента (К), кодирующего ОВА, в качестве антигена в антигенном домене, т.е. Mad5 (SEQ ID NO: 74) вакцины данного изобретения, (п.к.) в день 0 и 14 и 1×10^7 TCID₅₀ VSV-GP-Ova вводили в качестве второго компонента (V) либо в.м., либо в.в. на 7 день, как указано стрелками. (А) Частоту Ova-реактивных CTL среди CD8⁺ Т-клеток в кровотоке оценивали на 4, 14, 21, 44, 72, 98 и 134 день после праймирования. Количество Ova-реактивных CTL в (В) селезенке и (С) костном мозге иммунизированных мышей измеряли через 19 недель после праймирования. Количество Ova специфических цитотоксических Т-клеток с эффектором (KLRG1⁺) и фенотипом предшественника памяти

(CD127⁺) оценивали в **(D)** периферической крови, **(E)** селезенке и **(F)** костном мозге через 134 дня после первой вакцинации. Мультиантигенная конструкция Mad5 содержит четыре специфичных для мыши антигенных эпитопа: эпитопы класса I и класса II, полученные из овальбумина (OVA257-264 и OVA323-339 соответственно), эпитоп класса I, полученный из гликопротеина аутоантигена 100 (gp10025-33) и эпитоп класса II из альфа-цепи молекулы I-E класса II (E α 52-68).

Фигура 4: Праймирование первым компонентом (K) улучшает функциональность периферических антиген-специфических CTL. **(A)** Схема экспериментального плана. Мышей с пальпируемыми опухолями TC-1 вакцинировали либо 2 нмоль первого компонента (K) (антигенный домен, содержащий Mad25, вводимый п.к.) на 7-й день либо 1×10^7 TCID₅₀ второго компонента (V) (VSV-HPV, вводимый в.в.) в день 14, или дважды 2 нмоль первого компонента (K) на 7 и 14 дни, или дважды вторым компонентом (V) на 7 и 14 дни. Селезенки собирали на 21 день после имплантации опухолей TC-1 для анализа CD8 лимфоцитов. VSV-HPV содержит полноразмерные гены, кодирующие три различных антигена E2, E6* и E7* (состоящие из одного и того же антигенного домена Mad25), которые происходят от HPV16. Исходные последовательности E6 и E7 были мутированы, чтобы нести точечные мутации, которые аннулируют их онкогенность. **(B)** Продукция цитокинов рестимулированными *ex vivo* HPV-специфичными CD8 Т-клетками, измеренная с помощью окрашивания во внутриклеточной проточной цитометрии. **(C)** Экспрессию гранзима В селезеночными CD8 Т-клетками измеряли с помощью проточной цитометрии. Гранзим В является маркером дегрануляции.

Фигура 5: Праймирование первым компонентом (K) вакцины улучшает функциональность внутриопухолевых антиген-специфических CTL. **(A)** Схема экспериментального плана. Мышей с пальпируемыми опухолями TC-1 вакцинировали либо 2 нмоль первого компонента (K) вакцины (антигенный домен: Mad25, п.к.) на 7-й день и 1×10^7 TCID₅₀ второго компонента (V) (VSV-HPV, содержащего тот же антигенный домен Mad25, вводимый в.в.) на 14-й день после имплантации опухоли TC-1, или дважды вторым компонентом (V) (VSV-HPV, вводимый в.в.) на 7-й и 14-й дни после имплантации опухоли TC-1. Опухоли собирали на 21 день после имплантации для анализа инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL). VSV-HPV содержит

полноразмерные гены, кодирующие три различных антигена E2, E6* и E7* (состоящие из одного и того же антигенного домена Mad25), которые происходят от HPV16. Исходные последовательности E6 и E7 были мутированы, чтобы нести точечные мутации, которые аннулируют их онкогенность. **(B)**

5 Частоту экспрессии маркеров активации и истощения (PD1, Tim3, KLRG1) HPV-специфическими CD8 Т-клетками измеряли с помощью проточной цитометрии. **(C)** Продукцию цитокинов рестимулированными *ex vivo* HPV-специфическими CD8 Т-клетками измеряли с помощью окрашивания во внутриклеточной проточной цитометрии.

10 **Фигура 6: Ремоделирование иммуносупрессивного микроокружения опухоли (ТМЕ) после гетерологичной вакцинации.** Мышей с пальпируемыми опухолями Тс1 иммунизировали 2 нмоль первого компонента (К) (антигенный домен: Mad25, содержащий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 75, вводимый п.к.) и вторым компонентом (V) (VSV-GP-HPV, включающий антигенный домен Mad25 (SEQ ID NO: 75), вводимый в.в.) на 7 и 14 день соответственно. Опухоли собирали на 15 21 день, и инфильтрующие опухоль иммунные клетки характеризовали с помощью проточной цитометрии. **(A)** Показано соотношение различных подмножеств иммунных клеток среди всех лейкоцитов и **(B)** доля различных подмножеств дендритных клеток (DC) среди всех DC.

20

Фигура 7: Терапевтический эффект вакцины KVKK на моделях сингенных опухолей, экспрессирующих овальбумин. Мышам C57BL/6 вводили 3×10^5 клеток EG.7. Мышам вводили 2 нмоль первого компонента (К), содержащего антигенный домен Mad39, содержащий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 77 (вводили п.к., пунктирные линии), 1×10^7 TCID₅₀ VSV-GP-OVA (содержащий антигенный домен Mad39 и полноразмерный ген, кодирующий овальбумин в его геноме), при внутривенном введении (пунктирные линии) или 200 мкг антитела α PD-1, вводимые в.в. Кровь брали через 7 дней после вакцинации для анализа на тетрамеры. Введение либо 25 первого компонента (К), либо второго компонента (V) (VSV-GP-OVA) проводили на 5, 12, 19 и 26 дни после имплантации опухоли. Введение антитела α PD-1 проводили на 7, 11, 15, 19, 23 и 27 дни после имплантации опухоли. Контроли были выполнены с имитацией лечения и только с антителом α PD-1. Были протестированы четыре различных схемы лечения: VVVV, KKKK, KVKK

30

и KVKK + α PD-1. Изображены **(А)** рост опухоли и **(В)** выживаемость после лечения. Число полных респондеров (серые), т. е. мышей без опухолей, среди общего числа мышей (черные) указано в скобках рядом с кривыми роста опухоли для каждой группы лечения. Показана **(С)** частота Ова-специфических CTL и **(D)** доля PD-1-позитивных среди Ова тетрамер-позитивных клеток в периферической крови. **(Е)** Корреляция между величиной ответа Ова (день 26) и размерами опухоли (день 25) изображена для трех разных групп лечения.

Фигура 8: Эффективность терапевтической вакцинации против рака с использованием первого компонента (К) и второго компонента (V) вакцины (VSV-GP-TAA) в моделях сингенных опухолей, нацеленных на неопитомы. Мышам C57BL/6 вводили 2×10^5 клеток MC-38 подкожно в правый бок. Мышей вакцинировали против Adpgk и Repr1 (неоэпитомы MC-38, антигенный домен Mad24, SEQ ID NO: 76), используя 2 нмоль первого компонента (К), содержащего Mad24, вводимого п.к., или 1×10^7 TCID₅₀ второго компонента (V) (VSV-GP-TAA, содержащий Mad24, вводимый в.в.) в указанные дни (пунктирные линии). Кроме того, мыши получали 200 мкг антитела α PD-L1 внутривенно (в.в.) в указанные дни (пунктирные линии). Введение либо первого компонента (К) либо второго компонента (V) (VSV-GP-TAA) проводили на 3, 10, 17 и 24 день после инъекции клеток MC-38. Введение антитела α PD-1 проводили на 6, 10, 13, 17, 20, 24 и 27 дни после инъекции клеток MC-38. Контроли были выполнены с имитацией лечения и только с антителом α PD-1. Были протестированы четыре различных схемы лечения: VVVV, KKKK, KVKK и KVKK + α PD-1. Изображена **(А)** кривая роста опухоли и **(В)** выживаемость животных. Число полных респондеров (серые), т. е. мышей без опухолей, среди общего числа мышей (черные) указано в скобках рядом с кривыми роста опухоли для каждой группы лечения. **(С)** Частоту циркулирующих Adpgk-специфических CD8 Т-клеток оценивали с помощью проточной цитометрии через 7 дней после каждой вакцинации.

Фигура 9: Эффективность терапевтической противораковой вакцинации с использованием первого компонента (К) и второго компонента (V) VSV-GP-TAA в моделях сингенных опухолей, нацеленных на онковирусный антиген. В качестве проверки концепции мышам C57BL/6 вводили $1,5 \times 10^5$ клеток Тс-1 п.к. в правый бок. Мышей вакцинировали против E7 (онкобелок, полученный из HPV, экспрессируемый в клетках ТС-1), используя 2 нмоль

первого компонента (K), содержащего антигенный домен Mad25 (SEQ ID NO: 75) п.к. и 1×10^7 TCID₅₀ VSV-GP-TAA в.в. в указанные дни (красные пунктирные линии). Кроме того, мыши получали 200 мкг антитела αPD-1 в.в. в указанные дни (черные пунктирные линии). Введение либо первого компонента (K) либо второго компонента (V) (VSV-GP-TAA) проводили на 7, 14, 28 и 49 день после инъекции клеток TC-1. Введение антитела αPD-1 проводили на 7, 14 и 28 день после инъекции клеток TC-1. Контроли были выполнены с имитацией лечения и только с антителом αPD-1. Были протестированы четыре различных схемы лечения: VVVV, KKKK, KVKK и KVKK + αPD-1. Изображены (A) кривые роста опухоли и (B) выживаемость животных. (C) Частоту циркулирующих HPV-E7-специфических CD8 T-клеток оценивали с помощью проточной цитометрии через 7 дней после каждой вакцинации. Показана (D) корреляция между долей антиген-специфических CTL и размером опухоли. Количество полных респондеров (серые) среди всех мышей (черные) указано в скобках рядом с кривыми роста опухоли для каждой группы лечения.

Фигура 10: *Создание долговременной иммунной памяти у вакцинированных мышей.* Наличие циркулирующих опухолеспецифических CTL против вакцинированных антигенов оценивали у долгоживущих особей, у которых отторглись подкожные опухоли после терапевтической вакцинации. Показана частота (A) Ova-специфических, (B) Adpgk-специфических и (C) E7-специфических CD8⁺ T-клеток в периферической крови мышей, которые отторгли (A) опухоли EG.7, (B) MC38 и (C) Tc1.

Фигура 11: *Защита от повторного заражения опухолью у вакцинированных мышей.* Выжившим мышам из разных групп лечения повторно вводили (A) EG.7 или (B) Tc1 клетки на противоположном боку, и был изображен рост опухоли. Панель B показывает объединенные данные из 3 независимых экспериментов. Были включены однопометники того же возраста (контроль). Количество мышей без опухолей (серые) среди всех мышей (черные) указано в скобках рядом с кривыми роста опухоли для каждой кривой роста опухоли.

Фигура 12: *Компонент K способствует образованию T-клеток памяти у вакцинированных мышей.* (A-C) Мышей без опухолей иммунизировали 2 нмоль первого компонента (K), содержащего антигенный домен Mad5 (SEQ ID NO: 74) п.к. или 1×10^7 TCID₅₀ VSV-GP-Ova (содержащий

антигенный домен Mad5 и полноразмерный ген, кодирующий овальбумин) в.м. в дни 0, 14 и 28 (указаны стрелками). Соотношение CD127-KLRG-1⁻ ранних эффекторных клеток (ЕЕС), KLRG-1⁺ короткоживущих эффекторных клеток (SLEC) и CD127⁺ эффекторных клеток-предшественников памяти (МРЕС) среди Ова-специфических CD8⁺ Т-клеток измеряли в периферической крови через 7 дней после каждой иммунизации и показано для (А) гомологичной вакцинации (ККК), (В) гомологичной вакцинации VSV-GP-Ova (VVV) и (С) гетерологичной прайм-буст вакцинации (КVK).

Фигура 13: Иммуногенность первого компонента (К) и второго компонента (V) в гетерологичном прайм-бусте. (А) Частота циркулирующих СЕА-специфических CD8 Т-клеток после 3 вакцинаций либо первым компонентом (К) (SEQ ID NO: 60, «АТР128», VSV-GP-пустой вирус ((VSVФ), VSV-GP-Mad128 (SEQ ID NO: 80), который представляет собой VSV-GP, кодирующий антигенный домен в соответствии с SEQ ID NO: 45, VSV-GP-Mad128Анаха, который представляет собой VSV-GP, кодирующий аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO: 71, который содержит антигенный домен, содержащий SEQ ID NO: 45 и иммуномодулирующий фрагмент аннексина II (SEQ ID NO: 7) или VSV-GP-АТР128, который представляет собой VSV-GP, кодирующий в своем геноме комплекс, содержащий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 60, оцененную с помощью окрашивания декстрамером клеток крови (3-5 мышей/группу) у мышей без опухолей. (В) Количественно определяли количество KLRG1⁺ PD-1⁺ активированных клеток среди СЕА-специфических, циркулирующих CD8 Т-клеток. * p<0,05; ** p<0,01.

Фигура 14: СЕА-специфический иммунный ответ на периферии. IFN γ -продуцирующие СЕА-специфические Т-клетки определяли количественно с помощью анализа методом иммуноферментных пятен (ELISPOT) (А) и путем внутриклеточного окрашивания цитокин-продуцирующих CD8 Т-клеток (В) в селезенке через 1 неделю после 3-й вакцинации. К представляет собой АТР128 (SEQ ID NO: 60). VSV-GP-пустой вирус ((VSVФ), VSV-GP-Mad128 (SEQ ID NO: 80), VSV-GP-Mad128Анаха и VSV-GP-АТР128 идентичны компонентам, представленным на Фигуре 13. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001.

Фигура 15: Частота гранзим В-позитивных циркулирующих СЕА-специфических CD8 Т-клеток. Мышам без опухолей сделали 3 вакцинации

либо первым компонентом К («АТР128», SEQ ID NO: 60), VSV-GP-пустым вирусом, VSV-GP-Mad128 (Mad128 содержит антигенный карго, содержащий аминокислоту согласно SEQ ID NO: 45), VSV-GP-Mad128Апаха (антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 71) или VSV-GP-АТР128 (VSV-GP, кодирующий в своем геноме первый компонент К, включающий аминокислотную последовательность согласно до SEQ ID NO: 60). Частоту гранзима В (GzB) позитивных циркулирующих СЕА-специфических CD8 Т-клеток оценивали путем окрашивания декстрамером клеток крови (испытывали 5 мышей в группе). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

10 **Фигура 16: Праймирование первым компонентом (К) улучшает функциональность периферических HPV-специфичных Т-клеток.** Мышам C57BL/6J вводили п.к. клетки ТС-1 на 0-й день и вакцинировали первым компонентом К (антигенный домен, содержащий Mad25, вводимый п.к.) или вторым компонентом (V) (VSV-HPV, вводимый в.в.) на 7-й и 14-й день. Кровь, селезенку и опухоли собирали на 21-й день для проточного цитометрического анализа. Анализировали 4-5 мышей на группу. (А) Частоту и (В) количество HPV-E7-специфических CD8+ Т-клеток измеряли с помощью проточной цитометрии в крови. Тест Манна-Уитни (* $p < 0,05$). Изображены (С) доли периферических HPV-E7-специфических CD8+ Т-клеток, экспрессирующих маркеры активации и истощения. Двухфакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с множественным сравнением Сидака (***) $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$).

20 **Фигура 17: Праймирование первым компонентом (К) улучшает функциональность внутриопухолевых HPV-специфичных Т-клеток. (А-Ж)** Мышам C57BL/6J вводили п.к. клетки ТС-1 в 0-й день и вакцинировали первым компонентом К (антигенный домен, содержащий Mad25, вводимый п.к.) или вторым компонентом (V) (VSV-HPV, вводимый в.в.) на 7-й и 14-й день. Кровь, селезенку и опухоли собирали на 21-й день для проточного цитометрического анализа. Анализировали 4-5 мышей на группу. (А) Частоту и (В) количество HPV-E7-специфических CD8+ Т-клеток измеряли с помощью проточной цитометрии в опухолях. Тест Манна-Уитни (* $p < 0,05$).

30 **Фигура 18: Профили генной экспрессии после гетерологичной вакцинации указывают на сильную иммунную активацию в обработанных опухолях.** (А-И) Мышей C57BL/6J, несущих опухоли ТС-1, иммунизировали, как в Примерах 7 и 8, или не лечили (mock). Опухоли собирали на 23 день после

имплантации опухоли для транскриптомного анализа с использованием технологии NanoString®. **(A, B)** Генная экспрессия в опухолях TC-1 из каждой группы вакцинации была нормализована к имитационным опухолям, и показана доля **(A)** значительно ап-регулируемых генов (кратность изменения [FC] > 2 и $p < 0,05$) и **(B)** значительно даун-регулируемых генов (отрицательная обратная величина FC < -2 и значения $p < 0,05$). **(C, D)** Диаграммы Венна отображают общее количество значительно **(C)** ап-регулируемых и **(D)** даун-регулируемых генов после различных схем вакцинации и перекрытия между каждым набором генов. **(E-I)** Тепловые карты отображают относительную экспрессию генов в виде z-показателей (масштабированных для каждого гена), а иерархическая кластеризация (евклидово расстояние, среднее сцепление) применялась к выборочным данным, где каждый столбец представляет одну отдельную опухоль. Показана экспрессия типичных генов, связанных с **(E)** цитотоксическими Т-клетками, **(F)** цитокинами, **(G)** дендритными клетками, **(H)** хемокинами и **(I)** презентацией антигена. 7-10 мышей проанализированы для каждой группы лечения, значения p рассчитывали с использованием двустороннего t-критерия, и приводили значения p с поправкой на частоту ложных открытий (FDR), рассчитанные с использованием процедуры Бенджамини-Екутиели.

Фигура 19: Гены с уникальной ап-регуляцией после вакцинации KV. Список генов, уникально ап-регулируемых в опухолях TC-1 после гетерологичной вакцинации KV. Гены с кратностью изменения > 2,0 (нормализованы к имитационно обработанным опухолям) и значением p с поправкой на FDR < 0,05, как показано на Фиг. 18С.

Фигура 20: Ремоделирование иммуносупрессивного микроокружения опухоли (ТМЕ) после гетерологичной прайм-буст вакцинации. Мышей с пальпируемыми опухолями TC-1 иммунизировали, как в Примерах 7 и 8. **(A)** Уровни цитокинов и хемокинов в плазме определяли количественно на 15-й день, и они показаны как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего (SEM). Однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с множественным сравнением Тьюки (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$). Пунктирные линии указывают предел количественного определения. **(B-C)** Опухоли собирали на 21-й день, и лейкоциты, проникающие в опухоль, характеризовали с помощью проточной цитометрии (анализировали 2-3 мыши на

группу). Показано **(B)** общее количество лейкоцитов CD45+ (среднее) и **(C)** относительные соотношения различных подмножеств иммунных клеток среди всех лейкоцитов. **(D)** Репрезентативные иммуногистохимические изображения показывают инфильтрацию Т-клеток (CD8) в опухолях TC-1 через 23 дня после имплантации опухоли после различных вакцинаций. Нижняя панель показывает увеличенный вид ограниченной области с верхней панели. Масштабные линейки: верхний ряд 500 мкм, нижний ряд 50 мкм.

Фигура 21: Роль прайма с первым компонентом (K). Мышам вводили 1×10^5 клеток TC-1 п.к. и иммунизировали с помощью 2 нмоль первого компонента (K) -(антигенный домен, содержащий Mad25) п.к. через 7 дней или с помощью 1×10^7 TCID₅₀ VSV-GP-HPV в.в.. через 14 дней после имплантации опухоли, как описано выше для модели TC-1. Вводили дополнительные дозы K и V, как показано пунктирными линиями, и наблюдали за ростом опухоли (n=7). Показан **(A)** рост опухоли (среднее значение \pm SEM), **(B)** выживаемость и **(C)** индивидуальный рост опухоли. Был проведен логарифмический ранговый тест (***) $p < 0,001$).

Подробное описание данного изобретения

Хотя настоящее изобретение подробно описано ниже, следует понимать, что это изобретение не ограничено конкретными методологиями, протоколами и реагентами, описанными в данном документе, поскольку они могут варьироваться. Также следует понимать, что используемая в данном документе терминология не предназначена для ограничения объема настоящего изобретения, который будет ограничиваться только прилагаемой Формулой изобретения. Если не указано иное, все используемые здесь технические и научные термины имеют те же значения, которые обычно понимает специалист в данной области.

Далее будут описаны элементы настоящего изобретения. Эти элементы перечислены вместе с конкретными вариантами осуществления, однако следует понимать, что их можно комбинировать любым образом и в любом количестве для создания дополнительных вариантов осуществления. Разнообразно описанные примеры и предпочтительные варианты осуществления не должны толковаться как ограничивающие настоящее изобретение только явно описанными вариантами осуществления. Следует понимать, что это описание поддерживает и охватывает варианты осуществления, которые сочетают явно

описанные варианты осуществления с любым количеством раскрытых и/или предпочтительных элементов. Кроме того, любые перестановки и комбинации всех описанных элементов в этой заявке следует считать раскрытыми в описании настоящей заявки, если контекст не указывает иное.

5 Во всем этом описании и последующей Формуле изобретения, если контекст не требует иного, термин «содержать» и варианты, такие как «содержит» и «содержащий», будут пониматься как подразумевающие включение указанного члена, целого числа или этапа, но не исключение любого
10 другого неуказанного члена, целого числа или этапа. Термин «состоит из» является частным вариантом осуществления термина «содержит», в котором исключается любой другой неуказанный член, целое число или этап. В контексте настоящего изобретения термин «содержать» охватывает термин «состоит из». Таким образом, термин «содержащий» охватывает «включающий», а также «состоящий», например, композиция, «содержащая» X, может состоять
15 исключительно из X или может включать что-то дополнительное, например, X + Y.

Термины в единственном числе, используемые в контексте описания изобретения (особенно в контексте Формулы изобретения), должны толковаться как охватывающие как единственное, так и множественное число, если иное не
20 указано в настоящем документе или явно противоречит контексту. Перечисление диапазонов значений в данном документе предназначено только для того, чтобы служить в качестве сокращенного способа ссылки на каждое отдельное значение, попадающее в диапазон. Если здесь не указано иное, каждое отдельное значение включено в описание, как если бы оно было приведено здесь отдельно. Никакая
25 формулировка в спецификации не должна толковаться как указывающая на какой-либо не заявленный элемент, существенный для практического применения данного изобретения. Слово «по существу» не исключает «полностью», например, композиция, которая «по существу свободна» от Y, может быть полностью свободна от Y. При необходимости слово «по существу»
30 может быть опущено в определении данного изобретения.

Термин «приблизительно» по отношению к числовому значению x, как он используется в данном описании, означает $x \pm 10\%$.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном описании, имеют то же значение, которое обычно понимается

специалистом в области, к которой относится данное изобретение. Хотя способы и материалы, аналогичные или эквивалентные описанным в данном описании, могут быть использованы при практическом применении или тестировании настоящего изобретения, подходящие способы и материалы описаны ниже. Все публикации, патентные заявки, патенты и другие ссылки, упомянутые в данном описании, полностью включены в качестве ссылки. В случае конфликта настоящего описания, включая определения, заменит любое другое определение. Кроме того, материалы, способы и примеры носят исключительно иллюстративный характер и не предназначены для ограничения.

10 В первом аспекте настоящее изобретение обеспечивает вакцину, которая содержит первый компонент (K) и второй компонент (V), при этом первый компонент (K) содержит комплекс, где указанный комплекс состоит из или содержит:

(i) проникающий в клетку пептид;

15 (ii) антигенный домен, содержащий по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп; и

(iii) по меньшей мере один пептидный агонист TLR,

где указанные компоненты i) – iii) являются ковалентно связанными, и

где второй компонент (V) содержит рабдовирус, преимущественно

20 онколитический рабдовирус.

В частности, рабдовирус, преимущественно онколитический рабдовирус, второго компонента (V) может кодировать антигенный домен или по меньшей мере один антиген (фрагмент) или его антигенный эпитоп, комплекса первого компонента (K). Другими словами, по крайней мере один соответствующий антиген (фрагмент) или эпитоп может быть (1) включен в комплекс первого компонента (K) и (2) кодироваться (например, в геноме) рабдовирусом, преимущественно онколитическим рабдовирусом, второго компонента (V).
Дополнительные подробности, касающиеся соответствующих антигенов первого и второго компонентов, описаны ниже.

30 Неожиданно было обнаружено, что вакцина по настоящему изобретению приводит к (i) стимуляции мультиэпитопного цитотоксического Т-клеточно-опосредованного иммунитета против эпитопов антигенного домена, (ii) индукции T_H клеток, (iii) стимулированию иммунологической памяти, (iv) изменению соотношения анти-векторных к анти-целевым Т-клеточным ответам

и в то же время преодолению технических проблем, связанных с продуцированием нескольких вирусов.

Преимущественно, комплекс первого компонента (К) вакцины по данному изобретению представляет собой полипептид или белок, в частности
5 рекомбинантный полипептид или рекомбинантный белок, преимущественно рекомбинантный слитый белок или рекомбинантный слитый полипептид. Термин “рекомбинантный”, как использовано в данном описании, означает, что полипептид или белок не природного происхождения. Соответственно, комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим
10 изобретением представляет собой рекомбинантный полипептид или рекомбинантный белок и, как правило, содержит компоненты (i) - (iii), где указанные компоненты (i) - (iii) имеют другое происхождение, т.е. не встречаются в природе в этой комбинации.

Как использовано в данном описании, термин «вакцина» относится к
15 любому соединению/агенту или их комбинациям, способным индуцировать/вызывать иммунный ответ у хозяина и позволяющим лечить и/или предотвращать инфекцию и/или заболевание. Вакцина в соответствии с данным изобретением влияет на течение заболевания, вызывая действие на клетки адаптивного иммунного ответа, а именно на В-клетки и/или Т-клетки. Действие
20 вакцин может включать, например, индукцию клеточно-опосредованного иммунитета или изменение ответа Т-клетки на ее антиген. Вакцина данного изобретения может, например, использоваться для терапевтического введения или профилактического введения.

Термин «гетерологичный прайм-буст» в соответствии с данным
25 изобретением относится к введению двух разных («гетерологичных») векторов или систем доставки, каждая из которых содержит по меньшей мере один общий антиген или антигенный эпитоп, против которого желательно вызвать иммунный ответ. В частности, один из различных («гетерологичных») векторов или систем доставки вводят первым (чтобы «праймировать» иммунный ответ), а другой
30 вводят позже («буст»), например, через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более дней или недель после введения «прайма». Например, первый компонент (К) содержит комплекс, содержащий по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп (антигенный домен), как определено в данном описании, и рекомбинантный рабдовирус, преимущественно

онколитический рекомбинантный рабдовирус, второго компонента (V) кодирует/экспрессирует по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, который идентичен по последовательности соответствующему антигену или антигенному эпитопу в комплексе первого компонента (K). Соответственно, по 5 меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, включенный в антигенный домен, кодируемый в геноме рекомбинантного рабдовируса, преимущественно онколитического рекомбинантного рабдовируса, данного изобретения может содержать идентичную последовательность, что и соответствующий антигенный домен, включенный в комплекс первого компонента (K), или, например, он 10 может содержать идентичную последовательность для по меньшей мере одного антигена или антигенного эпитопа, включенного в антигенный домен комплекса первого компонента (K) в соответствии с данным изобретением. Антигенный домен комплекса первого компонента (K) данного изобретения и антигенный домен, кодируемый в геноме рекомбинантным рабдовирусом, преимущественно 15 онколитическим рекомбинантным рабдовирусом, как раскрыто в данном описании, могут, например, перекрываться. Термин «перекрывание», используемый в соответствии с данным изобретением, относится, например, к двум аминокислотным последовательностям, каждая из которых имеет непрерывный элемент последовательности, который идентичен 20 соответствующей последовательности в другой последовательности, и такая перекрывающаяся последовательность содержит по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, как определено в данном описании. Например, аминокислотные последовательности комплекса первого компонента (K) и антигенный домен, кодируемый в геноме рекомбинантного рабдовируса или 25 онколитического рекомбинантного рабдовируса, как раскрыто в данном описании, могут быть идентичными в непрерывном элементе последовательности от примерно 10, 15, 20, 25 до примерно 30, 35, 40, 45, 50 или от примерно 10 аминокислот до примерно 15, 20, 25 аминокислот в длину, при этом идентичный элемент последовательности содержит по меньшей мере один 30 антиген или антигенный эпитоп. Следует понимать, что на N- и/или C-конце идентичной последовательности аминокислотная последовательность антигенного домена комплекса первого компонента (K) в соответствии с изобретением и антигенного домена, закодированного в геном второго

компонента (V), может быть другой, т. е. они могут содержать различные антигены или антигенные эпитопы.

Термин «вакцина», используемый в настоящем изобретении, также подразумевает, что вакцина данного изобретения, как раскрыто в данном описании, предназначена, в частности, для применения в медицине, в частности для применения при лечении заболевания, например, для применения при лечении или профилактике рака, новообразований или опухолей и/или рака. Например, (вакцина, содержащая) компонент (K) и/или второй компонент (V) в соответствии с данным изобретением предназначены для применения в медицине, в частности, для применения в лечении или профилактике рака, неопластических заболеваний или опухолей.

Следует понимать, что вакцина в соответствии с данным изобретением не ограничивается одной композицией, а содержит по меньшей мере два отдельных компонента, которые могут, например, поставляться в отдельных упаковочных единицах. Соответственно, вакцина данного изобретения представляет собой комбинацию, состоящую из двух отдельных компонентов: первого компонента K, как указано в описании, и второго компонента (V), как указано в описании. В частности, из-за разных моментов времени введения в схеме гетерологичной прайм-буст вакцинации первый компонент (K) и второй компонент (V) часто включаются в разные композиции и/или отдельные упаковочные единицы. Соответственно, вакцина, как раскрыто в данном описании, может быть предоставлена в виде набора, например, как раскрыто в данном описании.

В контексте настоящего изобретения, то есть во всей настоящей заявке, термины «пептид», «полипептид», «белок» и варианты этих терминов относятся к пептиду, олигопептиду, олигомеру или белку, включая слитый белок, соответственно, содержащим по меньшей мере две аминокислоты, соединенные друг с другом, преимущественно, обычной пептидной связью или, альтернативно, модифицированной пептидной связью, например, в случае изостерических пептидов. Пептид, полипептид или белок могут состоять из L-аминокислот и/или D-аминокислот. Преимущественно, пептид, полипептид или белок либо (полностью) состоят из L-аминокислот, либо (полностью) из D-аминокислот, тем самым образуя «ретро-инверсные пептидные последовательности». Термин «ретро-инверсные (пептидные) последовательности» относится к изомеру линейной пептидной

последовательности, в которой направление последовательности изменено на противоположное, а хиральность каждого аминокислотного остатка инвертирована (см., например, Jameson et al., Nature, 368,744 -746 (1994); Brady et al., Nature, 368, 692-693 (1994)). В частности, термины «пептид»,

5 «полипептид» или «белок» также включают «пептидомиметики», которые определяются как аналоги пептидов, содержащие непептидные структурные элементы, причем пептиды способны имитировать или антагонизировать биологическое(ие) действие(я) природного исходного пептида.

10 Пептидомиметику не хватает классических пептидных характеристик, таких как ферментативно расщепляемые пептидные связи. Например, использование пептидомиметиков в комплексе первого компонента, если вакцина по данному изобретению может быть особенно полезной или желательной, если антигенный домен содержит эпитопы, которые требуют особой формы или вторичной структуры на пептиде для иммуногенности или для обеспечения стабильности

15 против быстрой ферментативной деградации антигенного домена.

Например, в одном варианте осуществления, первый компонент (К) данного изобретения может состоять из пептида, полипептида или белка, который содержит аминокислоты, отличные от 20 аминокислот, определенных генетическим кодом, кроме этих аминокислот, или он может состоять из

20 аминокислот, отличных от 20 аминокислот, определенных генетическим кодом. В частности, пептид, полипептид или белок в контексте настоящего изобретения в равной степени может состоять из аминокислот, модифицированных естественными процессами, такими как процессы посттрансляционного созревания, или химическими процессами, которые хорошо известны

25 специалисту в данной области. Такие модификации подробно описаны в литературе. Эти модификации могут возникать в любом месте полипептида: в пептидном скелете, в аминокислотной цепи или даже на карбокси- или аминоконцах. В частности, пептид или полипептид могут быть разветвлены после убиквитинирования или могут быть циклическими с разветвлениями или без

30 них. Этот тип модификации может быть результатом естественных или синтетических посттрансляционных процессов, которые хорошо известны специалистам в данной области.

Термины «пептид», «полипептид», «белок» в контексте настоящего изобретения, в частности, включают также модифицированные пептиды,

полипептиды и белки. Например, модификации пептида, полипептида или белка могут включать ацетилирование, ацилирование, АДФ-рибозилирование, амидирование, ковалентную фиксацию нуклеотида или производной нуклеотида, ковалентную фиксацию липида или производной липида, ковалентную фиксацию фосфатидилинозита, ковалентное или нековалентное перекрестное сшивание, циклизацию, образование дисульфидной связи, деметилирование, гликозилирование, включая пегилирование, гидроксिलирование, йодирование, метилирование, миристоилирование, окисление, протеолитические процессы, фосфорилирование, пренилирование, рацемизацию, сеноилоилирование, сульфатирование, добавление аминокислот, такое как аргинилирование или убиквитинирование. Такие модификации подробно описаны в литературе (Proteins Structure and Molecular Properties (1993) 2-ая ред., Т. Е. Creighton, New York; *Post-translational Covalent Modifications of Proteins* (1983) В. С. Johnson, Ed., Academic Press, New York; Seifter et al. (1990) *Analysis for protein modifications and nonprotein cofactors*, Meth. Enzymol. 182: 626-646 и Rattan et al., (1992) *Protein Synthesis: Post-translational Modifications and Aging*, Ann NY Acad Sci, 663: 48-62). Соответственно, термины “пептид”, “полипептид”, “белок” могут, например, также включать липопептиды, липопротеины, гликопептиды, гликопротеины и подобные.

В некоторых вариантах осуществления комплекс первого компонента (К) представляет собой пептид, полипептид или белок. В особенно предпочтительном варианте осуществления комплекс (К) вакцины по данному изобретению представляет собой “классический” пептид, полипептид или белок, где “классический” пептид, полипептид или белок, как правило, состоит из аминокислот, выбранных из 20 аминокислот, определенных генетическим кодом, связанных одна с другой пептидной связью.

В соответствии с одним вариантом осуществления, комплекс (К) вакцины данного изобретения представляет собой полипептид или белок, содержащий по меньшей мере 20, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 60, по меньшей мере 70, преимущественно по меньшей мере 80, по меньшей мере 90, более предпочтительно по меньшей мере 100, по меньшей мере 110, даже более предпочтительно по меньшей мере 120, по меньшей мере 130, особенно преимущественно по меньшей мере 140, или наиболее преимущественно по меньшей мере 150 аминокислотных остатков.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления, комплекс первого компонента (К) вакцины по данному изобретению представляет собой рекомбинантный пептид, полипептид или белок. (1) полипептид полусинтетического или синтетического происхождения, полученный в результате экспрессии комбинации молекул ДНК различного происхождения, которые соединены с помощью технологий рекомбинантной ДНК; (2) полипептид полусинтетического или синтетического происхождения, который, в силу своего происхождения или манипуляции, не связан со всем белком или его частью, с которым он связан в природе; (3) полипептид полусинтетического или синтетического происхождения, который связан с полипептидом, отличным от того, с которым он связан в природе; или (4) полипептид полусинтетического или синтетического происхождения, который не встречается в природе. Рекомбинантные полипептиды, такие как, например, комплекс (К) в соответствии с данным изобретением, могут быть получены любым способом, известным в данной области техники, таким как, например, прокариотические и эукариотические системы экспрессии с использованием общепринятых протоколов (см., например, LaVallie, *Current Protocols in Protein Science* (1995) 5.1.1-5.1.8; Chen et al., *Current Protocols in Protein Science* (1998) 5.10.1-5.10.41), или, например, путем твердофазного синтеза (см., например, Nat Protoc. 2007; 2(12): 3247-56).

В соответствии с одним вариантом осуществления комплекс первого компонента (К) вакцины по данному изобретению содержит проникающий в клетку пептид ("СРР"). Термин "проникающий в клетку пептид" ("СРР") обычно используется для обозначения коротких пептидов, которые способны транспортировать различные типы молекул карго через плазматическую мембрану и, таким образом, способствовать поглощению клетками различных молекулярных карго (от наноразмерных частиц до небольших химических молекул и крупных фрагментов ДНК). «Клеточная интернализация» молекулы карго, связанной с проникающим в клетку пептидом, обычно означает транспорт молекулы карго через плазматическую мембрану и, таким образом, проникновение молекулы карго в клетку. В зависимости от конкретного случая молекула карго может затем высвободиться в цитоплазме, направляться во внутриклеточную органеллу или далее презентироваться на клеточной поверхности. Способность к проникновению в клетку или интернализация

проникающего в клетку пептида или комплекса, содержащего указанный проникающий в клетку пептид, в соответствии с данным изобретением, можно проверить стандартными способами, известными специалистам в данной области, включая проточную цитометрию или флуоресцентную микроскопию живых и фиксированных клеток, иммуоцитохимию клеток, трансдуцированных указанным пептидом или комплексом, и вестерн-блоттинг.

Проникающие в клетку пептиды обычно имеют аминокислотный состав, который либо содержит высокое относительное количество положительно заряженных аминокислот, таких как лизин или аргинин, либо имеет последовательность, которая содержит чередующийся образец полярных/заряженных аминокислот и неполярных, гидрофобных аминокислот. Эти два типа структур называются поликатионными или амфипатическими соответственно. Проникающие в клетку пептиды имеют разный размер, аминокислотную последовательность и заряд, но все СРР имеют общую характеристику, заключающуюся в способности транслоцировать плазматическую мембрану и облегчать доставку различных молекулярных карго в цитоплазму или органеллу клетки. В настоящее время теории транслокации СРР выделяют три основных механизма проникновения: прямое проникновение в мембрану, проникновение, опосредованное эндоцитозом, и транслокацию через образование транзитной структуры. Трансдукция СРР является областью продолжающихся исследований. Проникающие в клетки пептиды нашли многочисленные применения в медицине в качестве агентов доставки лекарств при лечении различных заболеваний, включая ингибиторы рака и вирусов, а также в качестве контрастных агентов для мечения клеток и визуализации.

Как правило, проникающие в клетку пептиды (СРР) представляют собой пептиды, содержащие от 8 до 50 остатков, которые обладают способностью пересекать клеточную мембрану и проникать в большинство типов клеток. В качестве альтернативы их также называют доменами белковой трансдукции (PTD), что отражает их происхождение как встречающихся в природе белков. Frankel и Pabo одновременно с Green и Lowenstein описали способность трансактивирующего транскрипционного активатора из вируса иммунодефицита человека 1 (ВИЧ-ТАТ) проникать в клетки (Frankel, A.D. and C.O. Pabo, *Cellular uptake of the tat protein from human immunodeficiency virus*. Cell, 1988. 55(6): p. 1189-93). В 1991 г. была описана трансдукция в нервные клетки гомеодомена

Antennapedia (ДНК-связывающий домен) из *Drosophila melanogaster* (Joliot, A., et al., *Antennapedia homeobox peptide regulates neural morphogenesis*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991. 88(5): p. 1864-8). В 1994 г. был охарактеризован первый 16-мерный пептид CPP, названный пенетратинном, имеющий аминокислотную последовательность из третьей спирали гомеодомена *Antennapedia* (Derossi, D., et al., *The third helix of the Antennapedia homeodomain translocates through biological membranes*. J Biol Chem, 1994. 269(14): p. 10444-50), затем в 1998 г. была идентифицирована минимальная область ТАТ, имеющая аминокислотную последовательность, необходимую для трансдукции белка (Vives, E., P. Brodin, and B. Lebleu, *A truncated HIV-1 Tat protein basic domain rapidly translocates through the plasma membrane and accumulates in the cell nucleus*. J Biol Chem, 1997. 272(25): p. 16010-7). За последние два десятилетия было описано множество пептидов различного происхождения, включая вирусные белки, например, VP22 (Elliott, G. and P. O'Hare, *Intercellular trafficking and protein delivery by a herpesvirus structural protein*. Cell, 1997. 88(2): p. 223-33) и ZEBRA (Rothe, R., et al., *Characterization of the cell-penetrating properties of the Epstein-Barr virus ZEBRA trans-activator*. J Biol Chem, 2010. 285(26): p. 20224-33), или из веномов, например, мелиттин (Dempsey, C.E., *The actions of melittin on membranes*. Biochim Biophys Acta, 1990. 1031(2): p. 143-61), мастопоран (Konno, K., et al., *Structure and biological activities of eumenine mastoparan-AF (EMP-AF), a new mast cell degranulating peptide in the venom of the solitary wasp (Anterhynchium flavomarginatum micado)*. Toxicon, 2000. 38(11): p. 1505-15), маурокальцин (Esteve, E., et al., *Transduction of the scorpion toxin maurocalcine into cells. Evidence that the toxin crosses the plasma membrane*. J Biol Chem, 2005. 280(13): p. 12833-9), кротамин (Nascimento, F.D., et al., *Crotamine mediates gene delivery into cells through the binding to heparan sulfate proteoglycans*. J Biol Chem, 2007. 282(29): p. 21349-60) или буфорин (Kobayashi, S., et al., *Membrane translocation mechanism of the antimicrobial peptide buforin 2*. Biochemistry, 2004. 43(49): p. 15610-6). Также были разработаны синтетические CPP, включая полиаргинин (R8, R9, R10 и R12) (Futaki, S., et al., *Arginine-rich peptides. An abundant source of membrane-permeable peptides having potential as carriers for intracellular protein delivery*. J Biol Chem, 2001. 276(8): p. 5836-40) или транспортан (Pooga, M., et al., *Cell penetration by transportan*. FASEB J, 1998.

12(1): p. 67-77). Любая из CPP, как раскрыто, может, например, использоваться в качестве проникающего в клетку пептида в комплексе данного изобретения.

Использование CPP в соответствии с данным изобретением обеспечивает эффективную доставку, т.е. транспорт и загрузку, в частности, по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, в антигенпрезентирующие клетки (APC), в частности в дендритные клетки (DC) и таким образом, к аппарату процессинга антигена дендритных клеток.

Преимущественно, CPP для применения в соответствии с данным изобретением получены из белка «ZEBRA» вируса Эпштейна-Барр (EBV). «ZEBRA» (также известная как Zta, Z, EB1 или BZLF1) обычно относится к транскрипционному активатору основной лейциновой молнии (bZIP) вируса Эпштейна-Барра (EBV). Минимальный домен ZEBRA, который проявляет свойства проникновения в клетку, был идентифицирован как простирающийся от остатка 170 до остатка 220 ZEBRA. Аминокислотная последовательность ZEBRA раскрыта под номером доступа NCBI YP_401673 и содержит 245 аминокислот, представленных в SEQ ID NO: 1.

SEQ ID NO: 1

MMDPNSTSEDKFTDPYQVPFVQAFDQATRVYQDLGGPSQAPLPCVLW
PVLPEPLPQGQLTAYHVVSTAPVGSWFSAPQPAPENAYQAYAAPQLFPVSDITQN
20 QQTNQAGGEAPQPGDNSTVQTAADVVFACPGANQGQQLADIGVPQPAPVAAP
ARRTRKPPQPESELECDSELEIKRYKNRVASRKCRAKFKQLLQHYREVAALKSS
ENDRLRLLKQMCPSLDVDSIIPRTPDVLHEDLLNF

Было описано, что CPP, полученные из вирусного белка ZEBRA, трансдуцируют белковые карго через биологические мембраны как (i) прямой транслокацией, так и (ii) опосредованным липидным рафтом эндоцитозом (Rothe R, Liguori L, Villegas-Mendez A, Marques B, Grunwald D, Drouet E, et al.

Characterization of the cell-penetrating properties of the Epstein-Barr virus ZEBRA trans-activator. The Journal of biological chemistry 2010; 285(26): 20224-33).

Предполагается, что эти два механизма проникновения способствуют как МНС класса I, так и МНС класса II, ограничивая презентацию карго-антигенов до CD8⁺ и CD4⁺ Т-клеток соответственно. Соответственно, CPP, полученные из ZEBRA, могут доставлять мультиэпитопные пептиды, такие как комплекс (K) по настоящему изобретению, содержащий антигенный домен (MAD), в дендритные клетки (DC), а затем стимулировать активацию CTL и Th клеток и

противоопухолевую функцию. Таким образом, CPP могут эффективно доставлять комплекс для применения в соответствии с настоящим изобретением к антигенпрезентирующим клеткам (APC) и приводить к ограниченной презентации мультиэпитопных МНС класса I и II. Например, CPP, полученные из ZEBRA, как раскрыто в US 2018/0133327, являются предпочтительными для применения в комплексе (К) данного изобретения, более предпочтительно CPP первого комплекса (К) данного изобретения выбран из Z13, Z14, Z15 или Z18, как раскрыто в US 2018/0133327, согласно которому CPP Z13, Z14, Z15, Z18 содержат или состоят из аминокислоты в соответствии с SEQ ID NO: 2 (KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLK, Z13), SEQ ID NO: 3 (KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAK, Z14), SEQ ID NO: 4 (KRYKNRVASRKSRAKFK, Z15), или SEQ ID NO: 5 (REVAAAKSS END RLRLK, Z18).

CPP, которые, например, могут быть использованы с комплексом (К) данного изобретения, также могут включать варианты последовательности любой из последовательностей, раскрытых выше, которые имеют по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% идентичности последовательности с соответствующей последовательностью. Варианты последовательности могут, например, также включать фрагменты любой из последовательностей, как описано выше, где термин «фрагмент» относится к усечениям последовательностей, как описано выше, т. е. аминокислотной последовательности, которая является N-концевой, C-концевой и/или интрасеквенциально усеченной по сравнению с аминокислотной последовательностью нативных последовательностей как описано выше.

Термин «вариант последовательности», используемый в контексте настоящего изобретения, относится к любому изменению в соответствующей последовательности по сравнению с соответствующей эталонной последовательностью. Термин «вариант последовательности» включает варианты нуклеотидной последовательности и варианты аминокислотной последовательности, преимущественно аминокислотные варианты.

Преимущественно эталонная последовательность представляет собой любую из последовательностей, раскрытых в настоящем документе, например, последовательности CPP, раскрытые выше, или последовательности, перечисленные в «Таблице последовательностей и номеров SEQ ID» и в Перечне

последовательностей, соответственно, т. е. от SEQ ID NO: 1 до SEQ ID NO: 80. Преимущественно, вариант последовательности имеет, в частности, на всей длине последовательности, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, преимущественно по меньшей мере 80%, более предпочтительно по меньшей мере 85%, даже более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно преимущественно по меньшей мере 95%, наиболее преимущественно по меньшей мере 99% идентичности последовательности с эталонной последовательностью, при этом идентичность последовательности рассчитывается, как описано ниже. В общем, для всех вариантных последовательностей, описанных в настоящем документе, чем выше % идентичности с соответствующей эталонной последовательностью, тем более предпочтительным является вариант последовательности. В частности, вариант последовательности сохраняет специфическую функцию эталонной последовательности.

Идентичности последовательности в соответствии с данным изобретением могут, например, быть определены по всей длине каждой из сравниваемых последовательностей с соответствующей эталонной последовательностью (так называемое «глобальное выравнивание»), что особенно подходит для последовательностей такой же или подобной длины или более коротких определенных длин (так называемое «локальное выравнивание»), которое больше подходит для последовательностей неравной длины. В приведенном выше контексте аминокислотная последовательность, имеющая «идентичность последовательности» по меньшей мере, например, 95% по отношению к искомой аминокислотной последовательности, означает, что последовательность рассматриваемой аминокислотной последовательности идентична искомой последовательности за исключением того, что рассматриваемая аминокислотная последовательность может включать до пяти аминокислотных изменений на каждые 100 аминокислот искомой аминокислотной последовательности. Другими словами, для получения аминокислотной последовательности, имеющей по меньшей мере 95% идентичности с искомой аминокислотной последовательностью, до 5% (5 из 100) аминокислотных остатков в исследуемой последовательности могут быть вставлены или заменены на другую аминокислоту или удалены. Способы сравнения идентичности и гомологии двух или более последовательностей хорошо известны в данной области. Процент, в

котором две последовательности идентичны, можно определить, например, с помощью математического алгоритма. Предпочтительным, но не ограничивающим, примером математического алгоритма, который можно использовать, является алгоритм Karlin et al. (1993), PNAS USA, 90: 5873-5877.

5 Такой алгоритм интегрирован в семейство программ BLAST (см. также Altschul et al., 1990, J. Mol. Biol. 215, 403-410 или Altschul et al. (1997), Nucleic Acids Res, 25: 3389-3402), которые можно найти через домашнюю страницу NCBI на всемирном веб-сайте ncbi.nlm.nih.gov) и FASTA (Pearson (1990), *Methods Enzymol.* 83, 63-98; Pearson and Lipman (1988), Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 85, 10 2444-2448). Эти программы могут идентифицировать последовательности, которые в определенной степени идентичны другим последовательностям. Кроме того, программы, доступные в Пакете анализа последовательности штата Висконсин (Devereux et al, 1984, Nucleic Acids Res., 387-395; *Womble Methods Mol Biol.* 2000; 132: 3-22), например, программы BESTFIT и GAP, могут быть 15 использованы для определения % идентичности между двумя полипептидными последовательностями. BESTFIT использует алгоритм "локальной гомологии" (Smith and Waterman (1981), J. Mol. Biol. 147, 195- 197) и находит наилучшую единственную область сходства между двумя последовательностями. Например, "гэпированную BLAST" можно использовать, как описано в Altschul et al., 1997, 20 Nucleic Acids Res. 25: 3389-3402. В качестве альтернативы PSI-Blast можно использовать для выполнения повторного поиска, который обнаруживает отдаленные отношения между молекулами. При использовании любой из вышеперечисленных программ BLAST, гэпированных программ BLAST, могут использоваться параметры по умолчанию соответствующих программ 25 (например, XBLAST и NBLAST). Другим предпочтительным неограничивающим примером математического алгоритма, используемого для сравнения последовательностей, как раскрыто в данном описании, является алгоритм Myers и Miller, CABIOS (1989). Такой алгоритм включен в программу ALIGN (версия 2.0), которая является частью программного пакета выравнивания 30 последовательностей GCG. Программа ALIGN может, например, использоваться для сравнения аминокислотных последовательностей с использованием таблицы весов остатков PAM120, штрафа за длину гэпа, равного 12, и штрафа за гэп, равного 4. Дополнительные алгоритмы анализа последовательностей известны в данной области техники и включают ADVANCE и ADAM, как описано у Torellis

и Robotti, 1994, Comput. Appl. Biosci. 10: 3-5. В качестве альтернативы, выравнивание белковых последовательностей можно проводить с использованием алгоритма CLUSTAL W, как описано Higgins et al., 1996, Methods Enzymol. 266: 383-402.

5 Аминокислотные замены аминокислотных последовательностей, раскрытые в настоящем изобретении, могут быть «консервативными» или «неконсервативными» аминокислотными заменами. Термин «консервативные замены», используемый в настоящем изобретении, представляет собой, например, замену основного аминокислотного остатка (Lys, Arg, His) на другой основной аминокислотный остаток (Lys, Arg, His), замену алифатического аминокислотного остатка (Gly, Ala, Val, Leu, Ile) на другой остаток алифатической аминокислоты, замену остатка ароматической аминокислоты (Phe, Tyr, Trp) на другой остаток ароматической аминокислоты, замену треонина на серин или лейцина на изолейцин.

15 Замены одной или нескольких L-аминокислот на одну или несколько D-аминокислот следует рассматривать как консервативные замены в контексте настоящего изобретения. Примеры аминокислотных замен представлены в Таблице 1 ниже:

Таблица 1

Природные остатки	Примеры замещения
Ala (A)	Val, Leu, Ile, Gly
Arg (R)	His, Lys
Asn (N)	Gln
Asp (D)	Glu
Cys (C)	Ser
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp
Gly (G)	Pro, Ala
His (H)	Lys, Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe
Leu (L)	Ile, Val, Met, Ala, Phe
Lys (K)	Arg, His
Met (M)	Leu, Ile, Phe
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Tyr, Trp, Met
Pro (P)	Ala, Gly
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr, Phe
Tyr (Y)	Trp, Phe
Природные остатки	Примеры замещения
Val (V)	Ile, Met, Leu, Phe, Ala

Термин «неконсервативные замены», используемый в настоящем изобретении, относится к замене аминокислоты в полипептиде аминокислотой со значительно отличающимися свойствами боковой цепи. Неконсервативные замены могут использовать аминокислоты между определенными группами, а не
5 внутри них, и влияют на (а) структуру пептидного остова в области замены (например, пролин вместо глицина), (б) заряд или гидрофобность, или (с) размер боковой цепи. В качестве примера, а не ограничения, типичная неконсервативная замена может представлять собой кислую аминокислоту, замещенную основной или алифатической аминокислотой; ароматическую
10 аминокислоту, замещенную небольшой аминокислотой; и гидрофильную аминокислоту, замещенную гидрофобной аминокислотой. В контексте настоящего изобретения предпочтительны консервативные аминокислотные замены.

В контексте настоящего изобретения термин «МНС класса I» обозначает
15 один из двух основных классов молекул Главного Комплекса Гистосовместимости. Молекулы МНС класса I (также называемые «МНС I») обнаруживаются в каждой ядродержащей клетке организма. Функция МНС класса I заключается в отображении эпитопа для цитотоксических клеток (CTL). У человека молекулы МНС класса I состоят из двух полипептидных цепей, α - и β 2-микроглобулина (b2m). Только α -цепь является полиморфной и кодируется
20 геном HLA, тогда как субъединица b2m не является полиморфной и кодируется геном микроглобулина бета-2. В контексте настоящего изобретения, термин «МНС класса II» обозначает другой основной класс молекул Главного Комплекса Гистосовместимости. Молекулы МНС класса II (также обозначаемые
25 как «МНС II») обнаруживаются только на нескольких специализированных типах клеток, включая макрофаги, дендритные клетки и В-клетки, все из которых являются специализированными антигенпрезентирующими клетками (APC).

В одном варианте осуществления, комплекс первого компонента (К)
30 вакцины в соответствии с данным изобретением содержит больше, чем один пептидный агонист TLR, в частности 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше пептидных агонистов TLR.

Пептидный агонист TLR, включенный в комплекс первого компонента (К) данного изобретения (или, например, для применения в соответствии с данным

изобретением) позволяет усилить нацеливание первого компонента вакцины на дендритные клетки наряду с аутоиммуногенностью. Физическая связь пептидного агониста TLR с CPP и по меньшей мере одним антигеном или антигенным эпитопом в соответствии с настоящим изобретением в комплексе для применения в соответствии с настоящим изобретением обеспечивает усиленный иммунный ответ путем одновременной стимуляции антигенпрезентирующих клеток, в частности дендритных клеток, которые интернализуют, процессируют и отображают антиген(ы).

Как использовано в контексте настоящего изобретения, в частности в контексте первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением, “пептидный агонист TLR” является агонистом Toll-подобного рецептора (TLR), т.е. он связывается с TLR и активирует TLR, в частности, для получения биологического ответа. Более того, пептидный агонист TLR представляет собой пептид, полипептид или белок, как определено выше. Преимущественно, пептидный агонист TLR содержит от 10 до примерно 150, 160, 170, 180, 190 аминокислот, более предпочтительно от 15 до 130 аминокислот, даже более предпочтительно от 20 до 120 аминокислот, в частности, преимущественно от 25 до 110 аминокислот и наиболее предпочтительно от 30 до 100 аминокислот.

Toll-подобные рецепторы (TLR) представляют собой трансмембранные белки, которые характеризуются внеклеточным, трансмембранным и цитозольным доменами. Внеклеточные домены, содержащие богатые лейцином повторы (LRR) подковообразной формы, участвуют в распознавании общих молекулярных паттернов, происходящих от различных микробов. Toll-подобные рецепторы включают TLR 1 - 10. Соединения, способные активировать рецепторы TLR, их модификации и производные хорошо известны в данной области. TLR1 может активироваться бактериальными липопротеинами и их ацетилированными формами, TLR2 может, кроме того, активироваться гликолипидами грамположительных бактерий, LPS, LP A, LTA, фимбриями, белками внешней мембраны, белками теплового шока из бактерий или хозяина и микобактериальными липоарабиноманнанами. TLR3 может активироваться дцРНК, в частности вирусного происхождения, или химическим соединением поли(LC). TLR4 может быть активирован грамотрицательными LPS, LTA, белками теплового шока хозяина или бактериального происхождения, вирусными белками покрытия или оболочки, таксомом или его производными,

олигосахаридами, содержащими гиалуронан, и фибронектинами. TLR5 может быть активирован бактериальными жгутиками или флагеллином. TLR6 может активироваться микобактериальными липопротеинами и термолабильным растворимым фактором стрептококка группы В (GBS-F) или модулинами стафилококка. TLR7 может быть активирован имидазохинолинами. TLR9 может быть активирован неметирированной ДНК CpG или комплексами хроматин-IgG (см., например, De Nardo, Cytokine 74 (2015) 181–189).

Преимущественно, пептидный агонист TLR, входящий в состав комплекса для применения в соответствии с настоящим изобретением, представляет собой агонист TLR1, 2, 4, 5, 6 и/или 10. TLR экспрессируются либо на клеточной поверхности (TLR1, 2, 4, 5, 6 и 10) либо на мембранах внутриклеточных органелл, таких как эндосомы (TLR3, 4, 7, 8 и 9). Естественными лигандами эндосомальных рецепторов оказались молекулы на основе нуклеиновых кислот (за исключением TLR4). Экспрессируемые на клеточной поверхности TLR1, 2, 4, 5, 6 и 10 распознают молекулярные структуры внеклеточных микробов (Monie, T.P., Bryant, C.E., et al. 2009: *Activating Immunity: Lessons from the TLRs and NLRs*. Trends Biochem. Sci., 34(11), 553–561). TLR экспрессируются на нескольких типах клеток, но практически все TLR экспрессируются на DC, что позволяет этим специализированным клеткам ощущать все возможные патогены и сигналы опасности.

Однако TLR2, 4 и 5 конститутивно экспрессируются на поверхности DC. Соответственно, пептидный агонист TLR, входящий в состав комплекса первого компонента (К) вакцины в соответствии с настоящим изобретением, представляет собой более предпочтительно пептидный агонист TLR2, TLR4 и/или TLR5. Даже более предпочтительно, пептидный агонист TLR представляет собой пептидный агонист TLR2 и/или пептидный агонист TLR4. Особенно преимущественно, что пептидный агонист TLR представляет собой пептидный агонист TLR4 или, альтернативно, представляет собой и TLR2, и агонист TLR4. TLR2 может обнаруживать широкий спектр лигандов, полученных из бактерий, вирусов, паразитов и грибов. Специфичность лиганда часто определяется взаимодействием TLR2 с другими TLR, такими как TLR1, 6 или 10, или молекулами, отличными от TLR, такими как дектин-1, CD14 или CD36. Образование гетеродимера с TLR1 позволяет TLR2 идентифицировать триациллипопротеины или липопептиды (мико)бактериального происхождения,

такие как Pam3CSK4 и пептидогликан (PGA; Gay, N. J., and Gangloff, M. (2007): *Structure and function of Toll receptors and their ligands*. Annu. Rev. Biochem. 76, 141–165; Spohn, R., Buwitt-Beckmann, U., et al. (2004): *Synthetic lipopeptide adjuvants and Toll-like receptor 2—Structure-activity relationships*. Vaccine 22(19), 2494–2499). Гетеродимеризация TLR2 и 6 позволяет обнаруживать

5 диациллипептиды и зимозан. Липополисахарид (LPS) и его производные являются лигандами для TLR4 и флагеллином для TLR5 (Bryant, C. E., Spring, D. R., et al. (2010). *The molecular basis of the host response to lipopolysaccharide*. Nat. Rev. Microbiol. 8(1), 8–14).

10 TLR2 взаимодействует с широким и структурно разнообразным спектром лигандов, включая молекулы, экспрессируемые микробами и грибами. Было идентифицировано множество агонистов TLR2, в том числе природные и синтетические липопептиды (например, липопептид, активирующий макрофаги *Mycoplasma fermentas* (MALP-2)), пептидогликаны (PG, например, из *S. aureus*),

15 липополисахариды из различных бактериальных штаммов (LPS), полисахариды (например, зимозан), гликозилфосфатидилинозитол-заякоренные структуры из грамположительных бактерий (например, липотейхоевая кислота (LTA) и липо-арабиноманнан из микобактерий и липоманны из *M. tuberculosis*). Определенные вирусные детерминанты также могут запускаться через TLR2 (Barbalat R, Lau

20 L, Locksley RM, Barton GM. *Toll-like receptor 2 on inflammatory monocytes induces type I interferon in response to viral but not bacterial ligands*. Nat Immunol. 2009; 10(11):1200–7). Бактериальные липопептиды являются структурными компонентами клеточных стенок. Они состоят из ацилированного фрагмента s-глицерилцистеина, с которым пептид может быть конъюгирован через

25 цистеиновый остаток. Примеры агонистов TLR2, которые представляют собой бактериальные липопептиды, включают MALP-2 и его синтетический аналог ди-пальмитоил-S-глицерилцистеин (Pam₂Cys) или трипальмитоил-S-глицерилцистеин (Pam₃Cys).

30 Кроме того, предполагается, что белок 1 высокомолекулярной группы (HMGB1) и его пептидные фрагменты действуют как усилитель опосредованной TLR2 воспалительной активности (см., например, Aucott et al. *Molecular Medicine* (2018) 24:19). Пептиды, производные от HMGB1, которые могут, например, быть использованы в качестве усилителей опосредованной TLR2 передачи сигналов, включают, например, те, которые раскрыты в WO

2006/083301, или, например, Δ30 HMGB1, и которые могут действовать как усилитель опосредованной TLR2 воспалительной активности в комбинации с пептидными агонистами TLR2/TLR4. Соответственно, в одном варианте осуществления комплекс первого компонента (К) вакцины по данному изобретению может, например, включать как часть агониста TLR Δ30 HMGB1 или его любой иммуномодулирующий фрагмент, такой как те, которые раскрыты в WO 2006/083301 A1, в комбинации с пептидным агонистом TLR2/TLR4, таким как, например, ANAXA (SEQ ID NO:6) или его варианты последовательности, такие как SEQ ID NO:7. Соответственно, комплекс первого компонента (К) по настоящему изобретению может включать, кроме описанных выше пептидных агонистов TLR, Δ30 HMGB1 (SEQ ID NO: 8) или любой его иммуномодулирующий фрагмент, или любой из пептидов Hp-1 – HP-166, как описано в WO2006/083301 A1, преимущественно Hp-31, Hp-46, Hp-106. Например, комплекс первого компонента (К) данного изобретения может включать по меньшей мере пептидные агонисты TLR EDA (SEQ ID NO: 8) и Δ30 HMGB1 (SEQ ID NO: 9), или EDA (SEQ ID NO: 8) и Hp-31 или Hp-46 или Hp-106, преимущественно комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержит по меньшей мере пептидные агонисты TLR ANAXA (SEQ ID NO: 6) и Δ30 HMGB1 (SEQ ID NO: 9), или ANAXA (SEQ ID NO: 6) и Hp-31, или Hp-46 или Hp-106 или вариант последовательности ANAXA (SEQ ID NO: 7) и Hp-31 или Hp-46 или Hp-106. Использование любой такой комбинации может, например, быть выгодным, если желательна более сильная аутоиммуногенность комплекса первого компонента (К) вакцины данного изобретения.

С TLR4 взаимодействует множество лигандов, в том числе монофосфорилипид А из *Salmonella minnesota* R595 (MPLA), липополисахариды (LPS), маннаны (*Candida albicans*), гликоинозитолфосфолипиды (трипаносомы), белки оболочки вируса (RSV и MMTV) и эндогенные антигены, включая фибриноген и белков теплового шока. Такие агонисты TLR4 описаны, например, в Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. *Pathogen recognition and innate immunity*. Cell. 24 февр. 2006; 124(4): 783–801 или в Kumar H, Kawai T, Akira S. *Toll-like receptors and innate immunity*. Biochem Biophys Res Commun. 30 октября 2009; 388 (4): 621–5. LPS, обнаруженный во внешней мембране грамотрицательных бактерий, является наиболее изученным из лигандов TLR4. Подходящие производные от LPS пептидные агонисты TLR4

описаны, например, в WO 2013/120073 (A1). В то время как пептидные агонисты TLR являются предпочтительными для комплекса первого компонента (K) в соответствии с данным изобретением, можно использовать непептидные агонисты TLR, такие как LPS, ковалентно конъюгированные с комплексом.

5 Например, конъюгация может быть, например, осуществлена между карбонильной группой восстанавливающего конца 3-дезоксид-D-манно-окт-2-илозоновой кислоты (Kdo), открытой после кислотного гидролиза LPS, и аминоксигруппой бифункционального линкера, связанного с белком (см., например, *Methods Mol Biol.* 2011; 751: 317-27).

10 В некоторых вариантах осуществления, пептидный агонист TLR представляет собой фрагмент белка (природного происхождения) или его вариант, который имеет по меньшей мере 70% или по меньшей мере 75%, преимущественно по меньшей мере 80% или по меньшей мере 85%, более предпочтительно по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95%, даже более
15 предпочтительно по меньшей мере 97% или по меньшей мере 98%, особенно предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности. Такие фрагменты могут иметь минимальную длину по меньшей мере 20 или 25, преимущественно по меньшей мере 30 или 35, более предпочтительно по
20 меньшей мере 40 или 50, даже более предпочтительно 60 или 70, еще более предпочтительно по меньшей мере 80 или 90, например, по меньшей мере 100, аминокислот. В частности, указанный фрагмент показывает функциональность агониста TLR. Указанный фрагмент белка предпочтительно может быть выбран
25 таким образом, что он обеспечивает “домен агониста TLR” белка, но преимущественно не включает любого другого домена (другого чем домен агониста TLR) белка. Поэтому, в некоторых вариантах осуществления, агонист TLR не содержит другого иммунологически активного домена (другого чем
30 домен агониста TLR), более предпочтительно агонист TLR не содержит другой биологически активный домен (другого чем домен агониста TLR). Например, в некоторых вариантах осуществления, агонист TLR не представляет собой
30 флагеллин (который включает другие домены, кроме функциональности агониста TLR). Однако, в некоторых вариантах осуществления, агонист TLR может представлять собой фрагмент флагеллина, включая домен агониста TLR флагеллина (но не другой домен флагеллина).

Другой подходящий пептидный агонист TLR содержит или состоит из Нр91 или его фрагмента или варианта, как раскрыто в данном описании. Нр91 представляет собой агонист TLR4, как описано, например, в US 9,539,321 В2, и имеет следующую аминокислотную последовательность:

5 DPNAPKRPPSAFFLFCSEKRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSS
ENDRLRLLLKESLKISQAVHAAHAEINEAGREVVGVGALKVPRNQDWLGVPRF
AKFASFEAQGALANIAVDKANLDVEQLESIIINFEKLTTEWTGS
[SEQ ID NO: 53]

10 TLR5 запускается областью молекулы флагеллина, экспрессируемой почти всеми подвижными бактериями. Таким образом, флагеллин или пептиды или белки, полученные из флагеллина и/или вариантов или фрагментов флагеллина, также подходят в качестве пептидных агонистов TLR, содержащихся в комплексе первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением.

15 В некоторых вариантах осуществления, желательно, чтобы пептидный агонист TLR в соответствии с данным изобретением не представлял собой флагеллин и/или любой его немодифицированный фрагмент или фрагменты. Например, энтолимод (CBLB502) может быть использован в качестве пептидного агониста TLR5 в комплексе первого компонента (К) в соответствии с
20 данным изобретением.

 Таким образом, примеры пептидных агонистов TLR для применения в соответствии с данным изобретением включают липопептидные агонисты TLR2 MALP-2, Pam₂Cys и Pam₃Cys или их модификации, различные формы агониста LPS TLR4, например, *N. meningitidis* L3-LPS дикого типа и мутантный
25 пентаацилированный LpxL1-LPS, а также агонист TLR5 флагеллин.

 Однако желательно, чтобы пептидный агонист TLR, входящий в состав комплекса первого компонента вакцины (для применения) в соответствии с настоящим изобретением, не являлся ни липопептидом, ни липопротеином, ни гликопептидом, ни гликопротеином, более предпочтительно, пептидный агонист
30 TLR, входящий в состав комплекса первого компонента вакцины (для применения) в соответствии с настоящим изобретением являлся классическим пептидом, полипептидом или белком, как определено в данном описании.

 Предпочтительным пептидным агонистом TLR2/4 является аннексин II или его иммуномодулирующий фрагмент, который подробно описан в WO

2012/048190 A1 и заявке на патент США 13/0331546, в частности предпочтительными являются пептидный агонист TLR2, содержащий аминокислотную последовательность в соответствии с аннексином II, кодирующим последовательность SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 7 из WO 2012/048190 A1, или их фрагменты или варианты.

Таким образом, пептидный агонист TLR2/4, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 6, или вариант её последовательности, как описано выше, является особенно предпочтительным в качестве компонента (iii), т.е. в качестве по меньшей мере одного пептидного агониста TLR, входящего в состав комплекса первого компонента (K) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением.

STVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

[SEQ ID NO: 6], пептидный агонист TLR2/4 Анаха

Особенно предпочтительным вариантом функциональной последовательности пептидного агониста TLR в соответствии с SEQ ID NO: 6 является пептидный агонист TLR в соответствии с SEQ ID NO: 7:

STVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE

[SEQ ID NO: 7]

Соответственно, пептидный агонист TLR2/4, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 7, или варианта её последовательности, как описано выше, особенно предпочтителен в качестве компонента (iii) комплекса первого компонента (K) вакцины/набора данного изобретения, то есть в качестве по меньшей мере одного пептидного агониста TLR, входящего в состав комплекса. Другими словами, пептидный агонист TLR в комплексе первого компонента (K) наиболее предпочтительно содержит или состоит из пептида, имеющего аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 7, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере на 70% идентичности последовательности (преимущественно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, еще более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее преимущественно по меньшей мере 99% идентичности последовательности).

Что касается TLR4, особенно предпочтительными являются пептидные агонисты TLR, которые, в частности, соответствуют мотивам, связывающимся с TLR4, в частности (i) пептиды, имитирующие природный лиганд LPS (RS01: Gln-Glu-Ile-Asn-Ser-Ser-Tyr и RS09: Ala-Pro-Pro-His-Ala-Leu-Ser) и (ii) пептиды, полученные из фибронектина. Клеточный гликопротеин фибронектин (FN) имеет несколько изоформ, генерируемых из одного гена путем альтернативного сплайсинга трех экзонов. Одной из таких изоформ является экстра (дополнительный) домен А (EDA), который взаимодействует с TLR4.

Другие подходящие пептидные агонисты TLR содержат фибронектиновый домен EDA или его фрагмент или вариант. Такие подходящие фибронектиновые домены EDA или их фрагменты или варианты описаны в EP 1913954 B1, EP 2476440 A1, US 2009/0220532 A1 и WO 2011/101332 A1. Таким образом, пептидный агонист TLR4, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 8, или варианта её последовательности, как описано выше, является особенно предпочтительным в качестве компонента (iii), т.е. в качестве по меньшей мере одного пептидного агониста TLR, входящего в состав комплекса первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением.

NIDRPKGLAFTDVDVDSIKIAWESPQGQVSR YRVTYSSPEDGIRELFPAPDG
EDDTAELQGLRPGSEYTVSVVALHDDMESQPLIGIQST

[SEQ ID NO: 8] (EDA пептидного агониста TLR4)

Комплекс первого компонента (К) вакцины данного изобретения содержит по меньшей мере один пептидный агонист TLR, преимущественно комплекс первого компонента (К) в соответствии с настоящим изобретением содержит больше, чем один пептидный агонист TLR, в частности 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше пептидных агонистов TLR, более предпочтительно комплекс первого компонента (К) в соответствии с настоящим изобретением содержит (по меньшей мере) два или три пептидных агониста TLR, даже более предпочтительно комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит (по меньшей мере) четыре или пять пептидных агонистов TLR. Если больше, чем один пептидный агонист TLR входит в состав комплекса первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением, следует понимать, что указанный пептидный агонист TLR является в частности также ковалентно связанным в

комплексе для применения в соответствии с настоящим изобретением, например, с другим пептидным агонистом TLR и/или с компонентом (i), то есть проникающим в клетку пептидом, и/или с компонентом (ii), то есть антигеном или антигенным эпитопом.

5 Пептидные агонисты TLR, входящие в состав комплекса первого компонента (К) в соответствии с настоящим изобретением могут быть, например, одинаковыми или разными. Преимущественно, пептидные агонисты TLR, входящие в состав комплекса первого компонента (К) в соответствии с настоящим изобретением, отличаются друг от друга.

10 В особенно предпочтительном варианте осуществления комплекс первого компонента (К) в соответствии с настоящим изобретением содержит один единственный пептидный агонист TLR, например, один единственный агонист TLR, выбранный из тех, которые описаны выше. В особенно предпочтительном варианте осуществления комплекс первого компонента (К) в соответствии с
15 настоящим изобретением содержит один единственный пептидный агонист TLR и не содержит дополнительных компонентов, имеющих свойства агониста TLR, за исключением одного единственного пептидного агониста TLR, описанного выше.

20 В одном варианте осуществления, антигенный домен комплекса первого компонента (К) вакцины в соответствии с данным изобретением содержит по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп. Как использовано в данном описании, "антиген" представляет собой любое структурное вещество, которое служит мишенью для рецепторов адаптивного иммунного ответа, в частности, в качестве мишени для антител, рецепторов Т-клеток и/или рецепторов В-клеток.
25 «Эпитоп», также известный как «антигенная детерминанта», представляет собой часть (или фрагмент) антигена, которая распознается иммунной системой, в частности антителами, рецепторами Т-клеток и/или рецепторами В-клеток, и вызывает иммунный ответ. Таким образом, один антиген имеет по меньшей мере один эпитоп, т. е. один антиген может иметь или содержать более одного,
30 например, один или несколько эпитопов. В контексте настоящего изобретения термин «эпитоп» в основном используется для обозначения Т-клеточных эпитопов, которые презентированы на поверхности антигенпрезентирующей клетки, где они связаны с Главным Комплексом Гистосовместимости (МНС). Т-клеточные эпитопы, представленные молекулами МНС класса I, обычно, но не

исключительно, представляют собой пептиды длиной от 8 до 11 аминокислот, тогда как молекулы МНС класса II презентируют более длинные пептиды, обычно, но не исключительно, длиной от 12 до 25 аминокислот.

Преимущественно, по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, включенный в антигенный домен комплекса первого компонента (К) данного изобретения, выбран из группы, состоящей из таких как: пептид, полипептид или белок. Следует понимать, что по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп в соответствии с данным изобретением может содержать, например, по меньшей мере один, то есть один или больше, пептидов, полипептидов или белков, соединенных вместе.

В соответствии с одним вариантом осуществления, антигенный домен комплекса первого компонента (К) данного изобретения содержит больше, чем один антиген или антигенный эпитоп, например, комплекс первого компонента (К) данного изобретения может содержать в частности 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше антигенов или антигенных эпитопов. Преимущественно, один или больше антигенов или антигенных эпитопов, включенных в комплекс первого компонента (К) данного изобретения, расположены последовательно (или перекрываются), в частности больше, чем один антиген или антигенный эпитоп, в частности 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше антигенов или антигенных эпитопов расположены последовательно в антигенном домене первого компонента. Это означает в частности, что все антигены и/или антигенные эпитопы, входящие в состав комплекса первого компонента (К), являются функционально непосредственно связанными один с другим без каких-либо промежуточных последовательностей. Например, ни один из CPP или TLRag данного изобретения не расположен в середине аминокислотных последовательностей более, чем одного антигена или антигенного эпитопа. Желательно, чтобы элементы (i) – (iii) комплекса первого компонента (К) данного изобретения располагались в следующем порядке от N-конца к C-концу:

(i) CPP – (ii) антигенный домен – (iii) TLRag.

Альтернативно, элементы (i)-(iii) комплекса первого компонента (К) данного изобретения также могут быть связаны в порядке (i)-(iii)-(ii) или (ii)-(i)-(iii), или, например, антигены и/или антигенные эпитопы, которые могут быть расположены последовательно таким образом и связаны друг с другом спейсером или линкером, который не является одним из элементов (i)-(iii), как

описано выше, т.е. ни проникающим в клетки пептидом ни компонентом с), т.е. пептидным агонистом TLR. Однако предпочтительна прямая связь элементов антигенного домена данного изобретения в порядке (i)-(ii)-(iii).

В альтернативном варианте, однако, различные антигены и/или антигенные
5 эпитопы, как раскрыто в данном описании, также могут быть расположены в
любом другом порядке в комплексе первого компонента (К) (для применения) в
соответствии с настоящим изобретением, например, с элементом (i) и/или
компонентом (iii), расположенным между двух или нескольких антигенов и/или
антигенных эпитопов, или, например, одним или больше антигенами и/или
10 антигенными эпитопами, расположенными на соответствующем другом конце
элемента (i) и/или элемента (iii) комплекса данного изобретения. Термин
“элемент” или “элементы”, как использовано в данном описании, относится к
функциональным или структурным элементам комплекса первого компонента
(К) вакцины данного изобретения. Соответственно, CPP, антигенный домен и
15 TLRag могут называться элементами комплекса первого компонента (К) данного
изобретения.

В одном предпочтительном варианте осуществления по меньшей мере один
антиген или антигенный эпитоп, включенный в комплекс первого компонента
данного изобретения представляет собой по меньшей мере один эпитоп $CD4^+$
20 и/или по меньшей мере один эпитоп $CD8^+$, например, первый компонент (К) (для
применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньше
мере один антиген или антигенный эпитоп, который представляет собой по
меньшей мере один эпитоп $CD4^+$ и/или по меньшей мере один эпитоп $CD8^+$.
Термины “эпитоп $CD4^+$ ” или “ $CD4^+$ -рестриктированный эпитоп”, как
25 использовано в данном описании, обозначают эпитоп, который распознается
 $CD4^+$ Т клеткой, при этом указанный эпитоп, в частности, состоит из фрагмента
антигена, лежащего в бороздке молекулы МНС класса II. Один эпитоп $CD4^+$,
включенный в состав первого компонента (К) (для применения) в соответствии с
настоящим изобретением, преимущественно состоит из примерно 6, 7, 8, 9, 10,
30 11, 12 до примерно 25, 30, 40, 50, 60, 75, 100 аминокислот.

Термины “эпитоп $CD8^+$ ” или “ $CD8^+$ -рестриктированный эпитоп”, как
использовано в контексте настоящего изобретения, обозначают эпитоп, который
распознается $CD8^+$ Т клеткой, при этом указанный эпитоп в частности состоит
из фрагмента антигена, лежащего в бороздке молекулы МНС класса I. Один

эпитоп CD8⁺, включенный в состав комплекса для применения в соответствии с настоящим изобретением, преимущественно состоит из примерно 8-11 аминокислот, или, например, из примерно 8-15 аминокислот, или включает от примерно 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 до примерно 50, 60, 70, 80, 90, 100 аминокислот.

Преимущественно, по меньшей мере один антиген данного изобретения может содержать или по меньшей мере один антигенный эпитоп может состоять из эпитопа CD4⁺ и/или эпитопа CD8⁺, соответствующего антигенной(ым) детерминанте(ам) антигена, ассоциированного с раком/опухолью, рак/опухоль-специфического антигена или антигенного белка из патогена. Более предпочтительно, по меньшей мере один антиген может содержать или по меньшей мере один антигенный эпитоп может состоять из эпитопа CD4⁺ и/или эпитопа CD8⁺, соответствующего антигенной(ым) детерминанте(ам) антигена, ассоциированного с раком/опухолью, или рак/опухоль-специфического антигена. Наиболее преимущественно, по меньшей мере один антиген может содержать или по меньшей мере один антигенный эпитоп может состоять из эпитопа CD4⁺ и/или эпитопа CD8⁺, соответствующего антигенной(ым) детерминанте(ам) антигена, ассоциированного с опухолью, или опухоль-специфического антигена. На протяжении всего настоящего изобретения термин «раковый эпитоп» может использоваться как синоним термина «опухолевой эпитоп». Типы опухоли или рака, как раскрыто в данном описании, могут быть доброкачественными, предзлокачественными или злокачественными, метастатическими или неметастатическими.

Также желательно, чтобы комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержал по меньшей мере два антигена или антигенных эпитопа, при этом по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп содержит или состоит из эпитопа CD4⁺ и по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп содержит или состоит из эпитопа CD8⁺. В настоящее время установлено, что T_H-клетки (CD4⁺) играют центральную роль в противоопухолевом иммунном ответе как в лицензировании DC, так и в привлечении и удержании CTL (CD8⁺) в месте опухоли. Таким образом, комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением, содержащий по меньшей мере два антигена или антигенных эпитопа, где по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп

содержит или состоит из эпитопа $CD4^+$ и по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп содержит или состоит из эпитопа $CD8^+$, обеспечивает интегрированный иммунный ответ, допускающий одновременное праймирование CTL и T_H клеток, и поэтому является предпочтительным для иммунитета только против одного эпитопа $CD8^+$ или только против одного эпитопа $CD4^+$. Например, комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением может преимущественно включать эпитоп Еальфа- $CD4^+$ и эпитоп $gp100-CD8^+$.

Преимущественно, комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере два антигена или антигенных эпитопа, где по меньшей мере два антигена или антигенных эпитопа содержат или состоят из по меньшей мере двух, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или больше, эпитопов $CD4^+$ и/или по меньшей мере двух, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или больше, эпитопов $CD8^+$. Таким образом, по меньшей мере два антигена или антигенных эпитопа преимущественно представляют собой разные антигены или антигенные эпитопы, более предпочтительно по меньшей мере два антигена или антигенных эпитопа отличаются друг от друга, но относятся к одному и тому же виду опухоли. Использование антигенного домена в вакцине данного изобретения позволит (i) избежать роста вариантов с потерей антигена, (ii) нацелиться на разные опухолевые клетки в гетерогенной опухолевой массе и (iii) обойти изменчивость опухоли от пациента к пациенту, которая может быть, например, вызвана различными ТАА, экспрессируемыми опухолью, подлежащей лечению, или, например, которая может быть вызвана различными уровнями экспрессии соответствующих ТАА в подлежащей лечению опухоли. Таким образом, комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением особенно предпочтительно содержит по меньшей мере четыре антигена или антигенных эпитопа, в частности с по меньшей мере двумя эпитопами $CD8^+$ и по меньшей мере двумя эпитопами $CD4^+$. Такой комплекс для применения в соответствии с настоящим изобретением включает мультиэпитопные $CD8$ CTL и $CD4$ T_H клетки для синергического функционирования со вторым компонентом (V) вакцины данного изобретения для борьбы с опухолевыми клетками и повышения эффективности противоопухолевого иммунитета. T_H клетки также участвуют в поддержании

длительного клеточного иммунитета, который отслеживается после вакцинации. Такой комплекс вакцины (для применения) в соответствии с настоящим изобретением действует синергически со вторым компонентом (V) вакцины и индуцирует поликлональные, мультиэпитопные иммунные ответы и полифункциональные CD8⁺ и CD4⁺ Т-клетки и, таким образом, обладают эффективной противоопухолевой активностью, в частности когда комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с данным изобретением вводят до введения второго компонента (V).

Преимущественно, комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере два антигена или антигенных эпитопа, более предпочтительно комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере три антигена или антигенных эпитопа, даже более предпочтительно комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере четыре антигена или антигенных эпитопа, особенно предпочтительно комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере пять антигенов или антигенных эпитопов и наиболее предпочтительно комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере шесть антигенов или антигенных эпитопов. Антигены или антигенные эпитопы, входящие в состав комплекса первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением, могут быть одинаковыми или различными, преимущественно антигены или антигенные эпитопы, входящие в состав комплекса первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением отличаются один от другого. Преимущественно, комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере один эпитоп CD4⁺ и по меньшей мере один эпитоп CD8⁺.

Преимущественно, комплекс первого компонента (К) вакцины для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит больше, чем один эпитоп CD4⁺, например, два или больше эпитопов CD4⁺ из одного и того же антигена или из разных антигенов, и преимущественно ни одного эпитопа CD8⁺. Также желательно, чтобы комплекс первого компонента (К) вакцины для

применения в соответствии с настоящим изобретением содержит больше, чем один CD8⁺ эпитоп, например, два или больше эпитопов CD8⁺ из одного и того же антигена или из разных антигенов, и преимущественно ни одного эпитопа CD4⁺. Однако, наиболее предпочтительно комплекс первого компонента (К) вакцины для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит (i) по меньшей мере один эпитоп CD4⁺, например, два или больше эпитопов CD4⁺ из одного и того же антигена или из разных антигенов, и (ii) по меньшей мере один эпитоп CD8⁺, например, два или больше эпитопов CD8⁺ из одного и того же антигена или из разных антигенов.

10 Например, в одном варианте осуществления антигенный домен комплекса первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением содержит по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, который содержит или состоит из по меньшей мере одного опухолевого эпитопа. Как использовано в настоящем изобретении, опухолевый эпитоп или опухолевый антиген
15 представляет собой пептидный антиген, который продуцируется в опухолевых клетках. Многие опухолевые антигены были идентифицированы как у людей, так и у мышей, например, различные аномальные продукты Kras и p53 обнаруживаются в различных опухолях.

20 Например, в одном варианте осуществления антигенный домен комплекса первого компонента (К) может содержать по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, который содержит или состоит из опухоле-ассоциированного антигена или опухолеспецифического антигена. Термин “опухоле-ассоциированный антиген” (ТАА), как использовано в настоящем изобретении, относится к белку или полипептидному антигену, который
25 экспрессируется раковой клеткой. Например, ТАА может представлять собой один или больше поверхностных белков или полипептидов, ядерных белков или гликопротеинов, или их фрагментов, экспрессируемых раковой клеткой. Например, опухоле-ассоциированные антигены человека включают антигены дифференцировки (такие как антигены дифференцировки меланоцитов),
30 мутационные антигены (такие как p53), сверхэкспрессированные клеточные антигены (такие как HER2), вирусные антигены (такие как белки папилломавируса человека) и раково-тестикулярные (СТ) антигены, которые экспрессируются в зародышевых клетках яичка и яичника, но являются молчащими в нормальных соматических клетках (например, MAGE и NY-ESO-

1). Многие ТАА не являются рако- или опухоли-специфичными и могут быть также обнаружены в нормальных тканях.

Термин “опухоль-специфические антигены” (TSA), как использовано в настоящем изобретении, относится к репертуару пептидов, которые
5 отображаются на поверхности опухолевых клеток и могут специфически распознаваться неоантиген-специфическими Т-клеточными рецепторами (TCR) в контексте молекул Главных Комплексов Гистосовместимости (MHC). Также могут упоминаться TSA, которые также упоминаются как «опухольные неоантигены» в контексте данного изобретения. С иммунологической точки зрения опухольный неоантиген является действительно чужеродным белком и
10 полностью отсутствует в нормальных органах/тканях человека. Для большинства опухолей человека без вирусной этиологии опухольные неоантигены могут, например, происходить из множества несинонимичных генетических изменений, включая однонуклеотидные варианты (SNV), вставки и делеции (indel), слияния генов, мутации сдвига рамки считывания и структурные варианты (SV). Термин «опухоль-специфические антигены» (TSA),
15 используемый в соответствии с данным изобретением, также включает онковирусные антигены, такие как, например, антигены вируса папилломы человека или полиомавируса клеток Меркеля (MCPyV). Как правило, онковирусные антигены экспрессируются только на клетках, инфицированных соответствующим вирусом. Опухольные неоантигены могут быть
20 идентифицированы с использованием инструментов прогнозирования *in silico*, известных в данной области, как описано в *Trends in Molecular Medicine*, ноябрь 2019, стр. 980–992.

Преимущественно, по меньшей мере один опухольный эпитоп, или по меньшей мере один ТАА, или по меньшей мере один TSA антигенного домена данного изобретения выбирают из группы опухолей или рака, включающей
эндокринные опухоли, опухоли желудочно-кишечного тракта, мочеполовые и гинекологические опухоли, опухоли головы и шеи, опухоли кроветворной
30 системы, опухоли кожи, опухоли грудной клетки и органов дыхания.

Более конкретно, по меньшей мере один опухольный эпитоп, или по меньшей мере один ТАА, или по меньшей мере один TSA антигенного домена данного изобретения выбирают из группы опухолей и/или раковых заболеваний, включающих такие как: рак молочной железы, включая трижды негативный рак

молочной железы; рак желчевыводящих путей; рак мочевого пузыря; рак
головного мозга, включая глиобластомы и медуллобластомы; рак шейки матки;
хориокарцинома; рак толстой кишки; рак эндометрия; рак пищевода; рак
желудка; стромальная опухоль желудочно-кишечного тракта (GIST), рак
5 аппендикита, холангиокарцинома, карциноидная опухоль, желудочно-кишечный
рак кишечника, рак внепеченочных желчных протоков, рак желчного пузыря,
гастральный рак (желудка), карциноидная опухоль желудочно-кишечного
тракта, колоректальный рак или метастатический колоректальный рак,
гематологические новообразования, включая острый лимфоцитарный и
10 миелогенный лейкоз; Т-клеточный острый лимфобластный лейкоз/лимфома;
волосатоклеточный лейкоз; хронический миелогенный лейкоз, множественная
миелома; СПИД-ассоциированные лейкозы и Т-клеточная лейкозная лимфома
взрослых; внутриэпителиальные новообразования, включая болезнь Боуэна и
болезнь Педжета; рак печени; рак легкого, включая немелкоклеточный рак
15 легкого, лимфомы, включая болезнь Ходжкина, и лимфоцитарные лимфомы;
нейробластомы; глиобластома, рак ротовой полости, включая плоскоклеточную
карциному; рак яичников, в том числе возникающий из эпителиальных клеток,
стромальных клеток, зародышевых клеток и мезенхимальных клеток; рак
поджелудочной железы; рак простаты; рак прямой кишки; саркомы, включая
20 лейомиосаркому, рабдомиосаркому, липосаркому, фибросаркому и
остеосаркому; рак кожи, включая меланому, карциному из клеток Меркеля,
саркому Капоши, базальноклеточную карциному и плоскоклеточный рак; рак
яичка, включая зародышевые опухоли, такие как семинома, несеминома
(тератомы, хориокарциномы), стромальные опухоли и опухоли зародышевых
25 клеток; рак щитовидной железы, включая аденокарциному щитовидной железы и
медуллярную карциному; и рак почки, включая аденокарциному и опухоль
Вильмса.

Особенно преимущественно, по меньшей мере один опухолевый эпитоп,
или по меньшей мере один ТАА, или по меньшей мере один TSA антигенного
30 домена комплекса первого компонента (К) данного изобретения выбирают из
группы опухолей или раковых заболеваний, включающей колоректальный рак,
метастатический колоректальный рак, рак поджелудочной железы или рак
молочной железы, включая трижды негативный рак молочной железы (TNBC).
Термин “трижды негативный рак молочной железы”, как использовано в данном

описании, относится к раку молочной железы, в котором отсутствует экспрессия рецептора эстрогена (ER), рецептора прогестерона (PgR) и HER2, все из которых являются молекулярными мишенями терапевтических агентов. TNBC составляет 10–20 % случаев инвазивного рака молочной железы и включает более, чем один молекулярный подтип. Как правило, пациенты, страдающие TNBC, имеют относительно худший исход по сравнению с пациентами с другими подтипами рака молочной железы из-за изначально агрессивного клинического поведения и отсутствия признанных молекулярных мишеней для терапии. Третьи негативный рак молочной железы является фенотипом, и его основными компонентами в молекулярных анализах являются базальноподобные опухоли, нормальные опухоли молочной железы и недавно обнаруженные, необычные, но интригующие молекулярные подтипы с низким уровнем клаудина, а также включает подтипы с дефицитом BRCA1. TAA, которые экспрессируются TNBC, включают, например, MAGE-A3, MUC-1, PRAME, ASCL2 и NY-ESO-1.

Термин «рак поджелудочной железы» или «панкреатический рак», как использовано в данном описании, относится к раку, происходящему из клеток поджелудочной железы. Преимущественно, панкреатический рак, как использовано в данном описании, относится к аденокарциноме поджелудочной железы, включая аденокарциному протока поджелудочной железы и ее морфологические варианты, например, аденосквамозную карциному, коллоидную/муцинозную карциному, недифференцированную/анапластическую карциному, перстневидно-клеточную карциному, медуллярную карциному, гепатоидную карциному. Аденокарцинома поджелудочной железы является летальным состоянием с неблагоприятными исходами и растущей заболеваемостью. Рак поджелудочной железы, как правило, болезнь пожилых людей. Крайне редко у пациентов диагностируется до 30 лет, и 90% впервые диагностированных пациентов находятся в возрасте старше 55 лет, причем большинство из них находятся на 7-м и 8-м десятилетии жизни, с более высокой заболеваемостью среди мужчин по сравнению с женщинами. Рак поджелудочной железы характеризуется экспрессией опухолеассоциированных антигенов, включая мезотелин, сурвивин и NY-ESO-1.

Как использовано в данном описании, колоректальный рак (CRC, также известный как «рак кишечника») представляет собой рак, который включает рак толстой кишки и рак прямой кишки (CC). Оба отдельных рака имеют много

общих черт, но не отправную точку рака. Согласно Siegel, R., C. Desantis и A. Jemal, *Colorectal cancer statistics*, 2014. CA Cancer J Clin, 2014. 64(2): стр. 104-17, в Соединенных Штатах в период с 2006 по 2010 год несколько возросло количество случаев заболевания с локализацией опухоли в проксимальном отделе толстой кишки (первый и средний отделы толстой кишки).

5 Приблизительно 19 случаев на 100000 человек, что составляют 42% случаев. За ним следует рак прямой кишки с 28% случаев и дистального отдела толстой кишки (нижняя часть толстой кишки) с заболеваемостью 10 случаев на 100000 человек. Анатомически термин «колоректальный рак» включает (i) рак толстой кишки, такой как рак слепой кишки (включая рак илеоцекального клапана), аппендикса, восходящего отдела толстой кишки, печеночного изгиба, поперечной ободочной кишки, селезеночного изгиба, нисходящего отдела толстой кишки, сигмовидной кишки (включая рак сигмовидной (изгибной), а также раки перекрывающихся участков толстой кишки; (ii) рак

10 ректосигмовидного перехода, такой как рак толстой и прямой кишки и рак ректосигмовидного отдела; и (iii) рак прямой кишки, такой как рак ректальной ампулы.

Преимущественно, колоректальный рак представляет собой рак толстой кишки, такой как рак слепой кишки (включая рак илеоцекального клапана), рак

20 аппендикса, рак восходящей ободочной кишки, рак печеночного изгиба, рак поперечной ободочной кишки, рак селезеночного изгиба, рак нисходящей толстой кишки, рак сигмовидной кишки (включая рак сигмовидной кишки (изгиб)) или их комбинацию.

Также предпочтительно, чтобы колоректальный рак представлял собой рак

25 ректосигмоидного перехода, такой как (i) рак толстой и прямой кишки или (ii) рак ректосигмовидного отдела. Кроме того, также желательно, чтобы колоректальный рак был раком прямой кишки, например, раком ректальной ампулы.

Колоректальный рак содержит различные типы клеток, такие как,

30 например, тип клеток, колоректальный рак включает колоректальную аденокарциному, колоректальные стромальные опухоли, первичную колоректальную лимфому, колоректальную лейомиосаркому, колоректальную меланому, колоректальный плоскоклеточный рак и колоректальные карциноидные опухоли, такие как, например, карциноидные опухоли слепой

кишки, аппендикса, восходящей ободочной кишки, поперечной ободочной кишки, нисходящей ободочной кишки, сигмовидной кишки и/или прямой кишки. Таким образом, предпочтительные типы колоректального рака включают колоректальную аденокарциному, колоректальные стромальные опухоли, первичную колоректальную лимфому, колоректальную лейомиосаркому, колоректальную меланому, колоректальный плоскоклеточный рак и колоректальные карциноидные опухоли, такие как, например, карциноидные опухоли слепой кишки, аппендикса, восходящей ободочной кишки, поперечной ободочной кишки, нисходящая ободочной кишки, сигмовидной кишки и/или прямой кишки. Более предпочтительно, колоректальный рак представляет собой колоректальную аденокарциному или колоректальный карциноидный рак. Даже более предпочтительно, колоректальный рак представляет собой колоректальную аденокарциному. Соответственно, по меньшей мере один опухолевой или раковый эпитоп антигенного домена комплекса первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением может быть выбран из любых типов клеток колоректального рака, описанных выше.

Поскольку колоректальный рак экспрессирует различные ТАА или TSA в зависимости от стадии опухоли в соответствии с системой стадирования TMN, по меньшей мере один опухолевой или раковый эпитоп антигенного домена антигенного домена комплекса первого компонента (К) вакцины данного изобретения преимущественно включает ТАА или TSA, например, следующих стадий для первичных опухолей («Т» стадии): ТХ — первичная опухоль не может быть оценена, Т0 — нет признаков первичной опухоли, Тa — неинвазивная папиллярная карцинома, Тis — карцинома *in situ*: интраэпителиальная или с инвазией в собственную пластинку, Т1 — опухоль инвазируется в подслизистую оболочку, Т2 — опухоль инвазируется в мышечную оболочку, Т3 — опухоль инвазируется через мышечную оболочку в периколоректальные ткани, Т4a — опухоль проникает на поверхность висцеральной брюшины и Т4b — опухоль инвазируется непосредственно или срастается с другими органами или структурами; следующие стадии для лимфатических узлов («N» стадии): NX — регионарные лимфатические узлы не могут быть оценены, N0 — нет метастазов в регионарных лимфатических узлах, N1 — метастазы в 1-3 регионарных лимфатических узлах, при этом N1a — метастазы в 1 регионарном лимфатическом узле, N1b - Метастазы в 2-3

регионарных лимфатических узлах и N1c - Метастаза(ы) опухоли в подсерозной оболочке, брыжейке или перитонизированных околотолстокишечных или околопрямокишечных тканях без метастаз в регионарных узлах, N2 - Метастазы в 4 или более лимфатических узлах, при этом N2a - метастазы в 4- 6

5 регионарных лимфатических узлах и N2b — метастазы в 7 и более регионарных лимфатических узлах; и следующие стадии для отдаленных метастаз («М» стадии): M0 — нет отдаленных метастаз и M1 — отдаленные метастазы, при этом M1a — метастазы ограничены 1 органом или местом (например, печени, легким, яичником, нерезионарным лимфатическим узлом) и M1b — метастазы

10 более чем в 1 органе/участке или брюшине. Указанные *стадии* могут быть объединены в следующую числовую классификацию стадий колоректального рака: Стадия 0: Tis, N0, M0; Стадия I: T1, N0, M0 или T2, N0, M0; Стадия IIА: T3, N0, M0; Стадия IIВ: T4a, N0, M0; Стадия IIС: T4b, N0, M0; Стадия IIIА: T1-T2, N1/N1c, M0 или T1, N2a, M0; Стадия IIIВ: T3-T4a, N1/N1c, M0 или T2-T3, N2a, M0 или T1-T2, N2b, M0; Стадия IIIС: T4a, N2a, M0 или T3-T4a, N2b, M0

15 или T4b, N1-N2, M0; Стадия IVА: любая Т, любая N, M1a и Стадия IVВ: любая Т, любая N, M1b. Коротко, на Стадии 0, рак не вышел за пределы внутреннего слоя толстой или прямой кишки; на Стадии I рак распространился со слизистой оболочки на мышечный слой; на Стадии II рак распространился через мышечный слой на серозную оболочку близлежащих органов; на Стадии III рак распространился на близлежащие лимфатические узлы или раковые клетки распространились на ткани рядом с лимфатическими узлами; а на Стадии IV рак распространился через кровь и лимфатические узлы на другие части тела.

20

Сообщалось о различных ассоциированных с опухолью антигенах

25 вышеуказанных типов клеток и стадий колоректального рака, которые включают, например, CEA, MAGE, MUC1, сурвивин, WT1, RNF43, TOMM34, VEGFR-1, VEGFR-2, KOC1, ART4, KRas, EpCAM, HER-2, COA-1 SAP, TGF-βRII, p53, ASCL2, IL13Ральфа2, ASCL2, NY-ESO-1, MAGE-A3, PRAME и SART 1-3 (см., например, *World J Gastroenterol* 2018 December 28; 24(48): 5418-5432).

30 Соответственно, по меньшей мере один опухолевый эпитоп антигенного домена комплекса первого компонента (К) вакцины в соответствии с данным изобретением представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: EpCAM, HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, βhCG, сурвивин, CEA, ASCL2, TGFβR2, p53, KRas, OGT, мезотелин,

CASP5, COA-1, MAGE, SART, IL13Ральфа2, ASCL2, NY-ESO-1, MAGE-A3, PRAME.

Меланома-ассоциированный антиген (MAGE)

Члены семейства генов MAGE (меланома-ассоциированный антиген) млекопитающих изначально были описаны как полностью молчащие в нормальных тканях взрослых, за исключением мужских половых клеток и, для некоторых из них, плаценты. Напротив, эти гены экспрессировались в различных видах опухолей. Таким образом, комплекс для применения в соответствии с настоящим изобретением предпочтительно содержит антиген семейства MAGE (антиген «MAGE») или его эпитоп. В частности, из семейства MAGE предпочтительными являются MAGE-A3 и MAGE-D4, и особенно предпочтительным является MAGE-A3. Нормальная функция MAGE-A3 в здоровых клетках неизвестна. MAGE-A3, который может, например, также называться раково-тестикулярным антигеном 1.3, представляет собой опухолеспецифический белок и был идентифицирован во многих опухолях. Аминокислотная последовательность MAGE-A3 показана ниже:

MPLEQRSQHCKPEEGLEARGEALGLVGAQAPATEEQEAASSSSTLVEVTL
 GEVPAAESPPQSPQGASSLPTTMNYPLWSQSYEDSSNQEEGPSTFPDLESEF
 QAALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLGSVVGNWQYFFPVIFSKAFSSLQ
 LVFGIELMEVDPIGHLIYIFATCLGLSYDGLLGDNQIMPKAGLLIIVLAIAREGDC
 AP EEKIWEELSVLEVFEGREDSILGDPKLLTQH FVQENYLEYRQVPGSDPACYE
 FLWGPRALVETS YVKVLHNMVKISGGPHIS YPPLHEWVLREGEE

[SEQ ID NO: 10]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) вакцины для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере один антиген аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 10.

Мезотелин

Мезотелин, который первоначально был идентифицирован при раке яичников как белок, реагирующий с антителом, называемым «mAb K1», представляет собой опухолевый антиген, который в высокой степени экспрессируется при многих видах рака человека, включая злокачественную мезотелиому и аденокарциному поджелудочной железы, яичников и легких.

Аминокислотная последовательность мезотелина согласно UniProtKB Q13421 показана ниже:

MALPTARPLLGSCGTPALGSLLFLLFSLGWVQPSRTLGETGQEAAPLDGV
 LANPPNISSLSPRQLLGFPVCAEVSGLSTERVRELAVALAQKNVKLSTEQRLRCLAH
 5 RLSEPPEDLDALPLDLLLFLNPDAFSGPQACTRFFSRITKANVDLLPRGAPERQRL
 LPAALACWGVVRSLLSEADVRLGGLACDLPGRFVAESADEVLLPRLVSCPGPLD
 QDQQAARAALQGGGPPYGGPSTWSVSTMDALRGLLPVLGQPIIRSIPQGIVAA
 WRQRSSRDPSWRQPVERTILRPRFRREVEKTACPSGKKAREIDESLIFYKKWELEA
 CVDAALLATQMDRVNAIPFTYEQLDVLKHKLDELTPQGYPESEVIQHLGYLFLK
 10 MSPEDIRKWNVTSLKALLEVNKGHEMSPQAPRRPLPQVATLIDRFVKGRGQ
 LDKDTLDTLTAFFPYGLCSLSPEELSSVPPSSIWA VVRPQDLDTCDPRQLDVLVYPK
 ARLAFQNMNGSEYFVKIQSFLGGAPTEDLKALSQQNVSMDLATFMKLRTDAVL
 PLTVAEVQKLLGPHVEGLKAEERHRPVRDWILRQRQDDLDTLGLGLQGGIPNG
 YLVLDLSMQEALSGTPCLLGGPVLTVLALLASTLA

15 [SEQ ID NO: 11]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) вакцины для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере один антиген аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 11.

20 Сурвивин

В некоторых вариантах осуществления антигенный домен комплекса (первого компонента) содержит по меньшей мере один эпитоп сурвивина. Сурвивин, также называемый бакуловирусным ингибитором мотива апоптозных повторов 5 или BIRC5 (UniProtKB O15392), является членом семейства ингибиторов апоптоза (IAP). Белок сурвивин ингибирует активацию каспазы, тем самым приводя к негативной регуляции апоптоза или запрограммированной гибели клеток. Аминокислотная последовательность сурвивина представлена следующим образом:

MGAPTLPPAWQPFLKDHRIKSTFKNWPFLGCACTPERMAEAGFIHCPTENE
 30 PDLAQCFKCFKELEGWEPDDDDPIEENKHKHSSGCAFLSVKKQFEELTLGFEFLKLDL
 ERAKNKIAKETNNKKKEFEETAKKVRRAIEQLAAMD

[SEQ ID NO: 12]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит

аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 12 или её фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании. В частности, желательно, чтобы антигенный домен указанного первого компонента (К) содержал пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 12, или её фрагмента, имеющего длину по меньшей мере 10 аминокислот, или варианта её функциональной последовательности, имеющего по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

Специалисту известно несколько эпитопов сурвивина. Предпочтительный эпитоп сурвивина, который преимущественно входит в состав комплекса первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением, включает следующий эпитоп (последовательность эпитопа, показанная ниже, является фрагментом вышеуказанной последовательности сурвивина и, таким образом, показана в приведенной выше последовательности сурвивина подчеркнутой; следующая последовательность эпитопов может относиться к одному эпитопу или нескольким (перекрывающимся) эпитопам):

RISTFKNWPF

[SEQ ID NO: 22]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 22.

Соответственно, желательно, чтобы комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержал эпитоп сурвивина. Более предпочтительно, комплекс первого компонента (К) содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 12, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот (преимущественно по меньшей мере 15 аминокислот, более предпочтительно по меньшей мере 20 аминокислот, даже более предпочтительно по меньшей мере 25 аминокислот и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 аминокислот), или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности (преимущественно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, ещё более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее

предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности).
 Даже более предпочтительно, комплекс первого компонента (К) содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 22. Наиболее предпочтительно, комплекс содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 23 или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности (преимущественно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, ещё более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности).

NY-ESO-1

NY-ESO-1 (также называемый «раково-текстикулярный антиген 1» или «плоскоклеточная карцинома пищевода Нью-Йорк 1», UniProtKB P78358) представляет собой хорошо известный раково-текстикулярный антиген (СТА) с реэкспрессией во многие виды рака. NY-ESO-1 вызывает спонтанные гуморальные и клеточные иммунные ответы и характеризуется ограниченным паттерном экспрессии, что делает его хорошей кандидатной мишенью для иммунотерапии рака. NY-ESO-1-специфические иммунные ответы наблюдались при различных типах рака. Аминокислотная последовательность NY-ESO-1 показана ниже:

MQAEGRGTGGSTGDADGPGGPGIPDGPGGNAGGPGGEAGATGGRGPRGAG
 AARASGPGGGAPRGPHGGAASGLNGCCRCGARGPESRLLEFYLAAMPFATPMEA
 ELARRSLAQDAPPLPVPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHRQLQLSISSCLQQLSL
 LMWITQCFLPVFLAQPPSGQRR

[SEQ ID NO: 13]

В предпочтительном варианте осуществления, по меньшей мере один опухолевый эпитоп антигенного домена комплекса первого компонента (К) вакцины в соответствии с данным изобретением, как описано выше, представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: мезотелин, сурвивин и NY-ESO-1. Например, по меньшей мере один опухолевый эпитоп антигенного домена первого компонента (К) вакцины в соответствии с данным изобретением представляет собой эпитоп, выбранный из мезотелина, сурвивина или мезотелина и NY-ESO-1 или сурвивина и NY-ESO-1.

В соответствии с одним вариантом осуществления, по меньшей мере один опухолевый эпитоп антигенного домена первого компонента (К) вакцины в соответствии с данным изобретением, как описано выше, содержит эпитоп антигена мезотелина или NY-ESO-1, или сурвивина, или его фрагмент, или вариант последовательности опухолевого антигена или его фрагмент. Термин „фрагмент“, как использовано в настоящем изобретении, содержит по меньшей мере 10 последовательных аминокислот антигена, преимущественно по меньшей мере 15 последовательных аминокислот антигена, более предпочтительно по меньшей мере 20 последовательных аминокислот антигена, даже более предпочтительно по меньшей мере 25 последовательных аминокислот антигена и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 последовательных аминокислот антигена. «Вариант последовательности» определен выше, а именно вариант последовательности имеет (аминокислотную) последовательность, которая является на по меньшей мере 70%, предпочтительно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, еще более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по мере менее 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичной эталонной последовательности. «Функциональный» вариант последовательности означает в контексте антигена, фрагмента антигена или эпитопа, что функция эпитопа(ов), например, входящего в состав антигена (фрагмента), не нарушена или отменена, т. е. является иммуногенной, преимущественно обладает такой же иммуногенностью, как и эпитоп, входящий в состав полноразмерного антигена. Преимущественно, однако, аминокислотная последовательность эпитопа(ов), например, входящая в состав ракового/опухолевого антигена (фрагмента), как раскрыто в данном описании, не мутирована и, таким образом, идентична эталонной последовательности эпитопа. Например, вакцина в соответствии с данным изобретением, как описано выше, содержит антигенный домен, содержащий по меньшей мере один, например, один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять или более эпитопов, выбранных из по меньшей мере одного, двух или всех антигенов, как описано выше, например, таких как мезотелин, сурвивин и NY-ESO-1, может быть особенно полезной в контексте рака поджелудочной железы.

PRAME

PRAME (антиген меланомы, преимущественно экспрессируемый в
 опухолях, UniProtKB P78395) также известный как антиген рака яичка 130
 (CT130), MAPE (антиген меланомы, преимущественно экспрессируемый в
 опухолях) и OIP4 (белок 4, взаимодействующий с OPA), является членом
 5 семейства антигенов рака яичка (СТА). Экспрессия PRAME в нормальных
 соматических тканях эпигенетически ограничена зародышевыми клетками
 взрослых с низкой экспрессией в семенниках, придатках яичек, эндометрии,
 яичниках и надпочечниках. Подобно члену СТА NY-ESO-1, PRAME был
 идентифицирован как иммуногенный ассоциированный с опухолью антиген при
 10 меланоме, и с момента его открытия его экспрессия была продемонстрирована
 при различных солидных и гематологических злокачественных
 новообразованиях, включая трижды негативный рак молочной железы.
 Аминокислотная последовательность PRAME показана ниже:

MERRRLWGSIQSRYISMSVWTSPRRLVELAGQSLLKDEALAIAALELLPRE
 15 LFPPLFMAAFDGRHSQTLKAMVQAWPFTCLPLGVLMKQGHLHLETFKAVLDGL
 DVLLAQEVRRRWKLQVLDLRKNSHQDFWTVWSGNRASLYSFPEPEAAQPMT
 KKRKVDGLSTEAEQPFIPVEVLVDLFLKEGACDELFSYLIEKVKRKKNVLRCC
 KCLKIFAMPMQDIKMILKMVQLDSIEDLEVCTCTWKLPTLAKFSPYLGQMINLRR
 LLLSHIHASSYISPEKEEQYIAQFTSQFLSLQCLQALYVDSLFFLRGRDLQLLRHV
 20 MNPLETLSITNCRLSEGDVMHLSQSPSVSQLSVLSLSGVMLTDVSPEPLQALLER
 ASATLQDLVFDECGITDDQLLALLPSLSHCSQLTTLSFYGNSISISALQSLQHLIG
 LSNLTHVLYPVPLESYEDIHGTLHLERLAYLHARLRELLCELGRPSMVWLSANP
 CPHCGDRTFYDPEPILCPCFMPN

25 [SEQ ID NO: 14]

ASCL2 (Гомолог Achaete-scute 2)

В некоторых вариантах осуществления антигенный домен указанного
 первого компонента (К) содержит по меньшей мере один эпитоп ASCL2. ASCL2
 является основным фактором транскрипции спираль-петля-спираль,
 необходимым для поддержания пролиферирующих трофобластов во время
 30 развития плаценты. Было обнаружено, что ASCL2 является предполагаемым
 регулятором пролиферации, который сверхэкспрессируется при кишечной
 неоплазии. Аминокислотная последовательность ASCL2 показана ниже:

MDGGTLPRSAPPAPPVPGCAARRRPASPELLRCSRRRRPATAETGGGAA
 AVARRNERERNRVKLVNLGFQALRQHVPHGGASKKLSKVETLRSAVEYIRALQ

RLLAENDAVRNALAGGLRPQAVRPSAPRGPPGTTTPVAASPSRASSSPGRGGSSE
 PGSPRSAYSSDDSGCEGALSPAERELLDFSSWLGGY

[SEQ ID NO: 15]

Соответственно, антигенный домен указанного первого компонента (К) преимущественно содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 15, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности. Более предпочтительно, антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 18 или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

Специалисту в данной области известно несколько эпитопов ASCL2.

Предпочтительные эпитопы ASCL2, которые преимущественно входят в состав комплекса для применения в соответствии с настоящим изобретением, включают следующие эпитопы (последовательности эпитопов, показанные ниже, являются фрагментами вышеуказанной последовательности ASCL2 и, таким образом, показаны в приведенной выше последовательности ASCL2 подчеркнутыми; каждая из следующих последовательностей эпитопов может относиться к одному эпитопу или нескольким (перекрывающимся) эпитопам):

SAVEYIRALQ

[SEQ ID NO: 16]

ERELLD

[SEQ ID NO: 17]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 16 и/или аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 17. Другими словами, антигенный домен преимущественно содержит пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 16, и/или пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 17.

Соответственно, желательно, чтобы комплекс первого компонента (К) для применения в соответствии с настоящим изобретением содержал эпитоп ASCL2. Более предпочтительно, комплекс первого компонента (К) содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 15, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот (преимущественно по меньшей мере 15 аминокислот, более предпочтительно по меньшей мере 20 аминокислот, даже более предпочтительно по меньшей мере 25 аминокислот и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 аминокислот), или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности (преимущественно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, ещё более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности).

Даже более предпочтительно, комплекс первого компонента (К) содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 16, и/или пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 17. Наиболее предпочтительно, комплекс первого компонента (К) содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 18 или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности (преимущественно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, ещё более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности).

Муцин-1 (MUC-1)

MUC-1 (UniProtKB P15941) представляет собой эпителиальный муцин человека, действующий на клеточную адгезию. Аминокислотная последовательность MUC-1 показана ниже:

MTPGTQSPFFLLLLLTVLTVVTGSGHASSTPGGEKETSATQRSSVPSSTEKN
 AVSMTSSVLSSHSPGSGSSTTQGQDVT LAPATEPASGSAATWGQDVTSVPVTRP
 ALGSTTPPAHDVTSAPDNKPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTS
 APDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPA

HGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGS
 TAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTR
 PAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTS
 APDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPA
 5 HGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGS
 TAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTR
 PAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTS
 APDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPA
 HGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGS
 10 TAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTR
 PAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTS
 APDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPA
 HGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGSTAPPAHGVTSAPDTRPAPGS
 TAPPAHGVTSAPDNRPALGSTAPPVHNVTASGSASGSASTLVHNGTSARATTT
 15 PASKSTPFSIPSHHSDTPTTLASHSTKTDASSTHHSSVPPLTSSNHSTSPQLSTGVS
 FFFLSFHISNLQFNSSLEDPSTDYYQELQRDISEMFLQIYKQGGFLGLSNIKFRPGS
 VVVQLTLAFREGTINVHDVETQFNQYKTEAASRYNLTISDVSVDVPPFSAQSG
 AGVPGWGIALLVLCVLVALAIVYLIALAVCQCRRKNYGQLDIFPARDTYHPM
 SEYPTYHNTHGRYVPPSSTDRSPYEKVSAGNGGSSLSYTNPAVAATSANL

20 [SEQ ID NO: 19]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 19 или её фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании.

25 Специалисту в данной области известно несколько эпитопов MUC-1. Предпочтительные эпитопы MUC-1, которые преимущественно входят в состав комплекса первого компонента (К) для применения в соответствии с настоящим изобретением, включают следующие эпитопы (последовательности эпитопов, показанные ниже, являются фрагментами вышеуказанной последовательности

30 MUC-1 и, таким образом, показаны в приведенной выше последовательности MUC-1 подчеркнутыми; каждая из следующих последовательностей эпитопов может относиться к одному эпитопу или нескольким (перекрывающимся) эпитопам):

GSTAPPVHN

[SEQ ID NO: 20]

TAPPAHGVTS

[SEQ ID NO: 21]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) (для
5 применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит
аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 20 и/или
аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 21.

Раково-эмбриональный антиген (СЕА)

В некоторых вариантах осуществления антигенный домен указанного
10 первого компонента (К) содержит по меньшей мере один эпитоп СЕА. СЕА
представляет собой гликопротеин внутриклеточной адгезии. СЕА обычно
вырабатывается в тканях желудочно-кишечного тракта во время
внутриутробного развития, но производство прекращается до рождения.
Следовательно, СЕА обычно присутствует только в очень низких количествах в
15 крови здоровых взрослых. Аминокислотная последовательность СЕА показана
ниже:

MESPSAPPHRWCIPWQRLLLTASLLTFWNPPTAKLTIESTPFNVAEGKEV
LLLVHNLQPQLFGYSWKGERVDGNRQIIGYVIGTQQATPGPAYSGREIIPNAS
LLIQNIIQNDTGFYTLHVIKSDLVNEEATGQFRVYPELPKPSISSNNSKPVEDKDA
20 VAFTCEPETQDATYLWWVNNQSLPVSRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDTASYKC
ETQNPVSARRSDSVILNVLYGPDAPTISPLNTSYRSGENLNLSCHAASNPPAQYS
WVNGTFQQSTQELFIPNITVNNSGSYTCQAHNSDTGLNRTTVTITVYAEPPKP
FITSNNSNPVEDEDAVALTCEPEIQNTTYLWWVNNQSLPVSRLQLSNDNRTLTL
LLSVTRNDVGPYECGIQNKLSVDHSDPVILNVLYGPDDPTISPSYTYRPGVNLS
25 LSCHAASNPPAQYSWLIDGNIQQHTQELFISNITEKNSGLYTCQANNSASGHSRT
TVKTITVSAELPKPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPEAQNTTYLWWVNGQSLPV
SPRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDARAYVCGIQNSVSANRSDPVTLDVLYGPDTPII
SPPDSSYLSGANLNLSCHSASNPSQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYA
CFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSAGATVGIMIGVLVGVVAL

30 [SEQ ID NO: 24]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) (для
применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит
аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 24 или её
фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании. Преимущественно,

антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 24, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности. Более предпочтительно, антигенный домен содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 25 или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

10 Специалисту в данной области известно несколько эпитопов СЕА. Предпочтительные эпитопы СЕА, которые преимущественно входят в состав комплекса первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением, включают следующие эпитопы (последовательности эпитопов, показанные ниже, являются фрагментами вышеуказанной последовательности СЕА и, таким образом, показаны в приведенной выше последовательности СЕА подчеркнутыми; каждая из следующих последовательностей эпитопов может относиться к одному эпитопу или нескольким (перекрывающимся) эпитопам):

YLSGANLNLS

20 [SEQ ID NO: 26]

SWRINGIPQQ

[SEQ ID NO: 27]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 27. Другими словами, антигенный домен указанного первого компонента (К) преимущественно содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 27.

Соответственно, желательно, чтобы комплекс первого компонента (К) для применения в соответствии с настоящим изобретением содержал эпитоп СЕА. Более предпочтительно, комплекс содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 24, или её фрагмент, имеющий

длин по меньшей мере 10 аминокислот (преимущественно по меньшей мере 15 аминокислот, более предпочтительно по меньшей мере 20 аминокислот, даже более предпочтительно по меньшей мере 25 аминокислот и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 аминокислот), или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности (преимущественно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, ещё более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности). Даже более предпочтительно, комплекс первого компонента (К) содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 27. Наиболее предпочтительно, комплекс первого компонента (К) содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 25 или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности (преимущественно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, ещё более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности).

Рецептор 2 трансформирующего фактора роста бета (TGF β R2)

Рецепторы TGF β представляют собой однопроходные серин/треонинкиназные рецепторы. Они существуют в нескольких различных изоформах. TGF β R2 (UniProtKB P37137) представляет собой трансмембранный белок, который имеет домен протеинкиназы, образует гетеродимерный комплекс с другим рецепторным белком и связывает TGF-бета. Этот комплекс рецептор/лиганд фосфорилирует белки, которые затем проникают в ядро и регулируют транскрипцию подмножества генов, связанных с пролиферацией клеток.

MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSVNNDMIVTDNNGAVKFPQL
CKFCDVRFSTCDNQKSCMSNCSITSICEKRPQEVCAVWRKNDENITLETVCHDP
KLPYHDFILEDAA SPKCIMKEKKKPGETFFMCSCSSDECNDNIIFSEEYNTSNPDL
LLVIFQVTGISLLPPLGVAISVIIIIFYCYRVNRQQKLSSTWETGKTRKLMFSEHC

AIILEDSDISSTCANNINHNTPELLDTLVGKGRFAEVYKAKLKQNTSEQFE
 TVAVKIFPYEEYASWKTEKDIFSDINLKHENILQFLTAEERKTELGKQYWLITAF
 HAKGNLQEYLTRHVISWEDLRKLGSSLARGIAHLHSDHTPCGRPKMPIVHRDLK
 SSNILVKNDLTCCLCDFGLSLRLDPTLSVDDLANSQVGTARYMAPEVLESRMN
 5 LENVESFKQTDVYSMALVLWEMTSRCNAVGEVKDYEPFGSKVREHPCVESM
 KDNVLRDRGRPEIPSFVLNHQGIQMVCELTTECWDHDPEARLTAQCVAERFSE
 LEHLDRLSGRSCSEEKIPEDGSLNNTTK

[SEQ ID NO: 28]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К)
 10 первого компонента вакцины для применения в соответствии с настоящим
 изобретением содержит аминокислотную последовательность в соответствии с
 SEQ ID NO: 28 или её фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании,
 содержащую по меньшей мере один антиген для применения в антигенном домене
 данного изобретения.

15 P53

P53 (UniProtKB P04637) представляет собой белок, подавляющий опухоль,
 играющий роль в предотвращении мутации генома. P53 имеет множество
 механизмов противораковой функции и играет роль в апоптозе, стабильности
 генома и ингибировании ангиогенеза. В своей противораковой роли p53 работает
 20 через несколько механизмов: он активирует белки репарации ДНК, когда ДНК
 подвергается повреждению; он может останавливать рост, удерживая клеточный
 цикл в точке регуляции G1/S при распознавании повреждения ДНК; и он может
 инициировать апоптоз.

MEEPQSDPSVEPPLSQETFSDLWKLLPENNVLSPPLSQAMDDLMLSPDDIE
 25 QWFTEDPGPDEAPRMPEAAPPVAPAPAAPTPAAPAPAPSWPLSSSVPSQKTYQG
 SYGFRLGFLHSGTAKSVTCTYSPALNKMFCQLAKTQCPVQLWVDSTPPPGTRVR
 AMAIYKQSQHMTEVVRRCPHHERCSDSDGLAPPQHLIRVEGNLRVEYLDDRNT
 FRHSVVVPYEPPEVGSDCTTIHNYMCNSSCMGGMNRRPILTIITLEDSSGNLLG
 RNSFEVRVCACPGRRRTEENLRKKGEPHHELPPGSTKRALPNNTSSSPQPKK
 30 KPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQAGKEPGGSRAHSSHLSKSKKG
 QSTSRHKKLMFKTEGPDS

[SEQ ID NO: 29]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К)
 вакцины для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит

аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 29 или её фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании, содержащую по меньшей мере один антиген для применения в антигенном домене данного изобретения.

Kirsten Ras (KRas)

5 ГТФаза KRas, также известная как V-Ki-gas2 гомолог вирусного онкогена крысиной саркомы Кирстена и KRAS, выполняет важную функцию в передаче сигналов в нормальных тканях, а мутация гена KRAS является важным этапом в развитии многих видов рака. Как и другие члены подсемейства gas, белок KRAS представляет собой ГТФазу и является ранним участником во многих путях
10 передачи сигнала. KRAS обычно привязан к клеточным мембранам из-за присутствия изопреновой группы на его С-конце. Аминокислотная последовательность KRas показана ниже:

MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQNHFVDEYDPTIEDSYRKQVVIDGET
CLLDILDTAGQEEYSAMRDQYMRTGEGFLCVFAINNTKSFEDIHHYREQIKRVK
15 DSEDVPMVLVGNKCDLPSRTVDTKQAQDLARSYGIPFIETSAKTRQRVEDAFYT
LVREIRQYRLKKISKEEКТPGCVKIKKCIIM

[SEQ ID NO: 30]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит
20 аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 30 или её фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании.

Специалисту в данной области известно несколько эпитопов Kirsten Ras. Предпочтительный эпитоп Kirsten Ras, который преимущественно входит в состав комплекса первого компонента (К) (для применения) в соответствии с
25 настоящим изобретением, включает следующий эпитоп (последовательность эпитопа, показанная ниже, является фрагментом вышеуказанной последовательности Kirsten Ras и, таким образом, показана в приведенной выше последовательности Kirsten Ras подчеркнутой; следующая последовательность эпитопа может относиться к одному эпитопу или нескольким
30 (перекрывающимся) эпитопам):

VVVGAGGVG

[SEQ ID NO: 31]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 31.

О-связанная N-ацетилглюкозамин (GlcNAc) трансфераза (OGT)

5 OGT (О-связанная N-ацетилглюкозамин (GlcNAc) трансфераза, O-GlcNAc трансфераза, OGTase, О-связанная N-ацетилглюкозаминилтрансфераза, уридин-дифосфо-N-ацетилглюкозамин:полипептид бета-N-ацетилглюкозаминилтрансфераза, белковая О-связанная бета-N-ацетилглюкозамин-трансфераза, UniProtKB O15294) представляет собой
 10 фермент с системным названием UDP-N-ацетил-D-глюкозамин:белок-О-бета-N-ацетил-D-глюкозаминил-трансфераза) представляет собой фермент с системным названием “UDP-N-ацетил-D-глюкозамин:белок-О-бета-N-ацетил-D-глюкозаминил-трансфераза”. OGT катализирует присоединение одиночного N-ацетилглюкозамина на О-гликозидной связи к остаткам серина или треонина
 15 внутриклеточных белков. OGT является частью множества биологических функций в организме человека. OGT участвует в резистентности к инсулину в мышечных клетках и адипоцитах путем ингибирования фосфорилирования треонина 308 AKT1, увеличения скорости фосфорилирования IRS1 (по серину 307 и серину 632/635), снижения передачи сигналов инсулина и
 20 гликозилирования компонентов сигналов инсулина. Кроме того, OGT катализирует внутриклеточное гликозилирование остатков серина и треонина с добавлением N-ацетилглюкозамина. Исследования показывают, что аллели OGT жизненно важны для эмбриогенеза и что OGT необходима для внутриклеточного гликозилирования и жизнеспособности эмбриональных стволовых клеток. OGT
 25 также катализирует посттрансляционную модификацию, которая модифицирует факторы транскрипции и РНК-полимеразу II, однако специфическая функция этой модификации в основном неизвестна. Последовательность OGT показана ниже:

30 MASSVGNVADSTEPTKRMLSFQGLAELAHREYQAGDFEAAERHCMQLWR
 QEPDNTGVLLLLSSIHFCRRLDRSAHFSTLAIKQNPLLAEAYSNLGNVYKERGG
 LQEAIEHYRHALRLKPDFIDGYINLAAALVAAGDMEGAVQAYVSALQYNPDLY
 CVRSDLGNLLKALGRLEEAKACYLKAJETQPNFAVAWSNLGCVFNAQGEIWL
 IHHFEKAVTLDPNFLDAYINLGNVLKEARIFDRAVAAYLRALSLSPNHAVVHGN
 LACVYYEQGLIDLAIPTYRRRAIELQPHFPDAYCNLANALKEKGSVAEAEEDCYNT

ALRLCPHADSLNNLANIKREQGNIEEAVRLYRKALEVFPEFAAAHSNLA SVLQ
 QQGKLQEALMHYKEAIRISPTFADAYSNMGN TLKEMQDVQGALQCYTRAIQIN
 PAFADAHSNLA SIHKDSGNIPEAIA SYRTALKLKPDPF DAYCNLAHCLQIVCDWT
 DYDERMKKLV SIVADQLEKNRLPSVHPHHSMLYPLSHGFRKAIAERHGNLCLD
 5 KINVLHKPPYEHPKDLKLS DGRLRVGYVSSDFGNHPTSHLMQSIPGMHNPDKFE
 VFCYALSPDDGTNFRVKVMAE ANHFIDLSQIPCNGKAADR IHQDGIHILVNMNG
 YTKGARNELFALRPAPIQAMWLGYPGTSGALFMDYIITDQETSPA EVAEQYSEK
 LAYMPHTFFIGDHANMFPHLKKKAVIDFKSNGHIYDNRIVLNGIDLK AFLDSLDPD
 VKIVKMKCPDGGDNADSSNTALNMPVIPMNTIAEA VIEMINRGQIQITINGFSISN
 10 GLATTQINNKAATGEEVPR TIIVTTRSQYGLPEDAIVYCNFNQLYKIDPSTLQMW
 ANILKRVPNSVLWLLRFPAVGE PNIIQYYAQNMG LQPQNRIIFSPVAPKEEHVRRG
 QLADVCLDTPLCNGHTTGMDVLWAGTPMVTMPGETLASRVAASQLTCLGCLE
 LIAKNRQEYEDIAVKLGT DLEYLKKVRGKVWKQR ISSPLFNTKQYTMELERLYL
 QMWEHYAAGNKPDHMIKPVEVTESA

15 [SEQ ID NO: 32]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К)
 вакцины для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит
 аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 32 или её
 фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании, содержащую по меньше
 20 мере один антиген для применения в антигенном домене данного изобретения.

Каспаза 5 (CASP5)

Каспаза 5 (UniProtKB P51878) представляет собой фермент, который
 протеолитически расщепляет другие белки по остатку аспарагиновой кислоты и
 принадлежит к семейству цистеиновых протеаз, называемых каспазами. Это
 25 воспалительная каспаза, наряду с каспазой 1, каспазой 4 и мышинной каспазой 11
 гомолога каспазы 4, играющая роль в иммунной системе. Аминокислотная
 последовательность CASP5 показана ниже:

MAEDSGKKKRRKNFEAMFKGILQSGLDNFVINHMLKNNVAGQTSIQTLVP
 NTDQKSTSVKKNHKKKTVMLEYLKGDV LHGVFN YLAKHDVLT LKEEEKKK
 30 YYDTKIEDKALILVDSL RKNRVAHQMF TQTLLNMDQKITSVKPLLQIEAGPPES
 AESTNILKLCPREEFLRLCKKNHDEIYPIKKREDRRRLALIICNTKFDHLPARNGA
 HYDIVGMKRL LQGLGYTVVDEKNLTARDMESVLR AFAARPEHKSSDSTFLVLM
 SHGILEGICGTANHKKKPDVLLYDTIFQIFNNRNCLSLKDKPKVIIVQACRGEKH
 GELWVRDSPASLALISSQSENLEADSVCKIHEEKDFIAFCSSPHNVSWRDRTR

GSIFITELITCFQKYSCCCHLMEIFRKVQKSFEVPQAKAQMP TIERATLTRDFYLF
PGN

[SEQ ID NO: 33]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К)
5 вакцины для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит
аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 33 или её
фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании, содержащую по меньше
мере один антиген для применения в антигенном домене данного изобретения.

Антиген, ассоциированный с колоректальной опухолью, 1 (COA-1)

10 COA-1 был идентифицирован в 2003 году Maccalli и соавт. (Maccalli, C., et
al., *Identification of a colorectal tumor-associated antigen (COA-1) recognized by
CD4(+) T lymphocytes*. Cancer Res, 2003. 63(20): p. 6735-43) как сильно
экспрессируемый колоректальными и меланомными клетками (данные
отсутствуют). Его мутация может мешать дифференциальному распознаванию
15 опухолевых и нормальных клеток. Аминокислотная последовательность COA-1
(UniProtKB Q5T124) показана ниже:

MSSPLASLSKTRKVPLPSEPMNPGRRGIRIYGDEDEV DMLSDGCGSEEKISV
PSCYGGIGAPVSRQVPASHDSELMAFMTRKLDLEQQVKAQTDEILSKDQKIA
ALEDLVQTLRPHPAEATLQRQEELETMCVQLQRQVREMERFLSDYGLQWVGEF
20 MDQEDSESKTVSEHGERDWM TAKKFWKPGDSLAPPEVDFDRL LASLQDLSELV
VEGDTQVTPVPGGARLRTLEPIPLKLYRNGIMMFDGPFQPFYDPSTQRCLRDILD
GFFPSELQRLYPNGVPFKVSDLRNQVYLEDGLDPFPGEGRVVGRQLMHKALDR
VEEHPGSRMTAEKFLNRLPKFVIRQGEVIDIRGPIRDTLQNCPLPARIQEIVVET
PTLAAERERSQESPNT PAPP L SMLRIKSENGEQAFLLMMQPDNTIGDVRALLAQ
25 ARVMDASAFEIFSTFPPTLYQDDTLTLQAAGLVPKAALLRARRAPKSSLKFSPG
PCPGPGPGSPGPGPGSPGPGPGSPCPGPGSPSPQ

[SEQ ID NO: 34]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К)
30 вакцины для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит
аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 34 или её
фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании, содержащую по меньше
мере один антиген для применения в антигенном домене данного изобретения.

Антиген плоскоклеточной карциномы, распознаваемый Т-клетками (SART)

В семействе SART наиболее предпочтительны SART-3/SART1-3. Таким образом, комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением преимущественно включает антиген семейства SART (антиген «SART») или его эпитоп; комплекс для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит SART-3 или его эпитоп. Антиген плоскоклеточной карциномы, распознаваемый Т-клетками 3, обладает опухолевыми эпитопами, способными индуцировать HLA-A24-рестриктированные и опухолеспецифические цитотоксические Т-лимфоциты у больных раком. Считается, что SART-3 участвует в регуляции сплайсинга мРНК.

IL13Ральфа2

IL13Ральфа2 связывает интерлейкин 13 (IL-13) с очень высокой аффинностью (и, следовательно, может изолировать его), но не позволяет связываться с IL-4. Он действует как негативный регулятор как IL-13, так и IL-4, однако механизм этого до сих пор не установлен. Аминокислотная последовательность IL13Ральфа2 показана ниже:

MAFVCLAIGCLYTFLLISTTFGCTSSSDTEIKVNPPQDFEIVDPGYLGYLQ
 WQPPLSLDHFKECTVEYELKYRNIGSETWKTITKNLHYKDGFDLNKGIEAKIHT
 LLPWQCTNGSEVQSSWAETTYWISPQGIPETKVQDMDCVYYNWQYLLCSWKP
 GIGVLLDTNYNLFYWYEGLDHALQCVDYIKADGQNIGCRFPYLEASDYKDFYIC
 VNGSSENKPIRSSYFTFQLQNIVKPLPPVYLTFRESSCEIKLKWSIPLGPIPARCF
 DYEIEIREDDTTLVTATVENETYTLKTTNETRQLCFVVRSKVNIYCSDDGIWSEW
 SDKQCWEGEDLSKKTLLRFWLPFGFILILVIFVTG LLLRKPNTYPKMIPFEFFCDT

[SEQ ID NO: 35]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) вакцины для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 35 или её фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании, содержащую по меньшей мере один антиген для применения в антигенном домене данного изобретения.

Специалисту в данной области известно несколько эпитопов IL13Ральфа2. Предпочтительный эпитоп IL13Ральфа2, который преимущественно входит в состав комплекса первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением, включает следующий эпитоп (последовательность эпитопа, показанная ниже, является фрагментом вышеуказанной последовательности IL13Ральфа2 и, таким образом, показана в приведенной

выше последовательности IL13Ральфа2 подчеркнутой; следующая последовательность эпитопа может относиться к одному эпитопу или нескольким (перекрывающимся) эпитопам):

LPFGFIL

5 [SEQ ID NO: 36]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 36.

KOC1

10 KOC1 (UniProtKB O00425), также известный как мРНК-связывающий белок 3 инсулиноподобного фактора роста 2 (IGF2BP3), IMP3, KOC1, VICKZ3 представляет собой мРНК-связывающий белок. Однако отсутствуют данные об экспрессии, последовательность которой показана ниже:

MNKLYIGNLSENAAPSDLESIFKDAKIPVSGPFLVKTGYAFVDCPDESWAL
 15 KAIEALSGKIELHGKPIEVEHSVPKRQRIRKLQIRNIPPHLQWEVLDSELLVQYGV
 VESCEQVNTDSETAVNVNTYSSKDQARQALDKLNGFQLENFTLKVAYIPDEMA
 AQQNPLQQPRGRRGLGQRGSSRQGSPGSVSKQKPCDLPLRLLVPTQFVGAIGK
 EGATIRNITKQTQSKIDVHRKENAGAAEKSITILSTPEGTSAACKSILEIMHKEAQ
 DIKFTEEIPLKILAHNNFVGRLLIGKEGRNLKKIEQDTDTKITISPLQELTYNPERTI
 20 TVKGNVETCAKAEEMKKIRESYENDIASMNLQAHLPGLNLNALGLFPPTSG
 MPPPTSGPPSAMTPPYQFEQSETETVHLFIPALSVGAIGKQGQHIKQLSRFAGA
 SIKIAPAEAPDAKVRMVIITGPPEAQFKAQGRIYGKIKEENFVSPKEEVKLEAHIR
 VPSFAAGRVIKGGKTVNELQNLSSAEVVVPRDQTPDENDQVVVKITGHFYAC
 QVAQRKIQEILTQVKQHQQKALQSGPPQSRRK

25 [SEQ ID NO: 37]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) вакцины для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 37 или её фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании, содержащую по меньше
 30 мере один антиген для применения в антигенном домене данного изобретения.

TOMM34

TOMM34 (UniProtKB Q15785) участвует в импорте предшественников белков в митохондрии. Специалистам в данной области известны многие их

эпитопы, которые могут быть выбраны из аминокислотной последовательности, показанной ниже:

MAPKFPDSVEELRAAGNESFRNGQYAEASALYGRALRVLQAQGSSDPEEE
 SVLYSNRAACHLKDGNCRDCIKDCTSALALVPFSIKPLLRRASAYEAELEKYPMA
 5 YVDYKTVLQIDDNVTSAVEGINRMTRALMDSLGP EWRLKLP SIPLVPVSAQKR
 WNSLPS ENHKEMAKSKSKETTATKNRVPSAGDVEKARVLKEEGNELVKKGNH
 KKAIEKYSESLCSNLESATYSNRALCYLVLKQYTEAVKDCTEALKLDGKNVK
 AFYRRAQANKALKDYKSSFADISNLLQIEPRNGPAQKLRQEVKQNLH

[SEQ ID NO: 38]

10 Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) вакцины для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 38 или её фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании, содержащую по меньшей мере один антиген для применения в антигенном домене данного изобретения.

15 RNF 43

RNF43 (UniProtKB Q68DV7) представляет собой убиквитинлигазу RING-типа E3 и, как предполагается, содержит трансмембранный домен, домен, ассоциированный с протеазой, эктодомен и цитоплазматический домен RING. Считается, что RNF43 отрицательно регулирует передачу сигналов Wnt, а
 20 экспрессия RNF43 приводит к увеличению убиквитинирования рецепторов frizzled, изменению их внутриклеточного распределения, что приводит к снижению поверхностных уровней этих рецепторов. Специалисту в данной области известны многие его эпитопы, причем аминокислотная последовательность RNF43 показана ниже:

25 MSGGHQLQLAALWPWLLMATLQAGFGRTGLVLA AAVESERSAEQKAIIR
 VIPLKMDPTGKLNLTLEGVFAGVAEITPAEGKLMQSHPLYLCNASDDDNLEPGF
 ISIVKLESPRRAPRCLSLASKARMAGERGASAVLFDITEDRAAAEQ LQQPLGLT
 WPVVLIWGNDAEKLMEFVYKNQKAHVRIELKEPPAWPDYDVWILMTVVG TIF
 VIILASVLRIRCRPRHSRPDPLQQR TAWAISQLATRRYQASCRQARGEWPDSGSS
 30 CSSAPVCAICLEEFSEGQELRVISCLHEFHRNCVDPWLHQHRTCPLCMFNITEGD
 SFSQSLGPSRSYQEPGRRLHLIRQHPGHAHYHLPAAYLLGPSRSAVARPPRPGPF
 LPSQEPGMGPRHHRFPRAAHPRAPGEQQRLAGA QHPYAQGWGLSHLQSTSQHP
 AACPVPLRRARPPDSSSGSGESYCTERSGYLADGPASDSSSGPCHGSSSDSVNCT
 DISLQGVHGSSTFCSSLSSDFDPLVYCSPKGD PQRVDMQPSVTSRPRSLDSVVP

TGETQVSSHVHYHRHRHHNYKKRFQWHGRKPGPETGVPQSRPPIPRRTQPQPEPP
 SPDQQVTRSNSAAPSGRLSNPQCPRALPEPAPGPVDASSICPSTSSSLFNLQKSSLS
 ARHPQRKRRGGPSEPTPGSRPQDATVHPACQIFPHYTPSVAYPWSPEAHPLICGP
 PGLDKRLLPETPGPCYSNSQPVWLCLTPRQPLEPHPPGEGPSEWSSDTAEGRPCP
 5 YPHCQVLSAQPGSEEELEELCEQAV

[SEQ ID NO: 39]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К)
 вакцины для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит
 аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 39 или её
 10 фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании, содержащую по меньше
 мере один антиген для применения в антигенном домене данного изобретения.

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF)/ Рецептор сосудистого
 эндотелиального фактора роста (VEGFR)

Сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF, UniProtKB P15692),
 15 первоначально известный как фактор проницаемости сосудов (VPF),
 представляет собой сигнальный белок, продуцируемый клетками, который
 стимулирует васкулогенез и ангиогенез. Это часть системы, которая
 восстанавливает снабжение тканей кислородом при недостаточном
 кровообращении. Нормальная функция VEGF заключается в создании новых
 20 кровеносных сосудов во время эмбрионального развития, новых кровеносных
 сосудов после травмы, мышц после тренировки и новых сосудов
 (коллатеральное кровообращение) в обход закупоренных сосудов. Существует
 три основных подтипа рецепторов для VEGF (VEGFR), а именно VEGFR1
 (UniProtKB P17948), VEGFR2 (UniProtKB P35968) и VEGFR3 (UniProtKB
 25 P35916). Последовательности VEGF, VEGFR1, VEGFR2 и VEGFR3 включены в
 настоящий документ посредством ссылки.

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К)
 вакцины для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит
 аминокислотную последовательность в соответствии с UniProtKB P17948,
 30 UniProtKB P35968) и VEGFR3 (UniProtKB P35916) или фрагмент этих
 последовательностей или вариант этих последовательностей, содержащие по
 меньше мере один антиген для применения в антигенном домене данного
 изобретения.

Бета-субединица хорионического гонадотропина человека (β ХГЧ)

Хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) представляет собой гормон, вырабатываемый эмбрионом после имплантации. Некоторые раковые опухоли производят этот гормон; поэтому повышенные уровни, измеренные, когда пациентка не беременна, могут привести к диагностике рака. ХГЧ является гетеродимером с субъединицей α (альфа), идентичной субъединице лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), тиреостимулирующего гормона (ТТГ), и субъединицей β (бета), уникальной для ХГЧ. Бета-субъединица гонадотропина ХГЧ (бета-ХГЧ) содержит 145 аминокислот и кодируется шестью высоко гомологичными генами.

ЕрСАМ

ЕрСАМ (UniProtKB P16422) представляет собой гликопротеин, опосредующий клеточную адгезию. Аминокислотная последовательность ЕрСАМ следует ниже:

MAPPQVLAFLGLLAAATATFAAAQEECVCENYKLAVNCFVNNNRQCQCT
 SVGAQNTVICKLA AKCLVMKAEMNGSKLGRRAKPEGALQNNNDGLYDPDCDE
 SGLFKAKQCNGTSMCWCVNTAGVRRTDKDTEITCSERVRTYWIHELKHKAREK
 PYDSKSLRTALQKEITTRYQLDPKFITSILYENNVITIDL VQNSSQKTQNDVDIAD
 VAYYFEKDVKGESLFHKKMDLTVNGEQLDLDPGQTLIYYVDEKAPFSMQGL
KAGVIAVIVVVVIAVVAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHRELNA

[SEQ ID NO: 40]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 40 или её фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании.

Специалисту в данной области известно несколько эпитопов ЕрСАМ. Предпочтительный эпитоп ЕрСАМ, который преимущественно входит в состав комплекса первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением, включает следующий эпитоп (последовательность эпитопа, показанная ниже, является фрагментом вышеуказанной последовательности ЕрСАМ и, таким образом, показана в приведенной выше последовательности ЕрСАМ подчеркнутой; следующая последовательность эпитопа может относиться к одному эпитопу или нескольким (перекрывающимся) эпитопам):

GLKAGVIAV

[SEQ ID NO: 41]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 41 или её фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании.

HER-2/neu

Her-2 принадлежит к семейству EGFR (рецептор эпидермального фактора роста). Специалистам известно много эпитопов HLA-A. Аминокислотная последовательность HER2 показана ниже:

10 MELAALCRWGLLLALLPPGAASTQVCTGTDMLRLPASPETHLDMLRHL
 YQGCQVVQGNLELTYLPTNASLSFLQDIQEVQGYVLIHNVQRVPLQRLRIVR
 GTQLFEDNYALAVLDNGDPLNNTTPVTGASPGGLRELQLRSLTEILKGGVLIQR
 NPQLCYQDTILWKDIFHKNNQLALTLIDTNRSRACHPCSPMCKGSRCWGESSED
 CQSLTRTVCAAGGCARCKGPLPTDCCHEQCAAGCTGPKHSDCLACLFNHSGICE
 15 LHCPALVTYNTDTFESMPNPEGRYTFGASCVTACPYNYLSTDVGSCTLVCPLHN
 QEVTAEDGTQRCEKCSKPCARVCYGLGMEHLREVRAVTSANIQEFAGCKKIFG
 SLAFLPESFDGDPASNTAPLQPEQLQVFETLEEITGYLYISAWPDSLPLDSVFQNL
 QVIRGRILHNGAYSRTLQGLGISWLGLRSLRELGSGLALIHNTHLCFVHTVPW
 DQLFRNPHQALLHTANRPEDECVGEGLACHQLCARGHCWGPGPQTQCVNCSQFL
 20 RGQECVEECRVLQGLPREYVNARHCLPCHPECQPQNGSVTCFGPEADQCVACA
 HYKDPPFCVARCPSGVKPDLSYMPIWKFPDEEGACQPCPINCTHSCVDLDDKGC
 PAEQRASPLTSIISAVVGILLVVVLGVVFGILIKRRQKIRKYTMRLLQETELVE
 PLTPSGAMPNQAQMILKETELRKVKVLGSGAFGTVYKGIWIPDGENVKIPVAI
 KVLRENTSPKANKEILDEAYVMAGVGSFYVSRLLGICLTSTVQLVTQLMPYGCL
 25 LDHVRENRGRLGSQDLLNWCMIKAGMSYLEDVRLVHRDLAARNVLVKSPNH
 VKITDFGLARLLDIDETEHADGGKVPIKWMALLESILRRRFTHQSDVWSYGVTV
 WELMTFGAKPYDGIPAREIPDLLEKGERLPQPPICTIDVYMIMVKCWMIDSECRP
 RFRELVSEFSRMARDPQRFVVIQNEGLGPASPLDSTFYRSLEDDDMGDLVDAE
 EYLVPQQGFFCPDPAPGAGGMVHHRHRSSTRSGGGDLTLGLEPSEEEAPRSPL
 30 APSEGAGSDVFDGDLGMGAAKGLQSLPTHDPSPQLQRYSEDPTVPLPSETDGYVA
 PLTCSPQPEYVNQPDVRPQPSPREGPLPAARPAGATLERPKTLSPGKNGVVKD
 VFAFGGAVENPEYLTPQGGAAPQPHPPPAFSPAFDNLYYWDQDPPERGAPPSTF
 KGTPTAENPEYLGLDVPV

[SEQ ID NO: 42]

Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 42 или её фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании. Как описано выше, 5 подходящие раковые/опухолевые эпитопы Her-2 известны из литературы или могут быть идентифицированы с использованием баз данных раковых/опухолевых эпитопов, например, из van der Bruggen P, Stroobant V, Vigneron N, Van den Eynde B. Peptide database: T cell-defined tumor antigens. *Cancer Immun* 2013; URL: www.cancerimmunity.org/peptide/, где опухолевые 10 антигены человека, распознаваемые CD4⁺ или CD8⁺ Т-лимфоцитами, классифицируются на четыре основные группы на основе их паттерна экспрессии или из базы данных «Тантиген» (TANTIGEN версия 1.0, 1 дек. 2009; разработано Bioinformatics Core в Cancer Vaccine Center, Dana-Farber Cancer Institute; URL: cvc.dfci.harvard.edu/tadb/).

15 WT1

Фактор транскрипции WT1 (белок опухоли Вильмса, UniProtKB P19544), играющий важную роль в клеточном развитии и выживании клеток. Ген, кодирующий WT1, характеризуется сложной структурой, расположен на хромосоме 11. Он участвует в росте и дифференцировке клеток, оказывает 20 сильное влияние на последовательные стадии функционирования организма. Ген WT1 может, например, подвергаться многим различным мутациям, а также может быть сверхэкспрессирован без мутации. Молекулярную основу таких заболеваний, как опухоль Вильмса, составляют врожденные мутации WT1, тогда как соматические мутации этого гена встречаются при остром и хроническом 25 миелоидном лейкозе, миелодиспластическом синдроме, а также при некоторых других неоплазиях крови, таких как острый лимфолейкоз крови. Повышенная экспрессия этого гена без его мутации наблюдается при лейкозах и солидных опухолях. Аминокислотная последовательность WT 1 показана ниже:

30 MGSDVRDLNALLPAVPSLGGGGGCALPVSGAAQWAPVLDFAPPGASAYG
 SLGGPAPPAPPPPPPPHFSFIKQEPSWGAEPHEEQCLSAFTVHFSGQFTGTAG
 ACRYGPFGPPPPSQASSGQARMFPNAPYLPSCLESPAIRNQGYSTVTFDGTPSY
 GHTPSHHAAQFPNHSFKHEDPMGQQGSLGEQQYSVPPPVYGCHTPTDSCTGSQ
 ALLLRTPYSSDNLYQMTSQLECMQTNQMNLGATLKGVAAGSSSSVVKWTEGQS
 NHSTGYESDNHTTPILCGAQYRIHTHG VFRGIQDVRRVPGVAPTLVRSASETSEK

RPFMCAYPGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTGKPYQCDFKDCERRFSRSDQLKRH
 QRRHTGVKPFQCKTCQRKFSRSDHLKTHTRTHTGKTSEKPFSCRWPSCQKKFAR
 SDELVRHHNMHQRNMTKLQLAL

[SEQ ID NO:43]

- 5 Соответственно, предпочтительный комплекс первого компонента (К) вакцины для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 43 или её фрагмент или вариант, как раскрыто в данном описании, содержащую по меньшей мере один антиген для применения в антигенном домене данного изобретения.
- 10 Преимущественно, комплекс первого компонента (К) в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере один опухолевый эпитоп, который представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: EpCAM, HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивин, CEA, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART и
- 15 IL13Ральфа2. Более предпочтительно, комплекс для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере один опухолевый эпитоп, который представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: ASCL2, EpCAM, HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивин, CEA, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART и
- 20 IL13Ральфа2. Эти антигены особенно полезны в отношении колоректального рака. Также желательно, чтобы комплекс для применения в соответствии с настоящим изобретением содержал по меньшей мере один опухолевый антиген, выбранный из группы, состоящей из таких как: EpCAM, HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивин, CEA, TGF β R2, p53, KRas,
- 25 OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART и IL13Ральфа2, или его фрагмент, или вариант последовательности опухолевого антигена или вариант последовательности его фрагмента. Также желательно, чтобы комплекс для применения в соответствии с настоящим изобретением содержал по меньшей мере один опухолевый антиген, выбранный из группы, состоящей из таких как:
- 30 ASCL2, EpCAM, HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивин, CEA, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART и IL13Ральфа2, или его фрагмент, или вариант последовательности опухолевого антигена или вариант последовательности его фрагмента.

Преимущественно, комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере один опухолевый эпитоп, который представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: EpCAM, MUC-1, сурвивин, CEA, KRas, MAGE-A3 и IL13Ральфа2, такой как эпитоп в соответствии с любой из SEQ ID NO 48, 50, 51, 22, 26, 27, 31, 44 и 36; преимущественно, комплекс для применения в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере один опухолевый эпитоп, который представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: EpCAM, MUC-1, сурвивин, CEA, KRas, MAGE-A3, IL13Ральфа2 и ASCL2, такой как эпитоп в соответствии с любой из SEQ ID NO 41, 20, 21, 22, 26, 27, 31, 44, 36, 16 и 17; более предпочтительно по меньшей мере один опухолевый эпитоп представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: EpCAM, MUC-1, сурвивин, CEA, KRas и MAGE-A3, такой как эпитоп в соответствии с любой из SEQ ID NO 48, 20, 21, 22, 26, 27, 31 и 44; более предпочтительно по меньшей мере один опухолевый эпитоп представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: EpCAM, MUC-1, сурвивин, CEA, KRas, MAGE-A3 и ASCL2, такой как эпитоп в соответствии с любой из SEQ ID NO 41, 20, 21, 22, 26, 27, 31, 44, 16 и 17; даже более предпочтительно по меньшей мере один опухолевый эпитоп представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: EpCAM, MUC-1, сурвивин и CEA, такой как эпитоп в соответствии с любой из SEQ ID NO 41, 20, 21, 23, 26 и 27; даже более предпочтительно по меньшей мере один опухолевый эпитоп представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: EpCAM, MUC-1, сурвивин, CEA и ASCL2, такой как эпитоп в соответствии с любой из SEQ ID NOs 41, 20, 21, 22, 26, 27, 16 и 17; и наиболее предпочтительно по меньшей мере один опухолевый эпитоп представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: EpCAM, сурвивин, CEA и ASCL2, такой как эпитоп в соответствии с любой из SEQ ID NOs 41, 22, 26, 27, 16 и 16.

В предпочтительном варианте осуществления, по меньшей мере один опухолевый эпитоп антигенного домена комплекса первого компонента (К) вакцины в соответствии с данным изобретением, как описано выше, представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: MAGE-A3, MUC-1, PRAME, ASCL2 и NY-ESO-1, преимущественно по

меньшей мере один опухолевый эпитоп антигенного домена вакцины в соответствии с данным изобретением, как описано выше, представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: MAGE-A3, MUC-1, PRAME, ASCL2, преимущественно по меньшей мере один опухолевый эпитоп антигенного домена вакцины в соответствии с данным изобретением, как описано выше, представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: MAGE-A3, MUC-1, PRAME, преимущественно по меньшей мере один опухолевый эпитоп антигенного домена вакцины в соответствии с данным изобретением, как описано выше, представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: MAGE-A3, MUC-1, ASCL2, преимущественно по меньшей мере один опухолевый эпитоп антигенного домена вакцины в соответствии с данным изобретением, как описано выше, представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: MAGE-A3, ASCL2, PRAME, преимущественно по меньшей мере один опухолевый эпитоп антигенного домена вакцины в соответствии с данным изобретением, как описано выше, представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: MAGE-A3, MUC-1, NY-ESO-1, преимущественно по меньшей мере один опухолевый эпитоп антигенного домена вакцины в соответствии с данным изобретением, как описано выше, представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: MAGE-A3, ASCL2, NY-ESO-1. В одном варианте осуществления более предпочтительно антигенный домен вакцины по данному изобретению содержит по меньшей мере один эпитоп антигена MAGE-A3 или ASCL2 или MUC1 или PRAME или NY-ESO-1.

Преимущественно, антигенный домен вакцины в соответствии с данным изобретением преимущественно содержит

- a) один или несколько эпитопов EpCAM или их вариантов функциональной последовательности;
- b) один или несколько эпитопов MUC-1 или их вариантов функциональной последовательности;
- c) один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности;
- d) один или несколько эпитопов CEA или их вариантов функциональной последовательности;

е) один или несколько эпитопов KRas или их вариантов функциональной последовательности; и/или

ф) один или несколько эпитопов MAGE-A3 или их вариантов функциональной последовательности;

5 г) один или несколько эпитопов ASCL2 или их вариантов функциональной последовательности.

Также желательно, чтобы комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержал

10 и) один или несколько эпитопов EpCAM (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 41) или их вариантов функциональной последовательности;

ii) один или несколько эпитопов MUC-1 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 20 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 21) или их вариантов функциональной последовательности;

15 iii) один или несколько эпитопов сурвивина (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 22) или их вариантов функциональной последовательности;

20 iv) один или несколько эпитопов CEA (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности;

v) один или несколько эпитопов KRas (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 31) или их вариантов функциональной последовательности; и/или

25 vi) один или несколько эпитопов MAGE-A3 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 44) или их вариантов функциональной последовательности.

Также желательно, чтобы комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержал

30 и) один или несколько эпитопов EpCAM (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 41) или их вариантов функциональной последовательности;

ii) один или несколько эпитопов MUC-1 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 20 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 21) или их вариантов функциональной последовательности;

iii) один или несколько эпитопов сурвивина (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 22) или их вариантов функциональной последовательности;

5 iv) один или несколько эпитопов CEA (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности;

v) один или несколько эпитопов KRas (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 31) или их вариантов функциональной последовательности;

10 vi) один или несколько эпитопов MAGE-A3 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 44) или их вариантов функциональной последовательности; и/или

vii) один или несколько эпитопов ASCL2 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 16 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 17) или их вариантов функциональной последовательности.

15 Также желательно, чтобы комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержал

— фрагмент EpCAM, содержащий один или несколько эпитопов или вариантов его функциональной последовательности;

20 — фрагмент MUC-1, содержащий один или несколько эпитопов или вариантов его функциональной последовательности;

— фрагмент сурвивина, содержащий один или несколько эпитопов или вариантов его функциональной последовательности;

— фрагмент CEA, содержащий один или несколько эпитопов или вариантов его функциональной последовательности;

25 — фрагмент KRas, содержащий один или несколько эпитопов или вариантов его функциональной последовательности; и/или

— фрагмент MAGE-A3, содержащий один или несколько эпитопов или вариантов его функциональной последовательности.

30 Также желательно, чтобы комплекс первого компонента (К) (для применения) в соответствии с настоящим изобретением содержал

— фрагмент EpCAM, содержащий один или несколько эпитопов или вариантов его функциональной последовательности;

— фрагмент MUC-1, содержащий один или несколько эпитопов или вариантов его функциональной последовательности;

— фрагмент сурвивина, содержащий один или несколько эпитопов или вариантов его функциональной последовательности;

5 — фрагмент CEA, содержащий один или несколько эпитопов или вариантов его функциональной последовательности;

— фрагмент KRas, содержащий один или несколько эпитопов или вариантов его функциональной последовательности;

10 — фрагмент MAGE-A3, содержащий один или несколько эпитопов или вариантов его функциональной последовательности; и/или

— фрагмент ASCL2, содержащий один или несколько эпитопов или вариантов его функциональной последовательности.

Как использовано в данном описании, „фрагмент“ антигена содержит по меньшей мере 10 последовательных аминокислот антигена, преимущественно по
 15 меньшей мере 15 последовательных аминокислот антигена, более предпочтительно по меньшей мере 20 последовательных аминокислот антигена, даже более предпочтительно по меньшей мере 25 последовательных аминокислот антигена и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 последовательных аминокислот антигена. Соответственно, фрагмент EpCAM
 20 содержит по меньшей мере 10 последовательных аминокислот EpCAM (SEQ ID NO: 40), преимущественно по меньшей мере 15 последовательных аминокислот EpCAM (SEQ ID NO: 40), более предпочтительно по меньшей мере 20 последовательных аминокислот EpCAM (SEQ ID NO: 40), даже более предпочтительно по меньшей мере 25 последовательных аминокислот EpCAM
 25 (SEQ ID NO: 40) и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 последовательных аминокислот EpCAM (SEQ ID NO: 40); фрагмент MUC-1 содержит по меньшей мере 10 последовательных аминокислот MUC-1 (SEQ ID NO: 19), преимущественно по меньшей мере 15 последовательных аминокислот MUC-1 (SEQ ID NO: 19), более предпочтительно по меньшей мере 20
 30 последовательных аминокислот MUC-1 (SEQ ID NO: 19), даже более предпочтительно по меньшей мере 25 последовательных аминокислот MUC-1 (SEQ ID NO: 19) и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 последовательных аминокислот MUC-1 (SEQ ID NO: 19); фрагмент сурвивина

содержит по меньшей мере 10 последовательных аминокислот сурвивина (SEQ ID NO: 12), преимущественно по меньшей мере 15 последовательных аминокислот сурвивина (SEQ ID NO: 12), более предпочтительно по меньшей мере 20 последовательных аминокислот сурвивина (SEQ ID NO: 12), даже более предпочтительно по меньшей мере 25 последовательных аминокислот сурвивина (SEQ ID NO: 12) и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 последовательных аминокислот сурвивина (SEQ ID NO: 12); фрагмент CEA содержит по меньшей мере 10 последовательных аминокислот CEA (SEQ ID NO: 24), преимущественно по меньшей мере 15 последовательных аминокислот CEA (SEQ ID NO: 24), более предпочтительно по меньшей мере 20 последовательных аминокислот CEA (SEQ ID NO: 24), даже более предпочтительно по меньшей мере 25 последовательных аминокислот CEA (SEQ ID NO: 24) и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 последовательных аминокислот CEA (SEQ ID NO: 24); фрагмент KRas содержит по меньшей мере 10 последовательных аминокислот KRas (SEQ ID NO: 30), преимущественно по меньшей мере 15 последовательных аминокислот KRas (SEQ ID NO: 30), более предпочтительно по меньшей мере 20 последовательных аминокислот KRas (SEQ ID NO: 30), даже более предпочтительно по меньшей мере 25 последовательных аминокислот KRas (SEQ ID NO: 30) и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 последовательных аминокислот KRas (SEQ ID NO: 30); и фрагмент MAGE-A3 содержит по меньшей мере 10 последовательных аминокислот MAGE-A3 (SEQ ID NO: 10), преимущественно по меньшей мере 15 последовательных аминокислот MAGE-A3 (SEQ ID NO: 10), более предпочтительно по меньшей мере 20 последовательных аминокислот MAGE-A3 (SEQ ID NO: 10), даже более предпочтительно по меньшей мере 25 последовательных аминокислот MAGE-A3 (SEQ ID NO: 10) и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 последовательных аминокислот MAGE-A3 (SEQ ID NO: 10). Кроме того, фрагмент ASCL2 содержит по меньшей мере 10 последовательных аминокислот ASCL2 (SEQ ID NO: 15), преимущественно по меньшей мере 15 последовательных аминокислот ASCL2 (SEQ ID NO: 15), более предпочтительно по меньшей мере 20 последовательных аминокислот ASCL2 (SEQ ID NO: 15), даже более предпочтительно по меньшей мере 25 последовательных аминокислот ASCL2 (SEQ ID NO: 15) и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 последовательных аминокислот ASCL2 (SEQ ID NO: 15).

Вариант функциональной последовательности такого фрагмента имеет (аминокислотную) последовательность, которая на по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, преимущественно по меньшей мере 80%, более предпочтительно по меньшей мере 85%, даже более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентична эталонной последовательности, и сохраняется функция эпитопа по меньшей мере одного, преимущественно всех, эпитопа(ов), входящего(их) в состав фрагмента.

Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, SART или IL13Ральфа2. Более предпочтительно, такой комплекс не содержит какого-либо эпитопа ASCL2, HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, SART или IL13Ральфа2.

Также желательно, чтобы такой комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержал

viii) один или несколько эпитопов ЕpСАМ (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 41) или их вариантов функциональной последовательности;

ix) один или несколько эпитопов MUC-1 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 20 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 21) или их вариантов функциональной последовательности;

x) один или несколько эпитопов СЕА (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности; и

xi) один или несколько эпитопов MAGE-A3 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 44) или их вариантов функциональной последовательности.

Другими словами, антигенный домен указанного первого компонента (К) преимущественно содержит

a) один или несколько эпитопов ЕpСАМ или их вариантов функциональной последовательности;

b) один или несколько эпитопов MUC-1 или их вариантов функциональной последовательности;

d) один или несколько эпитопов CEA или их вариантов функциональной последовательности; и

f) один или несколько эпитопов MAGE-A3 или их вариантов функциональной последовательности.

5 Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, SART или IL13Ральфа2. Более предпочтительно, такой комплекс не содержит какого-либо эпитопа ASCL2, HER-2, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1,
10 SART или IL13Ральфа2.

Также желательно, чтобы такой комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержал

xii) один или несколько эпитопов EpCAM (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 41) или их вариантов функциональной
15 последовательности;

xiii) один или несколько эпитопов MUC-1 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 20 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 21) или их вариантов функциональной последовательности;

xiv) один или несколько эпитопов CEA (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности; и
20

xv) один или несколько эпитопов KRas (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 31) или их вариантов функциональной последовательности.

Другими словами, антигенный домен указанного первого компонента (К)
25 преимущественно содержит

a) один или несколько эпитопов EpCAM или их вариантов функциональной последовательности;

b) один или несколько эпитопов MUC-1 или их вариантов функциональной последовательности;

30 d) один или несколько эпитопов CEA или их вариантов функциональной последовательности; и

e) один или несколько эпитопов KRas или их вариантов функциональной последовательности.

Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, TGF β R2, p53, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2. Более предпочтительно, такой комплекс не содержит какого-либо эпитопа ASCL2, HER-2, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, TGF β R2, p53, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

Также желательно, чтобы такой комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержал

xvi) один или несколько эпитопов ЕpСАМ (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 41) или их вариантов функциональной последовательности;

xvii) один или несколько эпитопов сурвивина (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 22) или их вариантов функциональной последовательности;

xviii) один или несколько эпитопов СЕА (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности; и

xix) один или несколько эпитопов MAGE-A3 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 44) или их вариантов функциональной последовательности.

Другими словами, антигенный домен указанного первого компонента (К) преимущественно содержит

a) один или несколько эпитопов ЕpСАМ или их вариантов функциональной последовательности;

c) один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности;

d) один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности; и

f) один или несколько эпитопов MAGE-A3 или их вариантов функциональной последовательности.

Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, SART или IL13Ральфа2. Более предпочтительно, такой комплекс не содержит какого-либо эпитопа ASCL2, HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43,

KOC1, VEGFR, β hCG, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, SART или IL13Ральфа2.

В некоторых вариантах осуществления антигенный домен указанного первого компонента (К) преимущественно содержит

5 а) один или несколько эпитопов ЕpСAM или их вариантов функциональной последовательности;

d) один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности; и

10 f) один или несколько эпитопов MAGE-A3 или их вариантов функциональной последовательности.

Также желательно, чтобы такой комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержал

15 xx) один или несколько эпитопов MUC-1 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 20 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 21) или их вариантов функциональной последовательности;

xxi) один или несколько эпитопов сурвивина (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 22) или их вариантов функциональной последовательности; и

20 xxii) один или несколько эпитопов MAGE-A3 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 44) или их вариантов функциональной последовательности.

Другими словами, антигенный домен указанного первого компонента (К) преимущественно содержит

25 b) один или несколько эпитопов MUC-1 или их вариантов функциональной последовательности;

c) один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности; и/или

f) один или несколько эпитопов MAGE-A3 или их вариантов функциональной последовательности.

30 Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа ЕpСAM, HER-2, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, СЕА, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, SART или IL13Ральфа2. Более предпочтительно, такой комплекс не содержит какого-либо эпитопа ASCL2, ЕpСAM, HER-2,

TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, CEA, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, SART или IL13Ральфа2.

Более предпочтительно, такой комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержит

5 xxiii) один или несколько эпитопов ЕрСАМ (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 41) или их вариантов функциональной последовательности;

10 xxiv) один или несколько эпитопов MUC-1 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 20 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 21) или их вариантов функциональной последовательности;

 xxv) один или несколько эпитопов сурвивина (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 22) или их вариантов функциональной последовательности; и/или

15 xxvi) один или несколько эпитопов CEA (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности.

Другими словами, антигенный домен указанного первого компонента (К) преимущественно содержит

20 a) один или несколько эпитопов ЕрСАМ или их вариантов функциональной последовательности;

 b) один или несколько эпитопов MUC-1 или их вариантов функциональной последовательности;

 c) один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности; и/или

25 d) один или несколько эпитопов CEA или их вариантов функциональной последовательности.

30 Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2. Более предпочтительно, такой комплекс не содержит какого-либо эпитопа ASCL2, HER-2, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

Более предпочтительно, такой комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержит

xxvii) один или несколько эпитопов EpCAM (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 41) или их вариантов функциональной последовательности;

5 xxviii) один или несколько эпитопов MUC-1 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 20 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 21) или их вариантов функциональной последовательности;

xxix) один или несколько эпитопов сурвивина (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 22) или их вариантов функциональной последовательности;

10 xxx) один или несколько эпитопов ASCL2 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 16 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 17) или их вариантов функциональной последовательности; и/или

15 xxxi) один или несколько эпитопов CEA (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности.

Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

20 Более предпочтительно, такой комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержит

xxxii) один или несколько эпитопов EpCAM (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 41) или их вариантов функциональной последовательности;

25 xxxiii) один или несколько эпитопов сурвивина (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 22) или их вариантов функциональной последовательности;

xxxiv) один или несколько эпитопов ASCL2 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 16 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 17) или их вариантов функциональной последовательности; и/или

30 xxxv) один или несколько эпитопов CEA (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности.

Другими словами, антигенный домен указанного первого компонента (К) преимущественно содержит

a) один или несколько эпитопов EpCAM или их вариантов функциональной последовательности;

c) один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности;

5 d) один или несколько эпитопов CEA или их вариантов функциональной последовательности; и/или

g) один или несколько эпитопов ASCL2 или их вариантов функциональной последовательности.

10 Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

Особенно предпочтительно, такой комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержит

15 xxxvi) один или несколько эпитопов EpCAM (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 41) или их вариантов функциональной последовательности;

xxxvii) один или несколько эпитопов MUC-1 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 20 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 21) или их вариантов функциональной последовательности;

20 xxxviii) один или несколько эпитопов сурвивина (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 22) или их вариантов функциональной последовательности; и

25 xxxix) один или несколько эпитопов CEA (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности.

30 Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2. Более предпочтительно, такой комплекс не содержит какого-либо эпитопа ASCL2, HER-2, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

Также особенно предпочтительно, чтобы такой комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержал

x1) один или несколько эпитопов CEA (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности;

5 xli) один или несколько эпитопов сурвивина (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 22) или их вариантов функциональной последовательности;

xlii) один или несколько эпитопов EpCAM (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 41) или их вариантов функциональной последовательности; и

10 xliii) один или несколько эпитопов ASCL2 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 16 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 17) или их вариантов функциональной последовательности.

15 Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

Также особенно предпочтительно, чтобы такой комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержал

20 xliv) один или несколько эпитопов EpCAM (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 41) или их вариантов функциональной последовательности;

xlv) один или несколько эпитопов MUC-1 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 20 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 21) или их вариантов функциональной последовательности; и

25 xlvi) один или несколько эпитопов CEA (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности.

Другими словами, антигенный домен указанного первого компонента (К) преимущественно содержит

30 a) один или несколько эпитопов EpCAM или их вариантов функциональной последовательности;

b) один или несколько эпитопов MUC-1 или их вариантов функциональной последовательности; и/или

d) один или несколько эпитопов CEA или их вариантов функциональной последовательности.

Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2. Более предпочтительно, такой комплекс не содержит какого-либо эпитопа ASCL2, HER-2, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

Более предпочтительно, антигенный домен указанного первого компонента (К) преимущественно содержит

- a) один или несколько эпитопов ЕpСAM или их вариантов функциональной последовательности; и/или
- d) один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности.

Также особенно предпочтительно, чтобы такой комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержал

- xlvii) один или несколько эпитопов СЕА (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности;
- xlviii) один или несколько эпитопов сурвивина (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 22) или их вариантов функциональной последовательности; и
- xliv) один или несколько эпитопов ASCL2 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 16 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 17) или их вариантов функциональной последовательности.

Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, ЕpСAM, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

Даже более предпочтительно, комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- один или несколько эпитопов СЕА (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности;
- один или несколько эпитопов сурвивина (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 22) или их вариантов функциональной последовательности; и

— один или несколько эпитопов ASCL2 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 16 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 17) или их вариантов функциональной последовательности.

Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-
2, EpCAM, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, TGF β R2, p53,
KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Rальфа2.

Даже более предпочтительно, комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержит в направлении от N-конца к С-концу:

i) пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 24, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот (преимущественно по меньшей мере 15 аминокислот, более предпочтительно по меньшей мере 20 аминокислот, даже более предпочтительно по меньшей мере 25 аминокислот и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 аминокислот), или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности (преимущественно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, ещё более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности);

ii) пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 12, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот (преимущественно по меньшей мере 15 аминокислот, более предпочтительно по меньшей мере 20 аминокислот, даже более предпочтительно по меньшей мере 25 аминокислот и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 аминокислот), или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности (преимущественно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, ещё более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности); и

iii) пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 15, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей

мере 10 аминокислот (преимущественно по меньшей мере 15 аминокислот, более предпочтительно по меньшей мере 20 аминокислот, даже более предпочтительно по меньшей мере 25 аминокислот и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 аминокислот), или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности (преимущественно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, ещё более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности).

Такой комплекс преимущественно не содержит никакого другого антигена или других эпитопов антигенов, кроме СЕА, сурвивина и ASCL2, более предпочтительно такой комплекс не содержит никакого другого (опухолевого) эпитопа.

Преимущественно, в таком комплексе первого компонента (К) данного изобретения, С-конец (i) пептида, имеющего аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 24 или её фрагмент или вариант, непосредственно соединен с N-концом (ii) пептида, имеющего аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 12 или её фрагмент или вариант; и С-конец (ii) пептида, имеющего аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 12 или её фрагмент или вариант, непосредственно соединен с N-концом (iii) пептида, имеющего аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 15 или её фрагмент или вариант.

Ещё более предпочтительно, комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержит в направлении от N-конца к С-концу:

i) пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 25, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности (преимущественно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, ещё более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности);

ii) пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 23, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности (преимущественно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, ещё более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности); и

iii) пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 18, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности (преимущественно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, ещё более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности).

Такой комплекс преимущественно не содержит никакого другого антигена или других эпитопов антигенов, кроме СЕА, сурвивина и ASCL2, более предпочтительно такой комплекс не содержит никакого другого (опухолевого) эпитопа.

Преимущественно, в таком комплексе первого компонента (К) данного изобретения, С-конец (i) пептида, имеющего аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 25 или её вариант непосредственно соединен с N-концом (ii) пептида, имеющего аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 23 или её вариант; и С-конец (ii) пептида, имеющего аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 23 или её вариант непосредственно соединен с N-концом (iii) пептида, имеющего аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 18 или её вариант.

Наиболее предпочтительно, комплекс первого компонента (К) вакцины данного изобретения содержит в его антигенном домене пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 45 или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности (преимущественно по меньшей мере

75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, ещё более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности). Такой комплекс преимущественно не содержит никакого другого антигена или других эпитопов антигенов, кроме СЕА, сурвивина и ASCL2, более предпочтительно такой комплекс не содержит никакого другого (опухолевого) эпитопа.

Также особенно предпочтительно, чтобы комплекс первого компонента (К) вакцины данного изобретения, как раскрыто в данном описании, мог состоять из полипептида, который, например, содержит аминокислотные последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 6, или SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 7, или SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 7, или, например, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 7, или SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 7, или SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 7, или, например, SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 8, или SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 8, или SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 8. В альтернативном варианте, первый компонент (К) вакцины данного изобретения, как описано выше, может, например, содержать комбинации агониста TLR ANAXA или вариант его последовательности (например, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 7) с агонистом TLR Δ 30-HMGB1 (SEQ ID NO: 9), например, комплекс первого компонента может содержать SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 6, SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 2, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, или SEQ ID NO: 3, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9 или SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 45, SEQ ID NO: 7, SEQ ID NO: 9, или варианты функциональной последовательности любой из описанных выше последовательностей, имеющих по меньшей мере 70% идентичности последовательности (преимущественно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, ещё более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% идентичности последовательности). Например, предпочтительно,

чтобы комплекс первого компонента (К) данного изобретения содержал описанные выше аминокислотные последовательности в направлении от N-конца к С-концу, соединенные с помощью пептидных связей.

5 Последовательности, как описано выше, могут, например, также содержать линкерную или спейсерную последовательности между отдельными аминокислотными последовательностями.

Особенно предпочтительно, чтобы комплекс первого компонента (К) вакцины данного изобретения состоял из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 60 или варианта её функциональной
10 последовательности, имеющего по меньшей мере 70% идентичности последовательности, преимущественно по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 80%, даже более предпочтительно по меньшей мере 85%, ещё более предпочтительно по меньшей мере 90%, особенно предпочтительно по меньшей мере 95%, наиболее предпочтительно по меньшей
15 мере 99% идентичности последовательности. Такой комплекс преимущественно не содержит никакого другого антигена или других эпитопов антигенов, кроме СЕА, сурвивина и ASCL2, более предпочтительно такой комплекс не содержит никакого другого (опухолевого) эпитопа.

Также особенно предпочтительно, чтобы такой комплекс первого
20 компонента (К) в соответствии с данным изобретением содержал

— один или несколько эпитопов ЕpСАМ (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 41) или их вариантов функциональной последовательности; и

— один или несколько эпитопов СЕА (таких как эпитоп в соответствии с
25 SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности.

Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2. Более
30 предпочтительно, такой комплекс не содержит какого-либо эпитопа ASCL2, HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

Также особенно предпочтительно, чтобы такой комплекс первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением содержал

— один или несколько эпитопов EpCAM (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 41) или их вариантов функциональной последовательности; и

5 — один или несколько эпитопов ASCL2 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 16 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 17) или их вариантов функциональной последовательности.

Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, MUC-1, CEA, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

10 Также особенно предпочтительно, чтобы такой комплекс первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением содержал

— один или несколько эпитопов ASCL2 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 16 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 17) или их вариантов функциональной последовательности; и

15 — один или несколько эпитопов CEA (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности.

Другими словами, антигенный домен первого компонента (К) преимущественно содержит

20 - один или несколько эпитопов CEA или их вариантов функциональной последовательности; и

- один или несколько эпитопов ASCL2 или их вариантов функциональной последовательности.

25 Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, EpCAM, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

Также особенно предпочтительно, чтобы такой комплекс первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением содержал

30 — один или несколько эпитопов сурвивина (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 22) или их вариантов функциональной последовательности; и

— один или несколько эпитопов ASCL2 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 16 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 17) или их вариантов функциональной последовательности.

5 Другими словами, антигенный домен первого компонента (К) преимущественно содержит

- один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности; и

- один или несколько эпитопов ASCL2 или их вариантов функциональной последовательности.

10 Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, MUC-1, EpCAM, CEA, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

Также особенно предпочтительно, чтобы такой комплекс первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением содержал

15 — один или несколько эпитопов сурвивина (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 22) или их вариантов функциональной последовательности; и

20 — один или несколько эпитопов CEA (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов функциональной последовательности.

Другими словами, антигенный домен первого компонента (К) преимущественно содержит

- один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности; и

25 - один или несколько эпитопов CEA или их вариантов функциональной последовательности.

Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа ASCL2, HER-2, EpCAM, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

30 Особенно предпочтительно, антигенный домен первого компонента (К) преимущественно содержит

- один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности;

- один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности; и

- один или несколько эпитопов ASCL2 или их вариантов функциональной последовательности.

5 Также особенно предпочтительно, чтобы такой комплекс первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением содержал

— один или несколько эпитопов ЕpСAM (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 41) или их вариантов функциональной последовательности.

10 Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, СЕА, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2. Более предпочтительно, такой комплекс не содержит какого-либо эпитопа ASCL2, HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, СЕА,
15 TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

Также особенно предпочтительно, чтобы такой комплекс первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением содержал

— один или несколько эпитопов СЕА (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 26 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 27) или их вариантов
20 функциональной последовательности.

Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа ЕpСAM, HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2. Более предпочтительно, такой комплекс не содержит какого-либо эпитопа ASCL2,
25 ЕpСAM, HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивина, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

Также особенно предпочтительно, чтобы такой комплекс первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением содержал

— один или несколько эпитопов ASCL2 (таких как эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 16 и/или эпитоп в соответствии с SEQ ID NO: 17) или их
30 вариантов функциональной последовательности.

Такой комплекс преимущественно не содержит какого-либо эпитопа ЕpСAM, HER-2, MUC-1, СЕА, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG,

сурвивина, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART или IL13Ральфа2.

Рабдовирусы

Семейство рабдовирусов включает 18 родов и 134 вида с геномами отрицательно-полярной одноцепочечной РНК размером примерно 10-16 т.п.н. (Walke et al., *ICTV Virus Taxonomy Profile: Rhabdoviridae*, Journal of General Virology, 99: 447–448 (2018)).

Характерные черты членов семейства рабдовирусов включают один или несколько из следующих: пулевидные или бациллоподобные частицы длиной 100–430 нм и диаметром 45–100 нм, состоящие из спирального нуклеокапсида, окруженного матриксным слоем и липидной оболочкой, отрицательно-полярной одноцепочечной РНК размером 10,8-16,1 т.п.н., которая несегментирована; гена, кодирующего по меньшей мере 5 генов, кодирующих структурные белки: нуклеопротеин (N), большой белок (L), фосфопротеин (P), матриксный белок (M) и гликопротеин (G).

В соответствии с одним вариантом осуществления, второй компонент (V) вакцины по данному изобретению, как описано выше, представляет собой рекомбинантный рабдовирус. Другими словами, рабдовирус, преимущественно онколитический рабдовирус, второго компонента (V) представляет собой преимущественно рекомбинантный рабдовирус. Термин “рекомбинантный”, как использовано в данном описании, относится к тому факту, что рабдовирус не встречается в природе.

Рабдовирус в соответствии с данным изобретением может принадлежать к такому роду, как: альмендравивирус, куриовивирус, циторабдовирус, дихоравивирус, эфемеровивирус, гапавивирус, ледантеивирус, лиссавивирус, новирхабдовирус, нуклеорхабдовирус, перхабдовирус, сигмаивирус, спривививирус, срипуивирус, тибровивирус, тупавивирус, варикозавивирус или везикуловирус. Преимущественно, рабдовирус в соответствии с данным изобретением принадлежит к роду везикуловирусов, например, рабдовирус для применения в соответствии с данным изобретением может представлять собой один из таких как: везикуловирус Алагоас, везикуловирус американских летучих мышей, везикуловирус Карайас, везикуловирус Чандипура, везикуловирус Кокал, везикуловирус Индиана, везикуловирус Исфахан, везикуловирус Юрона, везикуловирус Мальпаис спринг, везикуловирус Мараба, везикуловирус

Морретон, везикуловиром Нью-Джерси, везикуловиром Перинет, везикуловиром Пири, везикуловиром Ради, везикуловиром Юг Богдановак или вирус Моусса.

Преимущественно, рекомбинантный рабдовирус данного изобретения представляет собой онколитический рабдовирус. В этом отношении онколитик имеет обычное значение, известное в данной области, и относится к способности рабдовируса инфицировать и лизировать (разрушать) раковые клетки, в то время как нераковые клетки не лизируются в какой-либо значительной степени.

Преимущественно, рабдовирус, преимущественно онколитический рабдовирус данного изобретения, является репликационно компетентным и способен реплицироваться в раковых клетках. В частности, рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, может быть репликационно компетентным. Онколитическая активность рекомбинантного рабдовируса данного изобретения может быть протестирована в различных системах анализа, известных специалисту в данной области (пример *in vitro* анализа описан Muik et al., Cancer Res., 74(13), 3567-78, 2014). Следует понимать, что онколитический рабдовирус может инфицировать и лизировать только определенные типы раковых клеток. Также онколитический эффект может варьироваться в зависимости от типа раковых клеток.

В предпочтительном варианте осуществления, рекомбинантный рабдовирус, преимущественно онколитический рекомбинантный рабдовирус, данного изобретения принадлежит к роду везикуловирусов. Виды везикуловирусов были определены главным образом серологическими методами в сочетании с филогенетическим анализом геномов. Биологические характеристики, такие как круг хозяев и механизмы передачи, также используются для различения видов вирусов внутри рода. Таким образом, род везикуловирусов образует отдельную монофилетическую группу, хорошо поддерживаемую деревьями Максимального правдоподобия, полученными из полных L-последовательностей.

Вирусы, отнесенные к разным видам в пределах рода везикуловирусов, могут иметь одну или несколько из следующих характеристик: А) минимальная дивергенция аминокислотной последовательности 20% в L; В) минимальная дивергенция аминокислотной последовательности 10% в N; С) минимальная дивергенция аминокислотной последовательности 15% в G; Г) можно отличить в

серологических анализах; и Е) занимают разные экологические ниши, о чем свидетельствуют различия в хозяевах и/или членистоногих переносчиках.

Предпочтительным является вирус везикулярного стоматита (VSV) и в частности VSV-GP (рекомбинантный VSV с GP вируса LCMV, как раскрыто в WO2010/040526). Преимущественные свойства VSV-GP включают один или несколько из следующих: очень мощный и быстрый киллер (<8 часов); онколитический вирус; возможно системное применение; значительно снижен нейротропизм с отменой нейротоксичности; размножается литически; сильная активация врожденного иммунитета; пространство около 3 т.п.н. для иммуномодулирующих карго и антигенов; рекомбинантный с аренавирусом гликопротеин из вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV); благоприятные характеристики безопасности с точки зрения снижения нейротоксичности и меньшей чувствительности к реакциям нейтрализующих антител и разрушению комплемента по сравнению с VSV дикого типа (VSV-G); специфически реплицируется в опухолевых клетках, которые утратили способность накапливаться и реагировать на противовирусные врожденные иммунные ответы (например, передача сигналов IFN типа I); abortивная репликация в «здоровых клетках», поэтому быстро исключается из нормальных тканей; репликация вируса в опухолевых клетках приводит к гибели клеток и, как предполагается, приводит к высвобождению ассоциированных с опухолью антигенов, локальному воспалению и индукции противоопухолевого иммунитета.

Желательно, чтобы рекомбинантный везикуловир, преимущественно онколитический рекомбинантный везикуловир, данного изобретения выбирали из группы, включающей такие как: вирус везикулярного стоматита Алагоас (VSAV), вирус Караяс (CJSV), вирус Чандипура (CHPV), вирус Кокал (COCV), вирус везикулярного стоматита Индиана (VSIV), вирус Исфахан (ISFV), вирус Мараба (MARAV), вирус везикулярного стоматита Нью-Джерси (VSNJV) или вирус Пири (PIRYV), более предпочтительно, рекомбинантный везикуловир данного изобретения выбирают из одного из вируса везикулярного стоматита Индиана (VSIV) или вируса везикулярного стоматита Нью-Джерси (VSNJV).

В одном предпочтительном варианте осуществления рекомбинантный вирус везикулярного стоматита Индиана (VSIV) или вирус везикулярного стоматита Нью-Джерси (VSNJV), преимущественно онколитический

рекомбинантный вирус везикулярного стоматита Индиана (VSIV) или вирус везикулярного стоматита Нью-Джерси (VSNJV), данного изобретения являются репликационно компетентными. Термины “репликационно компетентный” или “репликационно компетентный вирус”, как использовано в данном описании, относятся к вирусу, который содержит всю информацию в своем геноме, позволяющую ему реплицироваться в клетке. Например, способность к репликации рекомбинантного вируса везикулярного стоматита по настоящему изобретению можно оценить в соответствии со способами, раскрытыми в Tanі и соавт. JOURNAL OF VIROLOGY, авг. 2007, стр. 8601–8612; или Garbutt и соавт. JOURNAL OF VIROLOGY, май 2004, стр. 5458–5465.

В предпочтительном варианте осуществления настоящего изобретения РНК-геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной SEQ ID NO: 80. В другом предпочтительном варианте осуществления данного изобретения РНК-геном вируса везикулярного стоматита может также состоять из или содержать те последовательности, в которых нуклеиновые кислоты РНК-генома заменяются в соответствии с дегенерацией генетического кода, не приводя к изменению соответствующей аминокислотной последовательности. В дополнительном предпочтительном варианте осуществления данного изобретения, РНК-геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80.

В дополнительном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает вирус везикулярного стоматита, в котором РНК-геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80, при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50, нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49, матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52, большой

белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51, гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

Известно, что некоторые штаммы рабдовируса дикого типа, такие как штаммы VSV дикого типа, считаются нейротоксичными. Сообщается также, что инфицированные люди способны быстро вызывать сильную гуморальную реакцию с высокими титрами антител, направленных главным образом против гликопротеина. Нейтрализующие антитела, нацеленные на гликопротеин G рабдовирусов в целом и VSV в частности, способны ограничивать распространение вируса и тем самым опосредовать защиту людей от повторного заражения вирусом. Однако нейтрализация вируса ограничит повторное применение рекомбинантного рабдовируса, преимущественно онколитического рекомбинантного рабдовируса, данного изобретения, содержащегося в вакцине, как раскрыто в данном описании.

Для устранения этих недостатков гликопротеин G рабдовируса дикого типа можно, например, заменить гликопротеином другого вируса. В этом отношении замена гликопротеина относится к (i) замене гена, кодирующего гликопротеин G дикого типа, на ген, кодирующий гликопротеин GP другого вируса, и/или (ii) замене гликопротеина G дикого типа на гликопротеин GP другого вируса.

Например, гликопротеин G рекомбинантного VSV, преимущественно онколитический рекомбинантный VSV, как раскрыто в данном описании, может быть заменен на гликопротеин GP вируса Эбола (EBOV) или его зарегистрированных штаммов (например, Судана, Рестон, Заир или Тай Форест), который является членом семейства *Filoviridae* и представляет собой оболочечные одноцепочечные РНК-вирусы.

В одном варианте осуществления ген, кодирующий гликопротеин GP вируса EBOV, кодирует аминокислотную последовательность одного из штаммов EBOV, Судана, Рестона, Заира или Тай Форреста, или последовательность, имеющую по меньшей мере 80, 85, 90 или 95% идентичности последовательности с любой из указанных аминокислотных последовательностей, в то время как функциональные свойства рекомбинантного VSV, преимущественно онколитического рекомбинантного

VSV, включающего гликопротеин GP, как описано выше, сохраняются. Соответствующие способы для оценки функциональных свойств гликопротеинов и соответствующих вариантов, как раскрыто в данном описании, могут быть выполнены, как описано, например, в J Virol. янв. 2010; 84(2): 983–992, или
5 Cancer Res. 1 июля 2014;74(13): 3567-78.

В одном варианте осуществления гликопротеин G дикого типа VSV, как раскрыто в данном описании, может, например, быть заменен на гликопротеин (GP) аренавируса. Семейство *Arenaviridae* состоит из уникального рода аренавирусов, который в настоящее время включает 22 вида распознанных
10 вирусов. Аренавирусы представляют собой оболочечные одноцепочечные РНК-вирусы, геном которых состоит из двух сегментов РНК, обозначенных как большой (L) и малый (S). Геномный сегмент L (~7,2 т.п.н.) кодирует вирусную РНК-зависимую РНК-полимеразу и цинк-связывающий белок. Геномный сегмент S (~3,5 т.п.н.) кодирует нуклеокапсидный белок и оболочечные
15 гликопротеины в неперекрывающихся открытых рамках считывания противоположной полярности. Гены как в S-, так и в L-сегментах разделены межгенной некодирующей областью, потенциально способной образовывать одну или несколько шпилечных конфигураций. 5'- и 3'-нетранслируемые
20 концевые последовательности каждого сегмента РНК обладают относительно консервативной обратной комплементарной последовательностью, охватывающей 19 нуклеотидов на каждом конце. Нуклеокапсидные антигены являются общими для большинства аренавирусов, и количественные отношения показывают основное различие между вирусами Африки и вирусами Западного полушария. Индивидуальные вирусы иммунологически отличаются анализами
25 нейтрализации, которые зависят от специфичности эпитопов, содержащихся в гликопротеинах оболочки. Таким образом, гликопротеин дикого типа VSV может быть, например, заменен гликопротеином членов семейства аренавирусов, например, Аллпахуайо (ALLV), Амапари (AMAV), Беарского каньона (BCNV), Купикси (CPXV), Флексал (FLEV), Гуанарито (GTOV), Иппи (IPPYV), Юнин
30 (JUNV), Ласса (LASV), Латино (LATV), лимфоцитарный хориоменингит (LCMV), Мачупо (MACV), Мобала (MOBV), Мопея (MOPV), Оливерос (OLVV), Парана (PARV), Пичинде (PICV), Пиритал (PIRV), Сабия (SABV), Такарибе (TCRV), Тамиами (TAMV) или Вайтвотер Арройо (WWAV).

В одном варианте осуществления, гликопротеин G рекомбинантного VSV, преимущественно онколитического рекомбинантного VSV, как раскрыто в данном описании, может быть заменен на (зрелый) гликопротеин GP вируса Ласса, содержащего аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 72, или последовательность, имеющую по меньшей мере 80, 85, 90 или 95% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 72, в то время как функциональные свойства рекомбинантного VSV, преимущественно онколитического рекомбинантного VSV, содержащего гликопротеин GP, кодирующий аминокислотную последовательность, как показано в SEQ ID NO:72, сохраняются. Вирус Ласса (LASV) является членом семейства *Arenaviridae*, прототипом которого является вирус лимфоцитарного хориоменингита (LCMV).

В предпочтительном варианте осуществления гликопротеин G рекомбинантного рабдовируса заменен на гликопротеин GP вируса Данденонг (DANDV) или вируса Мопея (MOPV). В более предпочтительном варианте осуществления рекомбинантный рабдовирус представляет собой вирус везикулярного стоматита, в котором гликопротеин G заменен на гликопротеин GP вируса Данденонг (DANDV) или вируса Мопея (MOPV).

Преимущества, обеспечиваемые заменой гликопротеина VSV дикого типа любым из гликопротеинов, раскрытых выше, заключаются в (i) потере нейротоксичности, опосредованной VSV-G, и (ii) отсутствии нейтрализации вектора антителами (как показано на мышах).

Вирус Данденонг (DANDV) представляет собой аренавирус Старого Света. На сегодняшний день специалисту в данной области известен только один штамм, который содержит гликопротеин GP и который может быть использован в рамках настоящего изобретения в качестве донора гликопротеина GP, содержащегося в рекомбинантном рабдовирусе данного изобретения. Гликопротеин GP DANDV, содержащийся в рекомбинантном рабдовирусе данного изобретения, имеет более 6 сайтов гликозилирования, в частности 7 сайтов гликозилирования. Примером предпочтительного гликопротеина GP является гликопротеин, включенный в DADV, доступный под номером EU136038 в базе генетических данных Genbank. В одном варианте осуществления, ген, кодирующий гликопротеин GP DNADV, кодирует аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 47, или

последовательность, имеющую по меньшей мере 80, 85, 90 или 95% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 47, в то время как функциональные свойства рекомбинантного рабдовируса, содержащего гликопротеин GP, кодирующий аминокислотную последовательность, как показано в SEQ ID NO:47, сохраняются.

Вирус Мопея (MOPV) представляет собой аренавирус Старого Света. Специалисту в данной области известно несколько штаммов, которые содержат гликопротеин GP и которые могут быть использованы в рамках настоящего изобретения в качестве донора гликопротеина GP, содержащегося в рекомбинантном рабдovирусе данного изобретения. GP гликопротеин MOPV, включенный в рекомбинантный рабдовирус данного изобретения, имеет более 6 сайтов гликозилирования, в частности семь сайтов гликозилирования. Типичным предпочтительным гликопротеином GP является тот, который содержится в вирусе Мопея, доступном под номером Genbank AY772170. В одном варианте осуществления, ген, кодирующий гликопротеин GP MOPV, кодирует аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO:48 или последовательность, имеющую по меньшей мере 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95% идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO:48, в то время как функциональные свойства рекомбинантного рабдовируса, содержащего гликопротеин GP, кодирующий аминокислотную последовательность, как показано в SEQ ID NO:48, сохраняются.

Функциональные свойства гликопротеина и его вариантов, как раскрыто в данном описании, могут, например, быть оценены в соответствии со способами, известными в данной области техники, такими как раскрытые в J Virol. Май 2014; 88(9): 4897-907.

В особенно предпочтительном варианте осуществления гликопротеин G рабдовируса заменен на гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), преимущественно на штамм WE-HPI. В даже более предпочтительном варианте осуществления рабдовирус представляет собой вирус везикулярного стоматита с гликопротеином GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), преимущественно со штаммом WE-HPI. Такой VSV описан, например, в WO2010/040526 или WO2006/008074 и называется "VSV-GP". Предлагаемые преимущества включают (i) потерю нейротоксичности, опосредованной VSV-G, и (ii) отсутствие нейтрализации вектора антителами

(как показано на мышах). Оболочечные гликопротеины вируса LCMV (LCMV GP) первоначально экспрессируются в виде полипептида-предшественника GP-C, который посттрансляционно процессируется клеточной протеазой в GP-1 и GP-2. GP-1 взаимодействует с клеточным рецептором LCMV, который

5 идентифицирован как альфа-дистрогликан. GP-2 содержит гибридный пептид и трансмембранный домен.

Гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) может представлять собой GP1 или GP2. Настоящее изобретение включает гликопротеины из различных штаммов LCMV. В частности, LCMV-GP может

10 быть получен из LCMV дикого типа или штаммов LCMV: LCMV-WE, LCMV-WE-NPI, LCMV-WE-NPIopt. В предпочтительном варианте осуществления ген, кодирующий гликопротеин GP LCMV, кодирует белок с аминокислотной последовательностью, показанной в SEQ ID NO: 46, или аминокислотной последовательностью, имеющей по меньшей мере 80, 85, 90, 95%, 98 %, 99%

15 идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 46, в то время как функциональные свойства рекомбинантного рабдовируса, преимущественно онколитического рекомбинантного рабдовируса, более предпочтительно рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, преимущественно онколитического рекомбинантного вируса везикулярного

20 стоматита, содержащего гликопротеин GP, кодирующий аминокислотную последовательность, как показано в SEQ ID NO: 11, сохраняются.

В предпочтительном варианте осуществления рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, данного изобретения кодирует в своём геноме

25 по меньшей мере нуклеопротеин (N) вируса везикулярного стоматита, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:49, или функциональный вариант по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98% идентичный SEQ ID NO:49, фосфопротеин (P) вируса везикулярного стоматита, содержащий аминокислотную последовательность,

30 представленную в SEQ ID NO: 50, или функциональный вариант по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98% идентичный SEQ ID NO:50, большой белок (L) вируса везикулярного стоматита, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO:51, или функциональный вариант по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 94%, 96%,

98% идентичный SEQ ID NO: 51, и матриксный белок (M) вируса везикулярного стоматита, содержащий аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 52, или функциональный вариант по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98% идентичный SEQ ID NO: 52.

5 Более предпочтительно, рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, второго компонента (V) кодирует в своём геноме нуклеопротеин (N), большой белок (L), фосфопротеин (P), матриксный белок (M), гликопротеин (G) вируса везикулярного стоматита и по меньшей мере один антиген или антигенный
10 эпитоп по любому из пунктов 22 - 54, причем ген, кодирующий гликопротеин G вируса везикулярного стоматита, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и/или гликопротеин G замещен гликопротеином GP вируса LCMV, и

- нуклеопротеин (N) содержит аминокислоту, представленную в SEQ ID
15 NO:49, или функциональный вариант по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98% идентичный SEQ ID NO: 49;

- где фосфопротеин (P) содержит аминокислоту, представленную в SEQ ID NO:50, или функциональный вариант по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98% идентичный SEQ ID NO: 50;

20 - где большой белок (L) содержит аминокислоту, представленную в SEQ ID NO:51, или функциональный вариант по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98% идентичный SEQ ID NO: 51; и

- матриксный белок (M) содержит аминокислоту, представленную в SEQ ID NO:52, или функциональный вариант по меньшей мере на 80%, 85%,
25 90%, 92%, 94%, 96%, 98% идентичный SEQ ID NO: 52.

Например, вышеуказанные функциональные варианты представляют собой модификации последовательности нуклеопротеина (N), большого белка (L), фосфопротеина (P), матриксного белка (M) или гликопротеина (G) вируса везикулярного стоматита без потери основных функций этих белков. Такие
30 функциональные варианты, как использовано в данном описании, полностью или частично сохраняют свою основную функцию или активность. Белок L, например, представляет собой полимеразу и выполняет важную функцию во время транскрипции и репликации вируса. Его функциональный вариант должен сохранять по меньшей мере часть этой способности. Хорошим показателем

сохранения основной функциональности или активности является успешное производство вирусов, включая эти функциональные варианты, которые все еще способны реплицироваться и инфицировать опухолевые клетки.

5 Продуцирование вирусов и тестирование на инфицирование и репликацию в опухолевых клетках можно тестировать в различных системах анализа, известных специалистам в данной области (пример *in vitro* анализа описан Muik и соавт., *Cancer Res.*, 74(13), 3567-78, 2014). Соответственно, вакцина данного изобретения может содержать рекомбинантный вирус везикулярного стоматита (V), кодирующий в своем геноме последовательность нуклеопротеина (N),
10 большого белка (L), фосфопротеина (P), матриксного белка (M) или гликопротеина (G) вируса, как описано выше.

Желательно, чтобы рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, данного изобретения, как описано выше, кодировал в своём геноме
15 второй антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность антигенного домена комплекса первого компонента (K) данного изобретения, как описано выше. В частности, антигенный домен, кодируемый в геноме рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, преимущественно онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, данного
20 изобретения, как описано выше, содержит аминокислотную последовательность, идентичную с последовательностью антигенного домена комплекса первого компонента (K), как описано выше. Например, антигенные домены и их соответствующая аминокислотная последовательность, как раскрыто в контексте рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, предпочтительно
25 онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, в данном документе определяют, что антигенный домен указанного первого компонента (K) по данному изобретению содержит антигенный домен с идентичной аминокислотной последовательностью, в альтернативном варианте, антигенные домены, как описано в контексте первого компонента (K) данного изобретения
30 определяют, что антигенный домен рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, предпочтительно онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, данного изобретения содержит антигенный домен с аминокислотной последовательностью, идентичной последовательности первого компонента (K) по данному изобретению, как описано выше.

Понятно, что ряд различных антигенов или антигенных эпитопов, относящихся к типам рака, как описано выше, например, таких как колоректальный рак, рак молочной железы или рак поджелудочной железы, может, например, распределяться по подмножествам различных антигенов или антигенных эпитопов, в частности подмножествам, дополняющим друг друга в контексте колоректального рака, рака молочной железы или рака поджелудочной железы, которые могут состоять из различных антигенных доменов, таких как антигенный домен первого компонента (К), как указано выше, и антигенного домена рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, преимущественно онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, данного изобретения.

Соответственно, как антигенный домен комплекса первого компонента (К), как раскрыто в данном описании, так и антигенный домен, кодируемый рекомбинантным рабдовирусом, преимущественно онколитическим рекомбинантным рабдовирусом, или рекомбинантным везикуловирусом, преимущественно онколитическим рекомбинантным везикуловирусом, как раскрыто в данном описании, содержат по меньшей мере один идентичный антиген или антигенный эпитоп, при этом антигенный домен комплекса первого компонента данного изобретения и/или антигенный домен рекомбинантного рабдовируса, преимущественно онколитического рекомбинантного рабдовируса, или рекомбинантного везикуловируса, преимущественно онколитического рекомбинантного везикуловируса, данного изобретения, как раскрыто в данном описании, содержат один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять дополнительных антигенов или антигенных эпитопов, которые не идентичны в последовательности. Термин “неидентичные”, как использовано в данном описании, относится к последовательностям, отличающимся более чем на 10%, 15%, 20%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60% или 70% аминокислот соответствующего антигена или антигенного эпитопа. Относительные различия последовательностей между двумя антигенами или антигенными эпитопами, такими как, например, раскрытые в данном описании, можно определить с помощью алгоритма «BLAST», как раскрыто в данном описании.

Таким образом, в некоторых вариантах осуществления как антигенный домен комплекса первого компонента (К), как раскрыто в данном описании, так и антигенный домен, кодируемый в геноме рекомбинантного везикуловируса,

преимущественно онколитического рекомбинантного везикуловируса, содержат по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, который является идентичным в последовательности, при этом комплекс первого компонента (К) и/или антигенный домен рекомбинантного везикуловируса, преимущественно онколитического рекомбинантного везикуловируса, преимущественно вируса везикулярного стоматита Индиана (VSIV) или вируса везикулярного стоматита Нью-Джерси (VSNJV), дополнительно содержат один, два, три, четыре, пять, шесть или больше антигенов или антигенных эпитопов, как раскрыто в данном описании, которые являются неидентичными.

10 В некоторых вариантах осуществления, антигенный домен комплекса первого компонента (К) данного изобретения и антигенный домен, кодируемый геном рекомбинантного вируса везикулярного стоматита Индиана, преимущественно онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита Индиана, как раскрыто в данном описании, включают один, два, три, 15 четыре или больше антигенов или антигенных эпитопов, которые являются неидентичными, при условии, что по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, включенный в антигенные домены комплекса первого компонента и закодированный в геноме рекомбинантного VSV, преимущественно онколитического рекомбинантного VSV, являются идентичными в 20 последовательности.

Например, антигенный домен комплекса первого компонента (К) и антигенный домен рекомбинантного вируса везикулярного стоматита Индиана, преимущественно онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита Индиана, данного изобретения включают один антиген или 25 антигенный эпитоп, последовательность которого содержит 1, 2, 3, 4, 5, 6 или больше аминокислотных замен, или, например, который является на приблизительно 80% идентичным соответствующей последовательности в соответствующем антигенном домене, преимущественно на приблизительно 85% идентичным, более предпочтительно на приблизительно 90%, более 30 предпочтительно 95% или 98% идентичным.

Особенно предпочтительно, рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, данного изобретения, как описано выше, кодирует в своём геноме по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, содержащий

аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

Вакцина или набор данного изобретения могут быть использованы для применения в медицине. В соответствии с одним вариантом осуществления вакцина/набор данного изобретения, как описано выше, предназначена/предназначен для применения в модулировании клеточного цитотоксического иммунного ответа у млекопитающего, преимущественно у пациента, которому это необходимо, страдающего от опухоли или неопластического заболевания. Термин «клеточный цитотоксический иммунный ответ», как использовано в данном описании, относится к по меньшей мере одной или нескольким цитотоксическим Т-клеткам, также известным как ТС, цитотоксическому Т-лимфоциту, CTL, Т-киллерной клетке, цитолитической Т-клетке, CD8+ Т-клетке или Т-киллерной клетке, которая убивает клетки, например, клетки, инфицированные (в частности, вирусами), или клетки, поврежденные другими способами, например, раковые клетки или опухолевые клетки (см., например, Halle et al., Trends Immunol. 2017 Jun; 38(6): 432-443). Более конкретно, вакцина/набор в соответствии с данным изобретением, как описано выше, предназначена/предназначен для модулирования клеточного цитотоксического иммунного ответа против опухоли у млекопитающего, например, у нуждающегося в этом пациента, страдающего от опухоли или неопластического заболевания.

Преимущественно, вакцина/набор данного изобретения предназначена/предназначен для применения в модулировании клеточного цитотоксического иммунного ответа против опухоли молочной железы, включая трижды негативный рак молочной железы; рака желчевыводящих путей; рака мочевого пузыря; рака головного мозга, включая глиобластомы и медуллобластомы; рака шейки матки; хориокарциномы; рака толстой кишки; рака эндометрия; рака пищевода; рака желудка; стромальной опухоли желудочно-кишечного тракта (GIST), рака аппендицита, холангиокарциномы, карциноидной опухоли, желудочно-кишечного рака кишечника, рака внепеченочных желчных протоков, рака желчного пузыря, гастрального рака (желудка), карциноидной опухоли желудочно-кишечного тракта, колоректального рака или метастатического колоректального рака, гематологических новообразований, включая острый лимфоцитарный и

миелогенный лейкоз; Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза/лимфомы; волосатоклеточного лейкоза; хронического миелогенного лейкоза, множественной миеломы; СПИД-ассоциированных лейкозов и Т-клеточной лейкозной лимфомы взрослых; внутриэпителиальных новообразований, включая болезнь Боуэна и болезнь Педжета; рака печени; рака легкого, включая немелкоклеточный рак легкого, лимфомы, включая болезнь Ходжкина и лимфоцитарные лимфомы; нейробластом; глиобластомы, рака ротовой полости, включая плоскоклеточную карциному; рака яичников, в том числе возникающего из эпителиальных клеток, стромальных клеток, зародышевых клеток и мезенхимальных клеток; рака поджелудочной железы; рака простаты; рака прямой кишки; сарком, включая лейомиосаркому, рабдомиосаркому, липосаркому, фибросаркому и остеосаркому; рака кожи, включая меланому, карциному из клеток Меркеля, саркому Капоши, базальноклеточную карциному и плоскоклеточный рак; рака яичка, включая зародышевые опухоли, такие как семинома, несеминома (тератомы, хориокарциномы), стромальные опухоли и опухоли зародышевых клеток; рака щитовидной железы, включая аденокарциному щитовидной железы и медуллярную карциному; и рака почки, включая аденокарциному и опухоль Вильмса, более предпочтительно против колоректального рака или метастатического колоректального рака, рака поджелудочной железы, включая аденокарциному поджелудочной железы, и рака молочной железы, включая трижды негативный рак молочной железы, еще более предпочтительно против колоректального рака или метастатического колоректального рака, при этом колоректальный рак или метастатический колоректальный рак включает все виды клеток и этапы по системе TMN, как описано выше.

Соответственно, настоящее изобретение также обеспечивает первый компонент (К), содержащий комплекс, где комплекс содержит:

- (i) проникающий в клетку пептид;
 - (ii) антигенный домен, содержащий по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп; и
 - (iii) по меньшей мере один пептидный агонист TLR,
- где компоненты i) – iii) являются ковалентно связанными, для применения в медицине,

при этом первый компонент (К) вводят в комбинации со вторым компонентом (V), который содержит рабдовирус, преимущественно онколитический рабдовирус.

5 Другими словами, настоящее изобретение также обеспечивает второй компонент (V), который содержит рабдовирус, преимущественно онколитический рабдовирус, для применения в медицине,

при этом второй компонент (V) вводят в комбинации с первым компонентом (К), который содержит комплекс, где комплекс содержит:

- 10 (i) проникающий в клетку пептид;
- (ii) антигенный домен, содержащий по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп; и
- (iii) по меньшей мере один пептидный агонист TLR,
- где компоненты i) – iii) являются ковалентно связанными.

15 Приведенное выше подробное описание для первого компонента (К) и второго компонента (V) вакцины применимо соответственно. В частности, рабдовирус, преимущественно онколитический рабдовирус, второго компонента (V) может кодировать антигенный домен или по меньшей мере один антиген (фрагмент) или его антигенный эпитоп комплекса первого компонента (К). Другими словами, по меньшей мере один соответствующий антиген (фрагмент) или эпитоп может (1) быть включен в комплекс первого компонента (К) и (2) кодироваться (например, в геноме) рабдовирусом, преимущественно онколитическим рабдовирусом, второго компонента (V). Более подробная информация касательно первого компонента (К) и второго компонента (V) вакцины приведена соответственно. Более того, подробная информация касательно медицинского применения и введения первого компонента (К) и второго компонента (V) вакцины применяется соответственно.

20

25

В частности, «комбинация» первого компонента (К) и второго компонента (V), как раскрыто в данном описании, обычно означает, что лечение первым компонентом (К), как раскрыто в данном описании, объединено с лечением вторым компонентом (V), как раскрыто в данном описании. Другими словами, даже если один компонент (первый или второй) не вводят, например, в один день с другим компонентом, схемы их лечения переплетаются. В частности, один, например, первый компонент может быть введен первым (как «прайм»), тогда как другой, например, второй компонент может быть введен позже (как

30

«буст»); например, через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более дней или недель после «прайма». Таким образом, интервал между прайм и буст вакциной обычно выбирают таким, чтобы можно было обнаружить сильный иммунный ответ. В некоторых вариантах осуществления первый компонент (K) и/или второй компонент (V) могут быть введены повторно. В этом контексте «прайм» компонент (например, первый компонент (K)) может быть введен снова после введения «буст» компонента (например, второго компонента (V)). Таким образом, введение первого компонента (K) и/или второго компонента (V) можно повторять по крайней мере два раза.

10 В одном варианте осуществления, первый компонент (K) и второй компонент (V), соответственно, например, вакцины (для применения) в соответствии с данным изобретением, каждый вводят по меньшей мере один раз млекопитающему, преимущественно человеку, которому это необходимо, страдающему от опухоли или неопластического заболевания. Соответственно, первый компонент (K) вакцины данного изобретения вводят по меньшей мере 15 один раз человеку или пациенту, которому это необходимо, страдающему от опухоли или рака или неопластического заболевания, как описано выше, что сопровождают введением второго компонента (V) вакцины. Например, первый компонент (K) и второй компонент (V) вакцины для применения в соответствии с данным изобретением могут быть введены по меньшей мере один раз, два раза, 20 три раза или четыре раза или больше раз.

Первый компонент (K) и второй компонент (V) вакцины по данному изобретению, как раскрыто в данном описании, могут быть введены в порядке K-V или V-K, при этом «K-V» относится к введению первого компонента (K), что сопровождают введением второго компонента «V» вакцины, как раскрыто в 25 данном описании. Однако было обнаружено, что прайм вакцинация с использованием первого компонента (K) с последующей бустерной вакцинацией с использованием второго компонента (V) вакцины по данному изобретению приводит к более сильному иммунному ответу, например, по оценке 30 мультиэпитопных CD8 CTL и CD4 T_h клеток.

Особенно желательно, чтобы первый компонент (K) и второй компонент (V) вакцины для применения в соответствии с данным изобретением вводили в таком порядке: сначала первый компонент (K), а потом второй компонент (V).

Было обнаружено, что увеличение количества введений первого компонента (К) и/или второго компонента (V) вакцины по данному изобретению приводит к усилению цитотоксического Т-клеточного ответа. В частности, когда первый компонент (К) вакцины по данному изобретению вводят повторно, преимущественным является порядок К-V-К. Первый компонент (К) и второй компонент (V) вакцины для применения согласно изобретению могут быть введены в соответствии с различными схемами введения, такими как К-V-V-К, К-К-V, V-К-К, однако схемы введения с использованием первого компонента (К) вакцины в качестве прайм вакцины, сопровождаемой бустерной вакциной с использованием второго компонента (V) данного изобретения, являются предпочтительными, поскольку они приводят к благоприятному увеличению ответа CD8 Т-клеток против по меньшей мере одного опухолевого или ракового эпитопа, входящего в состав антигенного домена первого компонента (К) и второго компонента (V) вакцины, как раскрыто в данном описании.

Следует понимать, что вышеуказанная схема введения не исключает дальнейшего и/или повторного введения первого компонента К вакцины по данному изобретению. Таким образом, в соответствии с одним вариантом осуществления, первый компонент (К) и второй компонент (V) вакцины для применения в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном описании, могут быть введены в соответствии с одной из следующих схем введения: К-V-К, К-V-К-К, К-V-V-К, преимущественно К-V-К, К-V-К-К.

В соответствии с одним вариантом осуществления, первый компонент (К) и второй компонент (V) вакцины могут быть введены последовательно, например, первый компонент (К) и второй компонент (V) вакцины для применения в соответствии с данным изобретением вводят с промежутком между их введениями в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21 день, преимущественно от приблизительно 5, 6, 7, 8, 9, 10 дней до приблизительно 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 дней, преимущественно от приблизительно 11, 12, 13, 14 дней до приблизительно 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 дней. Например, первый компонент К для применения в соответствии с данным изобретением, как описано выше, может быть введен в День 0, что сопровождается введением второго компонента (V) данного изобретения 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, 14 дней, 15 дней, 16 дней, 18 дней, 19 дней, 20 дней, 21 день. Желательно, чтобы второй

компонент (V), то есть рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, как раскрыто в данном описании, вводили по меньшей мере через 7 дней, 8 дней, 9 дней, 10 дней, 11 дней, 12 дней, 13 дней, 14 дней, 18 дней, 21 день после введения первого компонента (K) данного изобретения.

5 В соответствии с одним вариантом осуществления, первый компонент (K) для применения в соответствии с данным изобретением вводят по меньшей мере один раз через от приблизительно 10, 11, 12, 13, 14 дней до приблизительно 20, 10 21, 22, 24, 26, 28, 30, 35, 42, 49 или 56 дней после последнего применения первого компонента (K) в соответствии с данным изобретением. Желательно, чтобы временные интервалы между последовательным введением первого компонента (K) и второго компонента (V) в соответствии с данным изобретением составляли по меньшей мере 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней, 9, 10 11 дней, 12 дней, 13 дней, 14 дней или, например, по меньшей мере 7 дней, 14 дней или 21 день или 28 дней. Например, первый компонент (K) в соответствии с данным изобретением может быть введен в День 0, что 15 сопровождают введением второго компонента (V) данного изобретения в День 7, День 14, День 21 или День 28, что сопровождают вторым введением первого компонента (K) вакцины данного изобретения в День 14, День 21, День 28 или День 35. Первый компонент (K) для применения в соответствии с данным изобретением может быть, например, дополнительно введен в качестве 20 бустерной вакцины, например, через 14 дней, 21 день, 28 дней, 35 дней, 42 дней, 49 дней или 56 дней или позже после последнего введения первого компонента (K) данного изобретения, как раскрыто в данном описании.

Например, вакцина для применения, согласно данному изобретению, может 25 быть введена по следующим схемам введения, при этом “K” обозначает первый компонент (K) и “V” обозначает второй компонент (V) вакцины данного изобретения, как раскрыто в данном описании:

- (1) День 0: K, День 7: V, День 14: K, День 21: K
- (2) День 0: K, День 14 V, День 21 K, День 28: K
- 30 (3) День 0: K, День 14 V, День 28 K, День 35: K
- (4) День 0: K, День 14 V, День 28 K, День 42: K
- (5) День 0: K День 21: V, День 28: K, День 35 K
- (6) День 0: K День 21: V, День 35: K, День 42 K
- (7) День 0: K, День 28 V, День 35: K, День 49: K

(8) День 0: К, День 28 V, День 35: К, День 56: К

(9) День 0: К, День 21 V, День 28: К, День 35: V, День 42: К

В некоторых вариантах осуществления, первый компонент (К) вакцины для применения в соответствии с данным изобретением может быть введен в
5 качестве поддерживающей терапии пациенту, которому это необходимо, после первоначальной вакцинации пациента вакциной для применения в соответствии с данным изобретением по схеме введения К-V-К, например, первый компонент (К) для применения в соответствии с данным изобретением может быть введен согласно следующей схеме введения: К-V-К-К_n, где n представляет собой целое
10 число от 1 до 20, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, показывающее количество введений первого компонента К для применения в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном описании, при этом временной интервал между введением К_n и К_{n+1} составляет от приблизительно 7 дней, 14 дней, 21 дня, 28 дней до приблизительно 35 дней, 42,
15 дней, 60 дней, 70 дней, 80 дней, 90 дней, 120 дней, 180 дней, или от приблизительно 35 дней, 42, дней, 60 дней, 70 дней, 80 дней, 90 дней, 120 дней до приблизительно 200 дней, 365 дней и при этом введение согласно схеме введения К-V-К проводят как описано выше.

В соответствии с одним вариантом осуществления настоящее изобретение
20 обеспечивает первую фармацевтическую композицию, которая содержит комплекс первого компонента (К) или первый компонент (К) данного изобретения. Как использовано в данном описании, первый компонент (К) данного изобретения, как раскрыто в данном описании, может также относиться к фармацевтической композиции, содержащей комплекс согласно изобретению,
25 как раскрыто в данном описании, содержащий СРР, антигенный домен и пептидный агонист TLR, сформулированный в фармацевтическую композицию, подходящую для применения у людей или животных, преимущественно людей. Типичные составы могут быть, например, получены путем смешивания, например комплекса данного изобретения, как раскрыто в данном описании, с
30 физиологически приемлемыми носителями, вспомогательными веществами или стабилизаторами, в виде водных растворов или водных или неводных суспензий. Носители, вспомогательные вещества, модификаторы или стабилизаторы нетоксичны в используемых дозировках и концентрациях. Они могут включать буферные системы, такие как фосфатная, цитратная, ацетатная и другие

неорганические или органические кислоты и их соли; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты, такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония; хлорид гексаметония; хлорид бензалкония, хлорид бензетония; фенол, бутиловый или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен; катехин; резорцин; циклогексанол; 3-пентанол; и м-крезол; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон или полиэтиленгликоль (ПЭГ); аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды, олигосахариды или полисахариды и другие углеводы, включая глюкозу, маннозу, сахарозу, трегалозу, декстрины или декстраны; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахарные спирты, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок); и/или ионные или неионогенные поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™ (полисорбаты), PLURONICS™ или сложные эфиры жирных кислот, простые эфиры жирных кислот или сложные эфиры сахаров. Вспомогательные вещества также могут выполнять функцию модификации высвобождения или модификации абсорбции.

Например, фармацевтические композиции данного изобретения, содержащие первый компонент (К), как раскрыто в данном описании, может содержать от приблизительно 0,001 мг/мл, 0,01 мг/мл, 0,5 мг/мл, 0,75 мг/мл, 1 мг/мл, 1,5 мг/мл, 2 мг/мл до приблизительно 2,5 мг/мл, 5 мг/мл, 7,5 мг/мл, 10 мг/мл, 15 мг/мл, 20 мг/мл, 25 мг/мл, 50 мг/мл первого компонента К данного изобретения. Первые фармацевтические композиции данного изобретения, содержащие первый компонент (К) данного изобретения, могут, например, содержать от приблизительно 1 нмоль, 1,5 нмоль, 2 нмоль, 3 нмоль, 4 нмоль, 5 нмоль до приблизительно 6 нмоль, 7,5 нмоль, 10 нмоль, 12,5 нмоль, 15 нмоль, 20 нмоль, 50 нмоль, 100 нмоль, 150 нмоль, 200 нмоль первого компонента (К) данного изобретения в объеме от приблизительно 10 мкл, 25 мкл, 50 мкл, 75 мкл до приблизительно 100 мкл, 150 мкл, 200 мкл, 250 мкл, 500 мкл, 750 мкл, 1 мл, 1,5 мл, 2 мл, 2,5 мл, 3 мл, 3,5 мл, 4 мл, 4,5 мл, 5 мл, 7,5 мл или 10 мл.

В одном варианте осуществления, первая фармацевтическая композиция данного изобретения, как описано выше, является, например, рН-буферизированный раствор с рН от приблизительно 4 до 8, например, рН 4,0, рН

4,5, рН 5,0, рН 5,5, рН 6,0, рН 6,5, рН 7,0, рН 7,5 и рН 8,0. Примеры буферов в этом отношении включают гистидин, фосфат, Трис, цитратную, ацетатную, ацетатно-натриевую, фосфатную, янтарную и другие органические кислоты.

5 Концентрация буфера может составлять от примерно 1 мМ до примерно 30 мМ или от примерно 3 мМ до примерно 20 мМ, в зависимости, например, от буфера и желаемой изотоничности состава (например, восстановленного состава). В некоторых вариантах осуществления подходящий буферный агент присутствует в концентрации приблизительно 1 мМ, 5 мМ, 10 мМ, 15 мМ, 20 мМ, 25 мМ, 30 мМ или 50 мМ.

10 В соответствии с одним вариантом осуществления настоящее изобретение обеспечивает вторую фармацевтическую композицию, включающую рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, второго компонента (V) вакцины по данному изобретению. Соответственно,
15 рекомбинантный рабдовирус, преимущественно онколитический рекомбинантный рабдовирус, данного изобретения формулируют в фармацевтические композиции для его применения в соответствии с данным изобретением для облегчения введения животным или людям. Типичные составы могут быть приготовлены, например, путем смешивания рекомбинантного
20 вируса с физиологически приемлемыми носителями, вспомогательными веществами или стабилизаторами в форме водных растворов или водных или неводных суспензий. Носители, вспомогательные вещества, модификаторы или стабилизаторы нетоксичны в используемых дозировках и концентрациях. Они включают буферные системы, такие как фосфатная, цитратная, ацетатная и
25 другие неорганические или органические кислоты и их соли; антиоксиданты, включая аскорбиновую кислоту и метионин; консерванты, такие как хлорид октадецилдиметилбензиламмония; хлорид гексаметония; хлорид бензалкония, хлорид бензетония; фенол, бутиловый или бензиловый спирт; алкилпарабены, такие как метил- или пропилпарабен; катехин; резорцин; циклогексанол; 3-
30 пентанол; и м-крезол; белки, такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины; гидрофильные полимеры, такие как поливинилпирролидон или полиэтиленгликоль (ПЭГ); аминокислоты, такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин; моносахариды, дисахариды, олигосахариды или полисахариды и другие углеводы, включая глюкозу,

маннозу, сахарозу, трегалозу, декстрины или декстраны; хелатирующие агенты, такие как ЭДТА; сахарные спирты, такие как маннит или сорбит; солеобразующие противоионы, такие как натрий; комплексы металлов (например, комплексы Zn-белок); и/или ионные или неионогенные
5 поверхностно-активные вещества, такие как TWEEN™ (полисорбаты), PLURONICS™ или сложные эфиры жирных кислот, простые эфиры жирных кислот или сложные эфиры сахаров. Вспомогательные вещества также могут иметь функцию модификации высвобождения или модификации абсорбции.

10 В одном варианте осуществления рекомбинантный рабдовирус, в частности онколитический рекомбинантный рабдовирус, преимущественно рекомбинантный VSV, в частности онколитический рекомбинантный VSV, данного изобретения, как описано выше, формулируют в фармацевтическую композицию, содержащую Трис, аргинин и необязательно цитрат. Трис преимущественно используют в концентрации от приблизительно 1 мМ до
15 приблизительно 100 мМ. Аргинин преимущественно используют в концентрации от приблизительно 1 мМ до приблизительно 100 мМ. Цитрат может присутствовать в концентрации до 100 мМ. Предпочтительный состав содержит приблизительно 50 мМ Трис и 50 мМ аргинина. Фармацевтическая композиция может быть предложена в виде жидкости, замороженной жидкости или в
20 лиофилизированной форме. Замороженную жидкость можно хранить при температурах от приблизительно 0°C до приблизительно -85°C, включая температуры между -70°C и -85°C и приблизительно -15°C, -16°C, -17°C, -18°C, -19°C, -20°C, -21°C, -22°C, -23°C, -24°C или приблизительно -25°C.

В зависимости от предполагаемого использования второй
25 фармацевтической композиции настоящего изобретения, содержащей рекомбинантный везикуловирус данного изобретения, как раскрыто в данном описании, количество от 10^8 до 10^{13} инфекционных частиц рекомбинантного рабдовируса, измеренных с помощью TCID₅₀, может быть начальной дозой-кандидатом для введения человеку или пациенту, которому это необходимо,
30 которые можно, например, вводить одним или больше отдельными введениями, предпочтительно одним введением.

Например, рекомбинантный везикуловирус данного изобретения может быть введен в эффективной концентрации от приблизительно 10^8 , 10^9 , 10^{10} , 10^{11} до приблизительно 10^{12} , 10^{13} инфекционных частиц, измеренных с помощью

TCID₅₀, или от приблизительно 10^7 , 10^8 до приблизительно 10^9 , 10^{10} , 10^{11} , 10^{12} , 10^{13} инфекционных частиц, измеренных с помощью TCID₅₀. Например, первоначальная более высокая нагрузочная доза, за которой следуют одна или несколько более низких доз в соответствии со схемой введения данного изобретения, как описано выше, или наоборот, может быть полезной в зависимости от типа рака, подлежащего лечению. Ход этой терапии легко контролировать с помощью обычных методов и анализов. Эффективное количество или эффективная целевая концентрация рекомбинантного рабдовируса или рекомбинантного везикуловируса данного изобретения может быть выражена с помощью TCID₅₀. TCID₅₀ можно определить, например, с помощью метода Спирмена-Кербера (см. например, World J Virol 2016 May 12; 5(2): 85-86). Желательные диапазоны включают эффективную целевую концентрацию от 1×10^8 / мл до 1×10^{14} / мл TCID₅₀. Преимущественно, эффективная целевая концентрация составляет от приблизительно 1×10^9 до приблизительно 1×10^{12} / мл, и более предпочтительно от приблизительно 1×10^9 до приблизительно 1×10^{11} / мл. В одном варианте осуществления эффективная целевая концентрация составляет приблизительно 1×10^{10} / мл. В предпочтительном варианте осуществления целевая концентрация составляет 5×10^{10} /мл. В другом варианте осуществления эффективная целевая концентрация составляет приблизительно $1,5 \times 10^{11}$ / мл. В одном варианте осуществления эффективная целевая концентрация составляет приблизительно 1×10^{12} / мл. В другом варианте осуществления эффективная целевая концентрация составляет приблизительно $1,5 \times 10^{13}$ / мл. В альтернативном варианте, эффективная концентрация рекомбинантного рабдовируса желательно находится в интервале между приблизительно 10^8 и 10^{14} геномов вектора на миллилитр (гв.м.л), например, от приблизительно 10^9 гв.м.л, 10^{10} гв.м.л, 10^{11} гв.м.л до приблизительно 10^{12} гв.м.л, 10^{13} гв.м.л. Инфекционные единицы могут быть измерены, как описано в McLaughlin и соавт., J Virol.; 62(6): 1963-73 (1988).

В соответствии с одним вариантом осуществления, первый компонент (К) и второй компонент (V) вакцины для применения в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном описании, или каждая из первой и второй фармацевтических композиций данного изобретения может вводиться независимо внутритуморально («в.т.»), внутривенно («в.в.»), подкожно («п.к.»), внутримышечно («в.м.») или внутрибрюшинно («в.б.»), в эффективной дозе.

Однако предпочтительно, чтобы первый компонент (К) вакцины для применения в соответствии с данным изобретением вводился внутритуморально («в.т.»), подкожно («п.к.»), внутримышечно («в.м.») или внутривентриально («в.в.»), более предпочтительно подкожно («п.к.») или внутримышечно («в.м.»). Желательно, чтобы второй компонент (V) вакцины для применения в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном описании, или вторая фармацевтическая композиция данного изобретения вводилась внутривенно («в.в.»).

В другом родственном варианте осуществления, рекомбинантный рабдовирус, преимущественно онколитический рекомбинантный рабдовирус, рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, или вторая фармацевтическая композиция данного изобретения, как раскрыто в данном описании, вводились по меньшей мере один раз внутритуморально и впоследствии внутривенно. В дополнительном родственном варианте осуществления, последующее внутривенное введение рекомбинантного рабдовируса, в частности онколитического рекомбинантного рабдовируса, преимущественно рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, в частности онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, или второй фармацевтической композиции данного изобретения может происходить, например, в соответствии с графиком введения, раскрытым в настоящем документе.

Эффективная доза рекомбинантного рабдовируса, преимущественно онколитического рекомбинантного рабдовируса, как раскрыто в данном описании, или рекомбинантного VSV, преимущественно онколитического рекомбинантного VSV, как раскрыто в данном описании, или второго компонента (V) данного изобретения может быть, например, доставлена в объеме от приблизительно 50 мкл, 100 мкл, 150 мкл, 200 мкл, 250 мкл, 350 мкл, 500 мкл, 1 мл до приблизительно 2 мл, 2,5 мл, 3 мл, 4 мл, 5 мл, 7,5 мл, 10 мл, включая все количества в этом интервале, в зависимости от размера обрабатываемой области, используемого титра вируса, пути введения и желаемого эффекта метода. Для внутритуморальной доставки второго компонента (V) данного изобретения доставка или введение меньших объемов может быть желательна и/или выгодна, поскольку объем, который может быть доставлен внутритуморально, ограничен. В случаях, когда в опухоль может быть

введен только небольшой объем второго компонента (V) данного изобретения, может быть, например, выгодно нацелиться на опухоль несколькими инъекциями для доставки эффективного количества рекомбинантного рабдовируса, в частности онколитического рекомбинантного рабдовируса, или рекомбинантного VSV, в частности, онколитического рекомбинантного VSV, или второго компонента (V) данного изобретения. Количество данной фармацевтической композиции, которую можно вводить в опухоль, может быть ограничено таким образом, что можно вводить только недостаточные количества, например, второй фармацевтической композиции, которые не достигают желаемого терапевтического эффекта. В таких случаях может быть выгодно включать рекомбинантные гиалуронидазы во вторую фармацевтическую композицию, например, такую, как те, которые раскрыты в WO 2013/102144, для увеличения инъекционного объема второй фармацевтической композиции данного изобретения.

Для системного введения, например, путем инфузии второго компонента (V), как раскрыто в данном описании, или второй фармацевтической композиции данного изобретения, объемы введения могут быть, естественно, больше. Например, для внутривенного введения объем преимущественно составляет от 1 мл до 100 мл, включая объемы около 2 мл, 3 мл, 4 мл, 5 мл, 6 мл, 7 мл, 8 мл, 9 мл, 10 мл, 11 мл, 12 мл, 13 мл, 14 мл, 15 мл, 16 мл, 17 мл, 18 мл, 19 мл, 20 мл, 25 мл, 30 мл, 35 мл, 40 мл, 45 мл, 50 мл, 55 мл, 60 мл, 70 мл, 75 мл, 80 мл, 85 мл, 90 мл, 95 мл или около 100 мл. В предпочтительном варианте осуществления указанный объем составляет от приблизительно 5 мл до 15 мл, более предпочтительно указанный объем составляет приблизительно 6 мл, 7 мл, 8 мл, 9 мл, 10 мл, 11 мл, 12 мл, 13 мл или около 14 мл. Термин “эффективная доза”, как использовано в данном описании, представляет собой количество или концентрацию первого компонента (K) и/или второго компонента (V) вакцины по данному изобретению, которая оказывает желаемый терапевтический эффект.

Преимущественно один и тот же состав или, например, фармацевтическая композиция используется для интратуморального введения и внутривенного введения первого компонента (K) и второго компонента (V) вакцины по данному изобретению, или первой и второй фармацевтических композиций данного изобретения. Дозы и/или объемное соотношение между интратуморальным и внутривенным введением могут составлять около 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7,

1:8, 1:9, 1:10, 1:11, 1:12, 1:13, 1:14, 1:15, 1:16, 1:17, 1:18, 1:19 или около 1:20.

Например, соотношение доз и/или объемов 1:1 означает, что одни и те же дозы и/или объемы вводятся как внутритуморально, так и внутривенно, тогда как, например, соотношение доз и/или объемов около 1:20 означает дозу и/или объем
5 внутривенного введения, в двадцать раз превышающий дозу и/или объем внутритуморального введения. Преимущественно, соотношение доз и/или объема между внутритуморальным и внутривенным введением составляет примерно 1:9.

Дозировка вакцины данного изобретения, например, дозировка первого
10 компонента (K) и второго компонента (V) вакцины, которые будут вводиться индивидууму в виде однократной или многократной дозы, будет варьироваться в зависимости от множества факторов, включая фармакокинетические свойства, состояния и характеристики субъекта (пол, возраст, масса тела, состояние здоровья, размер), выраженность симптомов, одновременное лечение, частота
15 лечения и желаемый эффект.

В одном варианте осуществления настоящее изобретение обеспечивает рекомбинантный вирус везикулярного стоматита (“rVSV”), преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, как раскрыто
20 в данном описании. В частности, rVSV данного изобретения выбирают из группы, включающей такие как: вирус везикулярного стоматита Алагоас (VSAV), вирус Караяс (CJSV), вирус Чандипура (CHPV), вирус Кокал (COCV), вирус везикулярного стоматита Индиана (VSIV), вирус Исфахан (ISFV), вирус Мараба (MARAV), вирус везикулярного стоматита Нью-Джерси (VSNJV) или вирус Пири (PIRYV), более предпочтительно, рекомбинантный везикуловирус
25 данного изобретения выбирают из одного из вируса везикулярного стоматита Индиана (VSIV) или вируса везикулярного стоматита Нью-Джерси (VSNJV), особенно предпочтительно, rVSV в соответствии с данным изобретением представляет собой рекомбинантный вирус везикулярного стоматита Индиана (VSIV) или вирус везикулярного стоматита Нью-Джерси (VSNJV).

30 В одном варианте осуществления, rVSV данного изобретения, как описано выше, кодирует в своём геноме по меньшей мере нуклеопротеин (N), фосфопротеин (P), большой белок (L) и матриксный белок (M) вируса везикулярного стоматита, включая соответствующие функциональные варианты,

которые по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98% идентичны соответствующим последовательностям SEQ ID NO: 49, 50, 51, 52.

В одном варианте осуществления, гликопротеин G дикого типа rVSV, как раскрыто в данном описании, может быть, например, заменен на гликопротеин (GP) аренавируса, как описано выше, преимущественно на гликопротеин вируса Ласса (LASV), вируса Данденонг (DANDV), вируса Мопея (MOPV) или вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), как описано выше, особенно предпочтительно на гликопротеин вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), как описано выше.

10 Желательно, чтобы VSV гликопротеин G rVSV данного изобретения был заменен на гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), преимущественно на GP штамма WE-HPI, как раскрыто в WO 2010/04052 или WO2006/008074.

Гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV),
15 кодируемый вирусом rVSV данного изобретения, как описано выше, может представлять собой GP1 или GP2. Гликопротеин GP вируса rVSV по данному изобретению может, например, также включать гликопротеины из разных штаммов LCMV, которые могут быть получены из LCMV дикого типа или штаммов LCMV - LCMV-WE, LCMV-WE-HPI, LCMV-WE-HPIopt, как описано
20 выше. В предпочтительном варианте осуществления, ген, кодирующий гликопротеин GP вируса LCMV, кодирует белок с аминокислотной последовательностью, как показано в SEQ ID NO:53, или функциональным вариантом, содержащим аминокислотную последовательность, имеющую по меньшей мере 80, 85, 90, 95%, 98%, 99% идентичности последовательности с
25 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 53, имеющей функциональные свойства гликопротеина GP, кодирующего аминокислотную последовательность, показанную в SEQ ID NO: 53. Гликопротеин GP для применения в rVSV в соответствии с данным изобретением может быть, например, также получен из вируса Ласса (LASV) или вируса Мопея (MOPV),
30 как описано выше.

В соответствии с одним вариантом осуществления rVSV в соответствии с данным изобретением кодирует в своём геноме антигенный домен, как определено и раскрыто выше, который содержит по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, как описано выше, антигена, выбранного из группы,

состоящей из таких как: ASCL2, EpCAM, HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивин, CEA, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE A3, SART, мезотелин, NY-ESO-1, PRAME, WT-1 или его фрагмента, или варианта последовательности опухолевого антигена или варианта

5 последовательности его фрагмента, преимущественно по меньшей мере один эпитоп, как описано выше, антигена, выбранного из группы, состоящей из таких как: ASCL2, EpCAM, MUC-1, сурвивин, CEA, KRas, MAGE-A3 и IL13Ральфа2, преимущественно по меньшей мере один опухолевый эпитоп представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: ASCL2, EpCAM, MUC-1, сурвивин, CEA, KRas и MAGE-A3, более предпочтительно по 10 меньшей мере один опухолевый эпитоп представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: ASCL2, EpCAM, MUC-1, сурвивин и CEA и даже более предпочтительно по меньшей мере один опухолевый эпитоп представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, 15 состоящей из таких как: ASCL2, EpCAM, сурвивин и CEA, более предпочтительно по меньшей мере один эпитоп, как описано выше, антигена, выбранного из группы, состоящей из таких как: ASCL2, сурвивин и CEA.

В предпочтительном варианте осуществления, rVSV в соответствии с изобретением, как определено выше, кодирует в своём геноме антигенный домен, 20 содержащий эпитоп сурвивина, который предпочтительно содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 12, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности, более 25 предпочтительно аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 22, более предпочтительно аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 23 или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

30 В предпочтительном варианте осуществления, rVSV в соответствии с изобретением, как описано выше, кодирует в своём геноме антигенный домен, содержащий эпитоп CEA, который предпочтительно содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 24, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её

функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности, более предпочтительно аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 26 и или SEQ ID NO: 27, более предпочтительно аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 25 или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

5 В предпочтительном варианте осуществления, гVSV в соответствии с изобретением, как описано выше, кодирует в своём геноме антигенный домен, содержащий эпитоп ASCL2, который предпочтительно содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 15, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности, более
10 предпочтительно аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 16 и или SEQ ID NO: 17, более предпочтительно аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 18 или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.
15

20 В наиболее предпочтительном варианте осуществления данного изобретения, вирус везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80.

25 В дополнительном наиболее предпочтительном варианте осуществления данного изобретения, вирус везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80, при этом
30 вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50, нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49, матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52, большой

белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51, гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления, rVSV данного изобретения, как описано выше, кодирует в своём геноме антигенный домен, содержащий в направлении от N-конца к С-концу один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности; один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности; и один или несколько эпитопов ASCL2 или их вариантов функциональной последовательности.

Преимущественно, второй антигенный домен рекомбинантного вируса везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, второго компонента (V) содержит, преимущественно в направлении от N-конца к С-концу:

- пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 24, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности;

- пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 12, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности; и

- пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 15, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности.

Другими словами, желательно, чтобы рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, кодировал в своём геноме (второй) антигенный домен, содержащий преимущественно в направлении от N-конца к С-концу:

- пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 24, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей

мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности;

5 - пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 12, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности; и

10 - пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 15, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

15 Более конкретно, rVSV в соответствии с изобретением, как описано выше, кодирует в своем геноме (второй) антигенный домен, содержащий пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 24, или её фрагмента или варианта, в котором его С-конец непосредственно связан с N-концом пептида, состоящего из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 12, или её фрагмента или варианта; и С-конец

20 пептида, состоящего из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 12, или её фрагмента или варианта, непосредственно связан с N-концом пептида, состоящего из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 15, или её фрагмента или варианта.

25 Более конкретно, rVSV в соответствии с изобретением, как описано выше, кодирует в своём геноме (второй) антигенный домен, содержащий пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 25 или варианта её функциональной последовательности, имеющего по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности;

30 пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 23 или варианта её функциональной последовательности, имеющего по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности; и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 18 или варианта её

функциональной последовательности, имеющего по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

Особенно предпочтительно, гVSV в соответствии с изобретением, как описано выше, кодирует в своём геноме (второй) антигенный домен вируса гVSV данного изобретения, который содержит пептид, состоящий из
 5 аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 45 или варианта её функциональной последовательности, имеющего по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

В соответствии с некоторыми вариантами осуществления гVSV в
 10 соответствии с данным изобретением, как описано выше, может, например, кодировать в своём геноме полипептид, содержащий антигенный домен, как описано выше, и пептидный агонист TLR, ковалентно связанный с его N-концом или C-концом, преимущественно с его C-концом. Например, полипептид, кодируемый в геноме вируса гVSV, как описано выше, содержит антигенный
 15 домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45, и пептидный агонист TLR, как описано выше, более предпочтительно полипептид, кодируемый в геноме вируса гVSV, содержит антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45, и пептидный агонист TLR Анаха, состоящий из аминокислотной
 20 последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 7. Более предпочтительно, гVSV в соответствии с данным изобретением, как описано выше, может, например, кодировать полипептид, содержащий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 71.

Особенно предпочтительно, гVSV в соответствии с данным изобретением,
 25 как описано выше, кодирует в своём геноме фосфопротеин (P, VSV-P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из

MDNLTKVREYLKSYSRLDQAVGEIDEIEAQRAEKSNYELFQEDGVEEHTK
 PSYFQAADDSDTESEPEIEDNQGLYAPDPEAEQVEGFIQGPLDDYADEEVDVVF
 TSDWKQPELESDEHGKTLRLTSPEGLSGEQKSQWLSTIKAVVQSAKYWNLAEC
 30 TFEASGEGVIMKERQITPDVYKVTPVMNTHPSQSEAVSDVWLSKTSMTFQPKK
 ASLQPLTISLDELFSRGEFISVGGDGRMSHKEAILLGLRYKKLYNQARVKYSL,
 [SEQ ID NO: 54]

Кроме того, предпочтительно, чтобы rVSV в соответствии с данным изобретением, как описано выше, кодировал в своём геноме нуклеопротеин (N, VSV-N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из

MSVTVKRIIDNTVVVPKLPANEDPVEYPADYFRKSKEIPLYINTTKSLSDLR
 5 GYVYQGLKSGNVSIIHVNSYLYGALKDIRGKLDKDWSSFGINIGKAGDTIGIFDL
 VSLKALDGVLPDGVSDASRTSADDKWLPLYLLGLYRVGRTQMPEYRKKLMDG
 LTNQCKMINEQFEPLVPEGRDIFDVWGNDNSNYTKIVA AVDMFFHMFKKHECAS
 FRYGTIVSRFKDCAALATFGHLCKITGMSTEDVTTWILNREVADEMVMMLPG
 10 QEIDKADSYMPYLIDFGLSSKSPYSSVKNPAFHFWGQLTALLRSTRARNARQP
 DDIEYTSLT TAGLLYAYAVGSSADLAQQFCVGDNKYTPDDSTGGLTTNAPPQG
 RDVVEWLWGFEDQNRKPTPDMMQYAKRAVMSLQGLREKTIGKYAKSEFDK
 [SEQ ID NO: 55]

Кроме того, предпочтительно, чтобы rVSV в соответствии с данным изобретением, как описано выше, кодировал в своём геноме матриксный белок
 15 (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из

MSSLKKILGLKGGKSKKLGIAPPPYEEDTSMEYAPSAPIDKSYFGVDEM
 DTYDPNQLRYEKFFFTVKMTVRSNRPFRTYSDVAAAVSHWDHMYIGMAGKRP
 FYKILAFGLSSNLKATPAVLADQGPYHAHCEGRAYLPHRMGKTPPMLNVPE
 HFRPFNIGLYKGTIELTMTIYDDESLEAAPMIWDHFNSSKFSDFREKALMFGLI
 20 VEKKASGAWVLDSIGHFK*
 [SEQ ID NO: 56]

Кроме того, предпочтительно, чтобы rVSV в соответствии с данным изобретением, как описано выше, кодировал в своём геноме большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из

MEVHDFETDEFNDFNEDDYATREFLNPDERMTYLNHADYNLNSPLISDDI
 DNLIRKFNSLPIPSMWDSKNWDGVLEMLTSCQANPIPTSQMHKWMGSWLMSD
 NHDASQGY SFLHEVDKEAEITFDVVETFIRGWGNKPIEYIKKERWTD SFKILAYL
 CQKFLDLHKLTLILNAVSEVELLNLARTFKGKVRRSSHGTNICRIRVPSLGPTFIS
 EGWAYFKKLDILMDRNFLLMVKDVIIGRMQTVLSMVCRIDNLFSEQDIFSLJNI
 30 YRIGDKIVERQGNFSYDLIKMVEPICNLKLMKLARESRLVPQFPFHENIKTSV
 DEGAKIDRGIRFLHDQIMSVKTVDLTLVIYGSFRHWGHPFIDYYTGLEKLHSQVT
 MKKDIDVSYAKALASDLARIVLFQQFNDHKKWVFNGLLPHDHPFKSHVKENT
 WPTAAQVQDFGDKWHELPLIKCFEIPDLLDPSIIYSDKSHSMNRSEVLKHVRMN
 PNTPIPSKKVLQTM LDTKATNWKEFLKEIDEKGLDDDDLIIGLKGKERELKLAG

RFFSLMSWKLREYFVITEYLIKTHFVPMFKGLTMADDLTAVIKKMLDSSSGQGL
 KSYEAICIANHIDYEKWNNHQRKLSNGPVFRVMGQFLGYPSLIERTHEFFEKSLI
 YYNGRPDLMRVHNNTLINSTSQRVCWQQQEGGLEGLRQKGWSILNLLVIQREA
 KIRNTAVKVLAAQGDNVICTQYKTKKSRNVVELQGALNQMVSNNKIMTAIKI
 5 GTGKLGLLINDETMQSADYLNYGKIPFRGVIRGLETKRWSRVTCVTNDQIPTC
 ANIMSSVSTNALTVAHFAENPINAMIQYNYFGTFARLLLMMHDPALRQSLYEV
 QDKIPGLHSSTFKYAML YLDP SIGGVSGMSLSRFLIRAFPDPVTELSFWRFIVH
 ARSEHLKEMSAVFGNPEIAKFRITHIDKLVEDPTSLNIAMGMSPANLLKTEVKKC
 LIESRQTIRNQVIKDATIYLYHEEDRLRSFLWSINPLFPRFLSEFKSGTFLGVADGL
 10 ISLFQNSRTIRNSFKKKYHRELDLIVRSEVSSLTHLGKLHLRRGSCKMWTCSAT
 HADTLRYKSWGRTVIGTTVPHPLEMLGPQHRKETPCAPCNTSGFNYSVHCPD
 GIHDVFSSRGPLPAYLGSKTSESTSILQPWERESKVPLIKRATRLRDAISWFVEPD
 SKLAMTILSNIHSLTGEEWTKRQHGFKRTGSALHRFSTSRMSHGGFASQSTAAL
 TRLMATTD TMRDLGDQNFDFLFQATLLYAQITTTVARDGWITSCTDHYHIACKS
 15 CLRPIEEITLDSSMDYTPPDVSHVLK TWRNGEGSWGQEIKQIYPLEGNWKNLAP
 AEQSYQVGRGIGFLYGDLAYRKSTHAEDSSLFPLSIQGRIRGRGFLKGLLDGLMR
 ASCCQVIHRRSLAHLKRPANAVYGGLIYLIDKLSVSPFSLTRSGPIRDELETIPH
 KIPTSYP TSNRDMGVIVRNYFKYQCRLIEKGKYRSHYSQLWLFSDVLSIDFIGPFS
 ISTLLQILYKPF LSGKDKNELRELANLSSLLRSGEGWEDIHVKFFTKDILLCP EEI
 20 RHACKFGIAKDNNDMSYPPWGRESRG TITTIPVYYTTTPYPKMLEMPPRIQNP
 LLSGIRLGQLPTGAHYKIRSILHGMGIHYRDFLSCGDGSGGMTAALLRENVHSR
 GIFNSLLELSGSMRGASPEPPSALETGGDKSRCVNGETCWEYPSDLCDPRTW
 DYFLRLKAGLGLQIDLIVMDMEVRDSSTSLKIETNVRNYVHRILDEQGVLIYKT
 YGTYICESEKNAV TILGPMFKTVDLVQTEFSSSQ TSEVYMVCKGLKKLIDEPNPD
 25 WSSINESWKNLYAFQSSEQEFARAKKVSTYFTLTGIPSQFIPDPFVNIETMLQIFG
 VPTGVSHAAALKSSDRPADLLTISLFYMAIISYYNINHIRVGPIPPNPPSDGIAQNV
 GIAITGISFWLSLMEKDIPLYQQCLA VIQQSFPIRWEAVSVKGGYKQKWSTRGD
 GLPKDTRISDSLAPIGNWIRSLELVRNQVRLNPFNEILFNQLCRTVDNHLKWSNL
 RRNTGMIEWINRRISKEDRSILMLKSDLHEENSWRD

30 [SEQ ID NO: 57]

Кроме того, предпочтительно, чтобы rVSV в соответствии с данным
 изобретением, как описано выше, кодировал в своём геноме гликопротеин (GP),
 содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из

MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIIVLIITSIKAVYNFATCGILALVSFLFLAGR
 SCGMYGLNGPDIYKGVYQFKSVEFDMSHLNLTMPNACSANNSHHYISMGSSGL
 ELTFTNDSILNHNFCNLTSAFNKKTFDHTLMSIVSSLHLSIRGNSNHKAVSCDFN
 NGITIQYNLSFSDPQSAISQCRTFRGRVLDMFRТАFГGKYMRSGWGWAGSDGK
 5 TTWCSQTSYQYLIQNRTWENHCRYAGPFGMSRILFAQEKTКFLTRRLAGTFTW
 TLDSSGVENPGGYCLTKWMILAAELKCFGNTAVAKCNVNHDEEFCDMLRLID
 YNKAALSKFKQDVESALHVFKTTVNSLISDQLLMRNHLRDLMGVPYCNYSKFW
 YLEHAKTGETSVPKCWLVTNGSYLNETHFSDQIEQEADNMITEMLRKDYIKRQ
 GSTPLALMDLLMFSTAYLISIFLHLVKIPTHRHIKGGSCPКPHRLTNKGICSCGA
 10 FKVPGVKTIWKRR*

[SEQ ID NO: 58]

Кроме того, предпочтительно, чтобы rVSV в соответствии с данным изобретением, как описано выше, кодировал в своём геноме антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из

15 MANRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGAN
 LNLSCHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSI
 VKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGSАVKKQFEEL
 TLGEFLKLDREAAVARRNERERNRVKLVNLGFQALRQHVPHGASKKLSKVE
 TLRSАVEYIRALQRLLAEHDAVRNALAGGLRPQAVRPSAPRGPSEGALSPAERE
 20 LLDFSSWLGGY

[SEQ ID NO: 59], pVSV-GP128_-MAD_домен.

rVSV в соответствии с данным изобретением может, например, включать варианты функциональной последовательности каждой из последовательностей SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 57, SEQ ID NO: 58,
 25 SEQ ID NO: 59, как описано выше, которые по меньшей мере на 90%, 92.5%, 95%, 97%, 98%, 99% идентичны соответствующей последовательности, описанной выше. Следует понимать, что rVSV данного изобретения может кодировать в своем геноме один, два, три, четыре или все варианты последовательности SEQ ID NO: 54, SEQ ID NO: 55, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO:
 30 57, SEQ ID NO: 58, SEQ ID NO: 59, как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления, rVSV данного изобретения, как описано выше, кодирует в своём геноме антигенный домен, содержащий по меньше мере один антиген или антигенный домен, который идентичен в своей аминокислотной последовательности по меньше мере одному антигену или

антигенному домену первого компонента (К) вакцины по данному изобретению. rVSV данного изобретения, как описано выше, может, например, дополнительно кодировать в своём геноме один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять дополнительных антигенов или антигенных эпитопов, которые являются неидентичными в последовательности соответствующим антигенам или антигенным эпитопам, включенным в антигенный домен комплекса первого компонента (К) данного изобретения, как раскрыто в данном описании. Термин “неидентичные”, как использовано в данном описании, относится к последовательностям, отличающимся более чем на 10%, 15%, 20%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60% или 70% аминокислот соответствующего антигена или антигенного эпитопа. Относительные различия последовательностей между двумя антигенами или антигенными эпитопами, такими как, например, раскрытые в данном описании, можно определить с помощью алгоритма «BLAST», как раскрыто в данном описании.

В некоторых вариантах осуществления, рекомбинантный rVSV данного изобретения, как описано выше, или комплекс первого компонента (К), как раскрыто в данном описании, содержит, в дополнение к по меньшей мере одному антигену или антигенной последовательности, которая является идентичной, в последовательностях один, два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять или десять антигенов или антигенных эпитопов, последовательности которых не включены, или которые не идентичны в последовательности соответствующему антигенному домену или комплекса первого компонента (К) данного изобретения или антигенного домена вируса rVSV, как раскрыто в данном описании. Преимущественно, rVSV данного изобретения кодирует, например, в своём геноме антигенный домен, содержащий по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп СЕА, как описано выше, который является идентичным в последовательности антигену или антигенному эпитопу СЕА, включенному в антигенный домен комплекса первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением, или rVSV данного изобретения кодирует в своём геноме антигенный домен, содержащий по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп сурвивина, как описано выше, который является идентичным в последовательности антигену или антигенному эпитопу сурвивина, включенному в антигенный домен комплекса первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением, или rVSV данного изобретения кодирует в

своём геноме антигенный домен, содержащий по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп ASCL2, как описано выше, который является идентичным в последовательности антигену или антигенному эпитопу ASCL2, включенному в антигенный домен комплекса первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением, более предпочтительно гVSV данного изобретения кодирует в своём геноме антигенный домен, содержащий по меньшей мере два антигена или антигенных эпитопа СЕА и сурвивина, как описано выше, которые являются идентичными в последовательности антигену или антигенному эпитопу СЕА и сурвивина, включенному в антигенный домен комплекса первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением, или гVSV данного изобретения кодирует в своём геноме антигенный домен, содержащий по меньшей мере два антигена или антигенных эпитопа СЕА и ASCL2, как описано выше, которые являются идентичными в последовательности антигену или антигенному эпитопу СЕА и ASCL2, включенному в антигенный домен комплекса первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением, или гVSV данного изобретения кодирует в своём геноме антигенный домен, содержащий по меньшей мере два антигена или антигенных эпитопа сурвивина и ASCL2, как описано выше, которые являются идентичными в последовательности антигену или антигенному эпитопу сурвивина и ASCL2, включенному в антигенный домен комплекса первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением, особенно преимущественно, гVSV данного изобретения кодирует в своём геноме антигенный домен, содержащий по меньшей мере три антигена или антигенных эпитопа СЕА, сурвивина и ASCL2, как описано выше, которые являются идентичными в последовательности антигенам или антигенным эпитопам СЕА, сурвивина и ASCL2, включенным в антигенный домен комплекса первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением. Следует понимать, что гVSV в соответствии с данным изобретением, как описано выше, или комплекс первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением, как описано выше, может содержать дополнительные антигены или антигенные эпитопы, которые не включены, или которые являются неидентичными в последовательности в комплексе первого компонента (К) или гVSV данного изобретения.

Настоящее изобретение также обеспечивает рекомбинантный вирус вирускулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный

вирус везикулярного стоматита, как описано выше, в частности, для применения в вакцине настоящего изобретения. Понятно, что варианты осуществления и предпочтительные или подробные аспекты вируса, описанного выше, в контексте вакцины, применяют соответственно к рекомбинантному вирусу везикулярного стоматита, преимущественно онколитическому рекомбинантному вирусу везикулярного стоматита, настоящего изобретения. В частности, настоящее изобретение также обеспечивает рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, кодирующий в своем геноме по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, как описано выше, для комплекса/первого компонента (К), причем ген, кодирующий гликопротеин G вируса везикулярного стоматита, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и/или гликопротеин G замещен гликопротеином GP вируса LCMV. Указанный рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, может кодировать в своем геноме нуклеопротеин (N), большой белок (L), фосфопротеин (P), матриксный белок (M), гликопротеин (G) вируса везикулярного стоматита и по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, как описано выше, для комплекса/первого компонента (К), причем ген, кодирующий гликопротеин G вируса везикулярного стоматита, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и/или гликопротеин G замещен гликопротеином GP вируса LCMV.

В некоторых вариантах осуществления, rVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании, предназначен для применения в вакцине, как описано выше. Соответственно, рекомбинантный вирус везикулярного стоматита для применения в соответствии с данным изобретением преимущественно включен в / входит в состав второго компонента (V) вакцины по данному изобретению. Например, рекомбинантный вирус везикулярного стоматита в соответствии с изобретением, включенный в вакцину данного изобретения, может быть, например, включен в фармацевтическую композицию, как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический вирус везикулярного стоматита, в

соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном описании, может быть предназначен для применения в комбинации с комплексом первого компонента (К), как раскрыто в данном описании, необязательно в комбинации с химиотерапевтическим агентом, иммунотерапевтическим агентом, таким как ингибитор контрольной точки иммунного ответа, или таргетным лекарственным средством. Соответственно, комплекс первого компонента (К) в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном описании, может быть предназначен для применения в комбинации с рекомбинантным вирусом везикулярного стоматита, преимущественно онколитическим рекомбинантным вирусом везикулярного стоматита, вакцины, как раскрыто в данном описании, необязательно в комбинации с химиотерапевтическим агентом, иммунотерапевтическим агентом, таким как ингибитор контрольной точки иммунного ответа, или таргетным лекарственным средством, как раскрыто в данном описании.

В некоторых вариантах осуществления вакцины по данному изобретению комплекс первого компонента (К) состоит из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 60 и рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, второго компонента (V) кодирует в своём геноме

- фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 54,
- нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 55,
- матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 56,
- большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 57
- гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 58, и
- антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 59.

Набор из частей

В дополнительном аспекте настоящее изобретение также обеспечивает набор из частей, который содержит:

(1) первый компонент (K), содержащий комплекс, где указанный комплекс содержит или состоит из:

- 5 (i) проникающего в клетку пептида;
- (ii) антигенного домена, содержащего по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп; и
- (iii) по меньшей мере одного пептидного агониста TLR, где компоненты i) – iii) являются ковалентно связанными, и

10 (2) второй компонент (V), содержащий рабдовирус, преимущественно онколитический рабдовирус.

В целом, подробное описание и варианты осуществления, описанные в этом документе, для первого компонента (K) вакцины применимы соответственно к первому компоненту (K) набора из частей. Аналогично, подробное описание и варианты осуществления, описанные в этом документе, для второго компонента (V) вакцины применимы соответственно ко второму компоненту (V) набора из частей. В частности, рабдовирус, преимущественно онколитический рабдовирус, второго компонента (V) может кодировать антигенный домен, или по меньшей мере один антиген (фрагмент) или его антигенный эпитоп, комплекса первого компонента (K), как раскрыто в данном описании, для вакцины. Другими словами, по меньшей мере один соответствующий антиген (фрагмент) или эпитоп может быть (i) включен в комплекс первого компонента (K) и (ii) может кодироваться (например, в геноме) рабдовирусом, преимущественно онколитическим рабдовирусом, второго компонента (V) (то есть вирус может быть способен экспрессировать указанный антиген (фрагмент) или эпитоп).
20
25
Дополнительная информация касательно первого и второго компонента, включая соответствующие антигены, а также относительно его медицинского использования и введения, как раскрыто в данном описании, также применима к набору.

30 В некоторых вариантах осуществления, указанный набор содержит отдельные контейнеры, при этом первый контейнер содержит первый компонент (K) (но не второй компонент (V)), а второй контейнер содержит второй компонент (V) (но не первый компонент (K)).

Например, набор из частей может содержать:

(1) комплекс первого компонента (К), содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 60; и

(2) рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, второго компонента (V), кодирующий в своем геноме

- фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 54,

- нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 55,

- матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 56,

- большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 57

- гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 58, и

- антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 59.

В некоторых вариантах осуществления набор из частей может содержать:

(1) комплекс первого компонента (К), содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 60; и

(2) рабдовирус, преимущественно онколитический рабдовирус, второго компонента (V) (представляющий собой вирус везикулярного стоматита), в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80,

преимущественно при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме

- фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50,

- нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49,

- матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52,

- большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51,

- гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и

5 - антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение обеспечивает набор частей, содержащих полипептид и вирус везикулярного стоматита, где указанный полипептид содержит или состоит из аминокислотной

10 последовательности SEQ ID NO: 60, и в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80.

15 В предпочтительном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает набор частей, содержащих полипептид и вирус везикулярного стоматита, где указанный полипептид содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60, и в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК,

20 идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80, при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50,

25 нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49, матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52, большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51, гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную

30 последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

Кроме того, набор из частей может содержать дополнительный компонент, например, как описано в отношении комбинаций ниже. В частности, набор из

частей может содержать химиотерапевтический агент, иммунотерапевтический агент (например, ингибитор контрольной точки иммунного ответа) или таргетное лекарственное средство, как раскрыто в данном описании (например, для комбинации). Преимущественно, набор из частей дополнительно содержит ингибитор контрольной точки иммунного ответа пути PD-1/PD-L1, который может быть выбран из группы, состоящей из таких как: пембролизумаб; ниволумаб; пидилизумаб; цемиплимаб; PDR-001; атезолизумаб; авелумаб; дурвалумаб, антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:63, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:64; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:65, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:68; и антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70.

В некоторых вариантах осуществления набор из частей содержит антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62. В некоторых вариантах осуществления набор из частей содержит антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:63, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:64. В некоторых вариантах осуществления набор из частей содержит антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:65, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66. В некоторых вариантах осуществления набор из частей содержит антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67, и легкую цепь, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO:68. В некоторых вариантах осуществления набор из частей содержит антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70.

5 В некоторых вариантах осуществления, указанный набор дополнительно содержит по меньшей мере один из химиотерапевтического агента, ингибитора контрольной точки иммунного ответа, таргетного лекарственного средства или иммунотерапевтического агента, как раскрыто в данном описании, например, для применения в комбинации с вакциной.

10 **Медицинские применения**

Вакцина данного изобретения эффективно индуцирует лизис опухолевых клеток и характеризуется высокой иммуногенностью, т.е. длительным иммунным ответом Т-клеток CD8 против по меньшей мере одного антигена или антигенного эпитопа, входящего в состав антигенного домена вакцины по
15 данному изобретению. Соответственно, вакцина данного изобретения полезна при лечении и/или профилактике опухолей, как раскрыто в данном описании.

Таким образом, в одном аспекте настоящее изобретение относится к способу лечения пациента, которому это необходимо, страдающего от опухоли или рака, при этом способ включает введение указанному пациенту вакцины
20 данного изобретения как раскрыто в данном описании. Другими словами, настоящее изобретение включает способ лечения (пациента, которому это необходимо, страдающего от) опухоли или рака, где указанный способ включает введение указанному пациенту (эффективного количества) вакцины.

Настоящее изобретение также обеспечивает
25 - вакцину, как раскрыто в данном описании,
- (онколитический рекомбинантный везикулярного стоматита) вирус, как раскрыто в данном описании,
- набор, как раскрыто в данном описании

для применения в медицине. В частности, вакцина, (онколитический
30 рекомбинантный везикулярного стоматита) вирус или набор, как раскрыто в данном описании, может быть предназначен для применения в лечении и/или предотвращении (или профилактике) опухоли или рака, в частности у пациента, которому это необходимо.

Для применений и способов, описанных в настоящем документе, опухоль может быть выбрана из эндокринных опухолей, опухолей желудочно-кишечного тракта, мочеполовых и гинекологических опухолей, рака молочной железы, опухолей головы и шеи, гемопозитических опухолей, кожных опухолей, торакальных опухолей и опухолей дыхательных путей. В некоторых вариантах осуществления опухоль или рак выбирают из группы опухолей желудочно-кишечного тракта, включая рак анального канала, рак аппендикса, холангиокарциному, карциноидную опухоль, рак кишечника желудочно-кишечного тракта, рак внепеченочных желчных протоков, рак желчного пузыря, гастральный рак (желудка), карциноидную опухоль желудочно-кишечного тракта, стромальную опухоль желудочно-кишечного тракта (GIST), гепатоцеллюлярный рак, рак поджелудочной железы, рак прямой кишки, колоректальный рак или метастатический колоректальный рак. Преимущественно, опухоль относится к колоректальному раку или метастатическому колоректальному раку.

В некоторых вариантах осуществления каждый из первого компонента (K) и второго компонента (V) вакцины вводят по меньшей мере один раз. В некоторых вариантах осуществления, первый компонент (K) вводят до введения второго компонента (V). В частности, первый компонент (K) может быть введен по меньшей мере два раза, преимущественно до и после введения второго компонента (V). Преимущественно, первый компонент (K) и второй компонент (V) вводят в порядке K-V-K, K-V-K-K, K-V-V-K, более предпочтительно в порядке K-V-K или K-V-K-K. В некоторых случаях первый компонент (K) и второй компонент (V) вакцины могут быть введены в порядке: сначала первый компонент (K), потом второй компонент (V), преимущественно в порядке K-V-K.

В некоторых вариантах осуществления, первый компонент (K) и второй компонент (V) вакцины вводят последовательно, например, первый компонент (K) и второй компонент (V) вводят с разницей между введениями в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21 день, преимущественно с разницей один от другого от приблизительно 5, 6, 7, 8, 9, 10 дней до приблизительно 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 дней, преимущественно от приблизительно 11, 12, 13, 14 дней до приблизительно 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 дней. В некоторых вариантах осуществления первый компонент (K) и второй компонент (V) вводят с разницей между введениями от приблизительно 7 дней до приблизительно 30

дней. Преимущественно, первый компонент (К) вводят по меньшей мере один раз через от приблизительно 10, 11, 12, 13, 14 дней до приблизительно 20, 22, 24, 26, 28, 30 дней после введения второго компонента (V). В некоторых вариантах осуществления первый компонент (К) может быть введен по меньшей мере один раз через от приблизительно 21 дня до приблизительно 180 дней после последнего введения первого компонента (К).

В некоторых вариантах осуществления, указанную вакцину вводят вместе с одним или больше из таких как: иммунотерапевтический агент, такой как ингибитор контрольной точки иммунного ответа, химиотерапевтический агент или таргетное лекарственное средство, как раскрыто в данном описании. Модулятор контрольной точки может быть введен одновременно, последовательно, поочередно или после введения указанной вакцины. В некоторых вариантах осуществления, модулятор контрольной точки вводят предварительно от приблизительно 1 до приблизительно 14 дней до введения вакцины.

Преимущественно, первый компонент (К) и второй компонент (V) вакцины вводят внутривенно, подкожно или внутримышечно. Первый компонент (К) и второй компонент (V) вакцины преимущественно вводят разными путями введения. В некоторых вариантах осуществления, первый компонент (К) вакцины вводят внутримышечно, а второй компонент (V) вакцины вводят внутривенно или внутритуморально, преимущественно, внутривенно.

В некоторых вариантах осуществления доза комплекса в первом компоненте (К) может составлять от приблизительно 0,5 нмоль до приблизительно 10 нмоль. Другими словами, предпочтительно вводят от приблизительно 0,5 нмоль до приблизительно 10 нмоль комплекса первого компонента (К) вакцины.

В некоторых вариантах осуществления доза гVSV второго компонента (V) вакцины может составлять от приблизительно 10^6 TCID₅₀ до приблизительно 10^{11} TCID₅₀. Другими словами, рекомбинантный VSV второго компонента (V) вакцины дозируют от приблизительно 10^6 TCID₅₀ до приблизительно 10^{11} TCID₅₀.

В частности (в контексте вакцины для применения в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном описании; вирус для применения в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном описании; комплекс первого компонента (К) для применения в соответствии с данным

изобретением, как раскрыто в данном описании; способ для применения в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном описании; набор для применения в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном описании; или полипептид для применения в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном описании), первый компонент (K) и второй компонент (V) вводят в виде гетерологичной прайм-буст вакцины.

В одном аспекте данного изобретения пациент, которого лечат вакциной, как раскрыто в данном описании, страдает от рака молочной железы, в том числе трижды негативного рака молочной железы, рака желчевыводящих путей; рака мочевого пузыря; рака головного мозга, включая глиобластомы и медуллобластомы; рака шейки матки; хориокарциномы; рака толстой кишки; рака эндометрия; рака пищевода; гастрального рака (желудка); гастроинтестинальной стромальной опухоли (GIST), рака аппендицита, холангиокарциномы, карциноидной опухоли, желудочно-кишечного рака кишечника, рака внепеченочных желчных протоков, рака желчного пузыря, гастрального рака (желудка), карциноидной опухоли желудочно-кишечного тракта, колоректального рака или метастатического колоректального рака, гематологических новообразований, включая острый лимфоцитарный и миелогенный лейкоз; Т-клеточного острого лимфобластного лейкоза/лимфомы; волосатоклеточного лейкоза; хронического миелогенного лейкоза, множественной миеломы; СПИД-ассоциированных лейкозов и Т-клеточной лейкозной лимфомы взрослых; внутриэпителиальных новообразований, включая болезнь Боуэна и болезнь Педжета; рака печени; рака легкого, включая немелкоклеточный рак легкого, лимфом, включая болезнь Ходжкина и лимфоцитарные лимфомы; нейробластом; глиобластомы, рака ротовой полости, включая плоскоклеточную карциному; рака яичников, в том числе возникающего из эпителиальных клеток, стромальных клеток, зародышевых клеток и мезенхимальных клеток; рака поджелудочной железы; рака простаты; рака прямой кишки; сарком, включая лейомиосаркому, рабдомиосаркому, липосаркому, фибросаркому и остеосаркому; рака кожи, включая меланому, карциному из клеток Меркеля, саркому Капоши, базальноклеточную карциному и плоскоклеточный рак; рака яичка, включая зародышевые опухоли, такие как семинома, несеминома (тератомы, хориокарциномы), стромальные опухоли и опухоли зародышевых клеток; рак щитовидной железы, включая

аденокарциному щитовидной железы и медуллярную карциному; и рак почки, включая аденокарциному и опухоль Вильмса.

В одном аспекте пациент, которого нужно лечить вакциной данного изобретения, страдает от поздней стадии колоректального рака (CRC) или поздней стадии метастатического колоректального рака (mCRC), при этом термин «поздняя стадия» CRC, mCRC включает Стадию IIIС: Т4а, N2а, M0 или Т3-Т4а, N2b, M0 или Т4b, N1-N2, M0; Стадию IVA: любую Т, любую N, M1а и Стадию IVB: любую Т, любую N, M1b (в соответствии со стадией TNM), при этом опухоль CRC или mCRC может быть, например, «микросателлитно-стабильной» (MSS) или микросателлитно-нестабильной» (MSI), преимущественно опухоль CRC или mCRC является MSS:

Соответственно, вакцина данного изобретения, как описано выше, может быть, например, введена пациенту, страдающему от опухоли/рака, в соответствии со схемой введения, как раскрыто в данном описании.

В одном аспекте, и первый компонент (К) и второй компонент (V) вакцины данного изобретения могут быть введены независимо пациенту, которому это необходимо, например, внутритуморально («в.т.»), внутривенно («в.в.»), подкожно («п.к.»), внутримышечно («в.м.»), или внутрибрюшинно («в.б.»), в эффективной дозе. Однако, желательно, чтобы первый компонент (К) вакцины для применения в соответствии с данным изобретением вводили внутритуморально («в.т.»), подкожно («п.к.»), внутримышечно («в.м.») или внутрибрюшинно («в.б.»), более предпочтительно подкожно («п.к.»), внутримышечно («в.м.»), как описано выше, и в соответствии со схемой введения, как раскрыто в данном описании. Пациенту, которого необходимо лечить, можно, например, вводить первый компонент (К) и второй компонент (V) вакцины, как описано выше.

Комбинации

Настоящее изобретение также обеспечивает комбинированное лечение вакциной, как раскрыто в данном описании, и способы, обеспечивающие определенные преимущества по сравнению с лечением или способами, используемыми в настоящее время и/или известными в предшествующем уровне техники. Эти преимущества могут, например, включать эффективность *in vivo* (например, улучшенный клинический ответ, расширение ответа, увеличение скорости ответа, продолжительность ответа, скорость стабилизации заболевания,

продолжительность стабилизации, время до прогрессирования заболевания, выживаемость без прогрессирования (PFS) и/или общую выживаемость (OS), более позднее появление резистентности и т.п.), безопасное и хорошо переносимое введение и снижение частоты и тяжести нежелательных явлений.

5 Вакцина для применения в соответствии с данным изобретением может, например, использоваться в комбинации с другими фармакологически активными агентами, такими как современные или стандартные соединения. Такие соединения включают, например, цитостатические или цитотоксические вещества, ингибиторы клеточной пролиферации, антиангиогенные вещества,
10 стероиды, иммуномодуляторы/модуляторы контрольных точек, как описано выше.

 Следует понимать, что вышеуказанные фармакологически активные агенты можно вводить одновременно, последовательно, поочередно с вакциной для применения в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном
15 описании. Фармакологически активные агенты можно, например, также вводить в качестве стандартного лечения до или после лечения вакциной данного изобретения.

 В контексте настоящего изобретения желательно, чтобы вакцину для применения в соответствии с данным изобретением объединяли с одним или
20 несколькими химиотерапевтическими агентами, такими как, например, описанные выше.

 В соответствии с одним вариантом осуществления, желательно, чтобы вакцину для применения в соответствии с данным изобретением, или её первый (К) или второй (V) компонент, или гVSV данного изобретения, как раскрыто в
25 данном описании, объединяли с (т.е. для применения в комбинации с) химиотерапевтическим агентом, иммунотерапевтическим агентом, таким как ингибитор контрольной точки иммунного ответа, или таргетным лекарственным средством, как раскрыто в данном описании.

 Термин “иммунотерапевтический агент”, как использовано в контексте
30 настоящего изобретения, относится к любому веществу, которое индуцирует, усиливает, восстанавливает или подавляет иммунную систему хозяина, или к агенту, который использует компонент иммунной системы или получен из него. Иммунотерапевтические агенты для применения (в медицине) в комбинации с вакциной данного изобретения могут быть выбраны из известных

иммунотерапевтических агентов. Преимущественно, иммунотерапевтический агент выбирают из группы, включающей интерферон, интерлейкин или фактор некроза опухоли, химерные антигенные рецепторы (CAR) или модуляторы контрольной точки.

5 Как использовано в данном описании, термин "модулятор контрольной точки" (также называемый "модулятор контрольной точки иммунного ответа") относится к молекуле или к соединению, которое модулирует (*например*,
10 полностью или частично снижает, ингибирует, препятствует, активирует, стимулирует, увеличивает, усиливает или поддерживает) функцию одной или нескольких молекул контрольной точки. Таким образом, модулятор контрольной точки иммунного ответа может представлять собой "ингибитор контрольной точки иммунного ответа" (также называемый "ингибитор контрольной точки" или "ингибитор") или "активатор контрольной точки иммунного ответа" (также называемый "активатор контрольной точки" или "активатор"). "Ингибитор
15 контрольной точки иммунного ответа" (также называемый "ингибитор контрольной точки" или "ингибитор") полностью или частично снижает, ингибирует, препятствует или отрицательно модулирует функцию одной или нескольких молекул контрольной точки. "Активатор контрольной точки иммунного ответа" (также называемый "активатор контрольной точки" или
20 "активатор") полностью или частично активирует, стимулирует, увеличивает, усиливает, поддерживает или положительно модулирует функцию одной или нескольких молекул контрольной точки. Модуляторы контрольной точки обычно способны модулировать (i) самопереносимость и/или (ii) амплитуду и/или продолжительность иммунного ответа. Преимущественно, модулятор
25 контрольной точки иммунного ответа, используемый в соответствии с настоящим изобретением, модулирует функцию одной или нескольких молекул контрольной точки человека и, таким образом, является «человеческим ингибитором контрольной точки».

30 Молекулы контрольных точек представляют собой молекулы, такие как белки, которые обычно участвуют в иммунных путях и, например, регулируют активацию Т-клеток, пролиферацию Т-клеток и/или функцию Т-клеток. Соответственно, функция молекул контрольных точек, которая модулируется (например, полностью или частично снижается, ингибируется, препятствуется, активируется, стимулируется, увеличивается, усиливается или поддерживается)

с помощью модуляторов контрольной точки, обычно представляет собой (регуляцию) активацию Т-клеток, пролиферацию Т-клеток и/или функцию Т-клеток. Таким образом, молекулы контрольных точек иммунного ответа регулируют и поддерживают самопереносимость, а также продолжительность и амплитуду физиологических иммунных ответов. Многие из молекул иммунных контрольных точек принадлежат к семейству В7:CD28 или к суперсемейству рецепторов фактора некроза опухоли (TNFR) и путем связывания специфических лигандов активируют сигнальные молекулы, которые рекрутируются в цитоплазматический домен.

10 Рецепторы искусственных Т-клеток (также известные как химерные рецепторы Т-клеток, химерные иммунорецепторы, химерные антигенные рецепторы (CAR)) представляют собой сконструированные рецепторы, которые прививают произвольную специфичность иммунной эффекторной клетке. Искусственные Т-клеточные рецепторы (CAR) являются предпочтительными в контексте адоптивного переноса клеток. С этой целью у пациента удаляют Т-клетки и модифицируют их таким образом, чтобы они экспрессировали рецепторы, специфичные для колоректального рака. Т-клетки, которые затем могут распознавать и убивать раковые клетки, повторно вводятся пациенту.

20 Преимущественно, модулятор контрольной точки иммунного ответа (для применения в комбинации с вакциной данного изобретения, первый компонент (К) в соответствии с данным изобретением, второй компонент (V) в соответствии с данным изобретением, или rVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании, для применения в медицине, в частности в лечении и/или предотвращении опухоли или рака, как раскрыто в данном описании) представляет собой активатор или ингибитор одной или нескольких молекул контрольной точки иммунного ответа, выбранный из CD27, CD28, CD40, CD122, CD137, OX40, GITR, ICOS, A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CD40, CTLA-4, IDO, KIR, LAG3, PD-1, TIM-3, VISTA, CEACAM1, GARP, PS, CSF1R, CD94/NKG2A, TDO, GITR, TNFR и/или FasR/DcR3; или активатор или ингибитор одного или 25
30 нескольких их лигандов.

 Более предпочтительно, модулятор контрольной точки иммунного ответа представляет собой активатор (ко-)стимулирующей молекулы контрольной точки или ингибитор ингибирующей молекулы контрольной точки или их комбинацию. Соответственно, модулятор контрольной точки иммунного ответа

представляет собой более предпочтительно (i) активатор CD27, CD28, CD40, CD122, CD137, OX40, GITR и/или ICOS или (ii) ингибитор A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CD40, CTLA-4, IDO, KIR, LAG3, PD-1, PDL-1, PD-L2, TIM-3, VISTA, CEACAM1, GARP, PS, CSF1R, CD94/NKG2A, TDO, TNFR и/или FasR/DcR3.

5 Даже более предпочтительно, модулятор контрольной точки иммунного ответа представляет собой ингибитор ингибирующей молекулы контрольной точки (но преимущественно не ингибитор стимулирующей молекулы контрольной точки). Соответственно, модулятор контрольной точки иммунного
 10 ответа представляет собой даже более предпочтительно ингибитор A2AR, B7-H3, B7-H4, BTLA, CTLA-4, IDO, KIR, LAG3, PD-1, PDL-1, PD-L2, TIM-3, VISTA, CEACAM1, GARP, PS, CSF1R, CD94/NKG2A, TDO, TNFR и/или DcR3 или их лиганд.

Также желательно, чтобы модулятор контрольной точки иммунного ответа представлял собой активатор стимулирующей или костимулирующей молекулы
 15 контрольной точки (но преимущественно не активатор ингибирующей молекулы контрольной точки). Соответственно, модулятор контрольной точки иммунного ответа представляет собой более предпочтительно активатор CD27, CD28, CD40, CD122, CD137, OX40, GITR и/или ICOS или их лиганд.

Еще более предпочтительно, чтобы модулятор контрольной точки
 20 иммунного ответа был модулятором пути CD40, пути IDO, пути CTLA-4 и/или пути PD-1. В частности, модулятор контрольной точки иммунного ответа представляет собой преимущественно модулятор CD40, CTLA-4, PD-L1, PD-L2, PD-1 и/или IDO, более предпочтительно модулятор контрольной точки иммунного ответа представляет собой ингибитор CTLA-4, PD-L1, PD-L2, PD-1
 25 и/или IDO или активатор CD40, даже более предпочтительно модулятор контрольной точки иммунного ответа представляет собой ингибитор CTLA-4, PD-L1, PD-1 и/или IDO и наиболее предпочтительно модулятор контрольной точки иммунного ответа представляет собой ингибитор CTLA-4 и/или PD-1.

Даже более предпочтительно, чтобы модулятор контрольной точки
 30 иммунного ответа представлял собой модулятор пути CD40, пути IDO, пути LAG3, пути CTLA-4 и/или пути PD-1. В частности, модулятор контрольной точки иммунного ответа представляет собой преимущественно модулятор CD40, LAG3, CTLA-4, PD-L1, PD-L2, PD-1 и/или IDO, более предпочтительно модулятор контрольной точки иммунного ответа представляет собой ингибитор

CTLA-4, PD-L1, PD-L2, PD-1, LAG3, и/или IDO или активатор CD40, даже более предпочтительно модулятор контрольной точки иммунного ответа представляет собой ингибитор CTLA-4, PD-L1, PD-1, LAG3 и/или IDO, даже более предпочтительно модулятор контрольной точки иммунного ответа представляет собой ингибитор LAG3, CTLA-4 и/или PD-1, и наиболее предпочтительно модулятор контрольной точки иммунного ответа представляет собой ингибитор CTLA-4 и/или PD-1.

Соответственно, модулятор контрольной точки (для применения в комбинации с вакциной данного изобретения, первый компонент (K) в соответствии с данным изобретением, второй компонент (V) в соответствии с данным изобретением, или rVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании, для применения в медицине, в частности в лечении и/или предотвращении опухоли или рака, как раскрыто в данном описании) может быть выбран из известных модуляторов пути CD40, пути CTLA-4 или пути PD-1. Преимущественно, модулятор контрольной точки для комбинации с комплексом, как определено в данном описании, для лечения опухоли или рака, может быть выбран из известных модуляторов пути CD40, пути LAG3, пути CTLA-4 или пути PD-1. Особенно предпочтительно, модулятор контрольной точки иммунного ответа представляет собой ингибитор PD-1. Предпочтительные ингибиторы пути CTLA-4 и пути PD-1 включают моноклональные антитела Ервой (Yervoy)[®] (Ипилимумаб; Bristol Myers Squibb) и Тремелимумаб (Pfizer/MedImmune), а также Опдиво (Opdivo)[®] (Ниволумаб; Bristol Myers Squibb), Кейтруда (Keytruda)[®] (Пембролизумаб; MSD), Дурвалумаб (MedImmune/AstraZeneca), MEDI4736 (AstraZeneca; ср. WO 2011/066389 A1), MPDL3280A (Roche/Genentech; ср. US 8,217,149 B2), Пидилизумаб (CT-011; CureTech), MEDI0680 (AMP-514; AstraZeneca), авелумаб (Merck KGaA/Pfizer), МИН1 (Affymetrix) и Ламбролизумаб (например, раскрытый как hPD109A и его гуманизированные производные h409A11, h409A16 и h409A17 в WO2008/156712; Hamid et al., 2013; N. Engl. J. Med. 369: 134-144). Более предпочтительные ингибиторы контрольной точки включают ингибиторы CTLA-4 Ервой[®] (Ипилимумаб; Bristol Myers Squibb) и Тремелимумаб (Pfizer/MedImmune), а также ингибиторы PD-1 Опдиво[®] (Ниволумаб; Bristol Myers Squibb), Кейтруда[®] (Пембролизумаб; MSD), Пидилизумаб (CT-011; CureTech), MEDI0680 (AMP-514; AstraZeneca), AMP-224 и Ламбролизумаб (например, раскрытый как hPD109A и

его гуманизированные производные h409A11, h409A16 и h409A17 в WO2008/156712; Hamid O. et al., 2013; N. Engl. J. Med. 369: 134-144). Как описано выше, предпочтительный пример ингибитора LAG3 представляет собой анти-LAG3 моноклональное антитело BMS-986016 (Bristol-Myers Squibb).

5 Другие предпочтительные примеры ингибитора LAG3 включают LAG525 (Novartis), IMP321 (Immutep) и LAG3-Ig, как раскрыто в WO 2009/044273 A2 и в Brignon et al., 2009, Clin. Cancer Res. 15: 6225-6231, а также мышинные или гуманизированные антитела, блокирующие LAG3 человека (например, IMP701, как описано в WO 2008/132601 A1), или полностью человеческие антитела,
10 блокирующие LAG3 человека (такие как раскрытые в EP 2320940 A2).

Особенно предпочтительными являются ингибиторы контрольной точки пути PD-1/PD-L1 (для применения, например, в медицине, в комбинации с вакциной данного изобретения, первый компонент (K) в соответствии с данным изобретением, второй компонент (V) в соответствии с данным изобретением,
15 набор в соответствии с данным изобретением, или rVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании). Предпочтительные примеры ингибиторов контрольной точки пути PD-1/PD-L1 (для применения в комбинации в соответствии с данным изобретением) включают, например, пембролизумаб (анти-PD-1 антитело); ниволумаб (анти-PD-1 антитело); пидилизумаб (анти-PD-1
20 антитело); цемиплимаб (анти-PD-1 антитело), PDR-001 (анти-PD-1 антитело); PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4 и PD1-5, как раскрыто в данном описании ниже (анти-PD-1 антитела), атезолизумаб (анти-PD-L1 антитело); авелумаб (анти-PD-L1 антитело); дурвалумаб (анти-PD-L1 антитело). Другими словами, ингибитор контрольной точки иммунного ответа может быть выбран из группы,
25 состоящей из таких как: пембролизумаб; ниволумаб; пидилизумаб; цемиплимаб; PDR-001; атезолизумаб; авелумаб; дурвалумаб, антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную
30 последовательность SEQ ID NO:63, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:64; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:65, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO:67, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:68; и антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70.

Пембролизумаб (ранее также известный как ламбролизумаб; торговое название Keytruda; также известный как МК-3475), раскрытый, например, в Hamid, O. et al. (2013) *New England Journal of Medicine* 369(2): 134-44, представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG4, которое связывается с PD-1; он содержит мутацию C228P, предназначенную для предотвращения Fc-опосредованной цитотоксичности. Пембролизумаб, например, раскрыт в US 8,354,509 и WO 2009/114335. Он одобрен FDA для лечения пациентов, страдающих нерезектабельной или метастатической меланомой, а также пациентов с метастатическим NSCLC.

Ниволумаб (регистрационный номер CAS: 946414-94-4; BMS-936558 или MDX1106b) представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело IgG4, которое специфически блокирует PD-1 и не имеет обнаруживаемой антителозависимой клеточной токсичности (ADCC). Ниволумаб, например, раскрыт в US 8,008,449 и WO 2006/121168. Он был одобрен FDA для лечения пациентов, страдающих нерезектабельной или метастатической меланомой, метастатическим NSCLC и распространенным почечно-клеточным раком.

Пидилизумаб (CT-011; Cure Tech) представляет собой гуманизированное моноклональное антитело IgG1k, которое связывается с PD-1. Пидилизумаб, например, раскрыт в WO2009/101611.

PDR-001 или PDR001 представляет собой высокоаффинное лиганд-блокирующее гуманизированное антитело IgG4 против PD-1, которое блокирует связывание PD-L1 и PD-L2 с PD-1. PDR-001 раскрыто в WO2015/112900 и WO2017/019896.

Антитела от PD1-1 до PD1-5 представляют собой молекулы антител, определяемые последовательностями, как показано в Таблице 2, где HC обозначает (полноразмерную) тяжелую цепь, а LC обозначает (полноразмерную) легкую цепь.

Цемиплимаб (также известный как “REGN-2810”) представляет собой полностью человеческое моноклональное антитело к PD-1 и, например, раскрыто в WO2015/112800.

5 Авелумаб (MSB0010718C) представляет собой полностью человеческое лямбда-моноклональное антитело иммуноглобулина G1 (IgG1) против PD и описано, например, в WO2013/079174.

10 Атезолизумаб (также известный как MPDL3280A) представляет собой фаговое моноклональное антитело IgG1k человека, нацеленное на PD-L1, и описано, например, в Deng et al. mAbs 2016; 8: 593-603. Он был одобрен FDA для лечения пациентов, страдающих уротелиальной карциномой.

Дурвалумаб (MEDI4736) представляет собой моноклональное антитело IgG1k человека с высокой специфичностью к PD-L1 и описано, например, в Stewart и соавт. Cancer Immunol. Res. 2015; 3: 1052-1062 или в Ibrahim и соавт. Semin. Oncol. 2015; 42: 474-483.

15 Дополнительные антагонисты PD-1, раскрытые Li и соавт. (выше) или о которых известно, что они проходят клинические испытания, такие как AMP-224, MEDI0680 (AMP-514), BMS-936559, JS001-PD-1, SHR-1210, BMS-936559, TSR-042, JNJ-63723283, MEDI4736, MPDL3280A, могут использоваться в качестве альтернативы или кроме вышеперечисленных антагонистов.

20 INN, как использовано в данном описании, также охватывают все биоподобные антитела, имеющие такую же или практически такую же аминокислотную последовательность, что и исходное антитело, включая, помимо прочего, биоподобные антитела, разрешенные в соответствии с подпунктом (к) §262 42 USC в США и эквивалентными правилами в других юрисдикциях.

25 Перечисленные выше антагонисты PD-1 (для применения, например, в медицине, в сочетании с вакциной в соответствии с данным изобретением) известны в данной области техники в связи с их соответствующим производством, терапевтическим применением и свойствами.

30 **Таблица 2**

SEQ ID NO:	Название последовательности	Аминокислотная последовательность
61	Тяжелая	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSASAMSWVRQAPGKGL

SEQ ID NO:	Название последовательности	Аминокислотная последовательность
	цепь PD1-1	EWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCARHSNVNYYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
62	Легкая цепь PD1-1	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDTSGISFMNWFYQQKPGQAPKLLIYVASNQGGGIPARFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQS KEVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
63	Тяжелая цепь PD1-2	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSASAMSWVRQAPGKGL EWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCARHSNPVNYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
64	Легкая цепь PD1-2	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDTSGISFMNWFYQQKPGQAPKLLIYVASNQGGGIPARFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQS KEVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNN FYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTLSKA DYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
65	Тяжелая цепь PD1-3	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKAMSWVRQAPGKGL EWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAED TAVYYCARHSNVNYYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
66	Легкая цепь PD1-3	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDVSGISFMNWFYQQKPGQAPKLLIYVASNQGGGIPARFSGSGGTDFLTISRLEPEDFAVYYCQQS KEVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL

SEQ ID NO:	Название последовательности	Аминокислотная последовательность
		NNFYBREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
67	Тяжелая цепь PD1-4	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKSAMSWVRQAPGKGL EWWAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAED TAVYYCARHSNVNYYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTKAKAGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
68	Легкая цепь PD1-4	EIVLTQSPATLSLSPGERATMCSRASENIDVSGISFMNWFYQQKPGQ APKLLIYVASNQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ QSKEVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYBREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
69	Тяжелая цепь PD1-5	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKSAMSWVRQAPGKGL EWWAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTISRDNANKSLYLQMNSLRAED TAVYYCARHSNVNYYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPSVFPLAPCS RSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP PCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKE YKCKVSNKGLPSSIEKTKAKAGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLT VDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG
70	Легкая цепь PD1-5	EIVLTQSPATLSLSPGERATMCSRASENIDVSGISFMNWFYQQKPGQ APKLLIYVASNQSGIPARFSGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQ QSKEVPWTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYBREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYESTYLSSTLTLS KADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

В частности, анти-PD-1 антитело молекул PD1-1 – PD1-5, как раскрыто в данном описании выше, определяются как:

(PD1-1:) тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61, и легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62; или

(PD1-2:) тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO:63, и легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO:64; или

5 (PD1-3:) тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO:65, и легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66; или

(PD1-4:) тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67, и легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO:68; или

10 (PD1-5:) тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69, и легкая цепь, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70.

В некоторых вариантах осуществления (в частности комплекс первого компонента (К) для применения, как раскрыто в данном описании, вирус для
15 применения, как раскрыто в данном описании, вакцина для применения, как раскрыто в данном описании, полипептид для применения или набор, как раскрыто в данном описании), ингибитор контрольной точки иммунного ответа выбирают из группы, состоящей из таких как: пембролизумаб; ниволумаб; пидилизумаб; цемиплимаб; PDR-001; атезолизумаб; авелумаб; дурвалумаб,
20 антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:63, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ
25 ID NO:64; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:65, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ
30 ID NO:68; и антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70.

Соответственно, вакцина по настоящему изобретению или набор по настоящему изобретению могут дополнительно содержать ингибитор

контрольной точки иммунного ответа пути PD-1/PD-L1, преимущественно
выбранный из группы, состоящей из таких как: пембролизумаб; ниволумаб;
пидилизумаб; цемиплимаб; PDR-001; атезолизумаб; авелумаб; дурвалумаб,
антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную
5 последовательность SEQ ID NO:61, и легкую цепь, содержащую
аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62; антитело, включающее
тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID
NO:63, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ
ID NO:64; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную
10 последовательность SEQ ID NO:65, и легкую цепь, содержащую
аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66; антитело, включающее
тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID
NO:67, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ
ID NO:68; и антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую
15 аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69, и легкую цепь,
содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70.

В некоторых вариантах осуществления, вакцина, как раскрыто в данном
описании, содержащая:

- (1) комплекс первого компонента (K), содержащий или состоящий из
20 аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 60; и
- (2) рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, преимущественно
онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, второго
компонента (V), кодирующий в своем геноме
 - фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность,
25 состоящую из SEQ ID NO: 54,
 - нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность,
состоящую из SEQ ID NO: 55,
 - матриксный белок (M), содержащий аминокислотную
последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 56,
 - 30 - большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность,
состоящую из SEQ ID NO: 57
 - гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность,
состоящую из SEQ ID NO: 58, и

- антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 59,

5 может дополнительно содержать ингибитор контрольной точки иммунного ответа пути PD-1/PD-L1, преимущественно выбранный из группы, состоящей из таких как: пембролизумаб; ниволумаб; пидилизумаб; цемиплимаб; PDR-001; атезолизумаб; авелумаб; дурвалумаб, антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:63, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:64; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:65, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:68; и антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70.

20 Преимущественно, вакцина, как раскрыто в данном описании, содержащая:

(1) комплекс первого компонента (K), содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 60; и

(2) рабдовирус, преимущественно онколитический рабдовирус, второго компонента (V) (представляющий собой вирус везикулярного стоматита), в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80,

30 преимущественно при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме

- фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50,

- нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49,

- матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52,
- большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51,
- 5 - гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и
- антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59,

10 может дополнительно содержать ингибитор контрольной точки иммунного ответа пути PD-1/PD-L1, преимущественно выбранный из группы, состоящей из таких как: пембролизумаб; ниволумаб; пидилизумаб; цемиплимаб; PDR-001; атезолизумаб; авелумаб; дурвалумаб, антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62;

15 антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:63, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:64; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:65, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:68; и антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70.

В некоторых вариантах осуществления, указанная вакцина содержит антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62. В некоторых вариантах

30 осуществления, указанная вакцина содержит антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:63, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:64. В некоторых вариантах осуществления, указанная вакцина содержит антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность

SEQ ID NO:65, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66. В некоторых вариантах осуществления, указанная вакцина содержит антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:68. В некоторых вариантах осуществления, указанная вакцина содержит антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70.

10 В контексте настоящего изобретения больше, чем один модулятор контрольной точки иммунного ответа (например, ингибитор контрольной точки) может быть использован в комбинации с вакциной данного изобретения, первым компонентом (K) и/или вторым компонентом (V), как раскрыто в данном описании, или γ VSV в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в
15 данном описании, в частности используют по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 различных модуляторов контрольной точки иммунного ответа (например, ингибиторы контрольной точки), преимущественно используют 2, 3, 4 или 5 различных модуляторов контрольной точки иммунного ответа (например, ингибиторы контрольной точки), более предпочтительно используют 2, 3 или 4
20 различных модуляторов контрольной точки иммунного ответа (например, ингибиторы контрольной точки), даже более предпочтительно используют 2 или 3 различных модуляторов контрольной точки иммунного ответа (например, ингибиторы контрольной точки) и наиболее предпочтительно используют 2 различных модуляторов контрольной точки иммунного ответа (например, ингибиторы контрольной точки). Таким образом, «различные» модуляторы
25 контрольной точки иммунного ответа (например, ингибиторы контрольной точки), в частности, означают, что они модулируют (например, ингибируют) разные пути молекул контрольных точек.

Соответственно, предпочтительные комбинации модуляторов контрольной точки иммунного ответа пути PD-1 и пути CTLA-4 представляют собой (i) Ниволумаб (анти-PD1) и Ипилимумаб (анти-CTLA4) или (ii) Дурвалумаб (MEDI4736; анти-PD-L1) и Тремелимумаб (анти-CTLA4), PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как раскрыто в данном описании и Ипилимумаб.

Другие предпочтительные комбинации по меньшей мере двух различных модуляторов контрольной точки иммунного ответа в контексте настоящего изобретения могут содержать комбинацию, выбранную из таких как: (i) комбинация ингибитора KIR и ингибитора CTLA-4, такая как

5 Лирилумаб/Ипилимумаб; (ii) комбинация ингибитора KIR и ингибитора пути PD-1, такого как ингибитор PD-1, например, Лирилумаб/Ниволумаб; или PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как раскрыто в данном описании, (iii) комбинация ингибитора LAG3 и ингибитора пути PD-1, такого как ингибитор PD-1 или ингибитор PD-L1, например, PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как раскрыто в

10 данном описании, или, например, как описано в Woo и соавт., 2012, Cancer Res. 72: 917-27 или в Butler N. S. и соавт., 2011, Nat Immunol. 13: 188-95) и предпочтительные примеры такой комбинации включают Ниволумаб/BMS-986016 и PDR001/LAG525; (iv) комбинация модуляторов контрольной точки, нацеленных на ICOS, и ингибитора CTLA-4, например, как описано в Fu и соавт., 2011, Cancer Res. 71: 5445-54; (v) комбинация модуляторов контрольной точки, модулирующих 4-1BB, и ингибиторы CTLA-4, такие как описано в Curran и соавт., 2011, PLoS One 6(4): e1 9499; (vi) комбинация модуляторов контрольной точки, нацеленных PD1 и CD27, таких как Ниволумаб/Варлилумаб и Атезолизумаб/Варлилумаб; (vii) комбинация модуляторов контрольной точки, нацеленных на OX40 и CTLA-4, такая как MEDI6469/Тремелимумаб; (viii)

20 комбинация модуляторов контрольной точки, нацеленных на OX40 и PD-1, такая как MEDI6469/MEDI4736, MOXR0916/MPDL3280A, MEDI6383/MEDI4736 и GSK3174998/Пембролизумаб; (ix) комбинация модуляторов контрольной точки, нацеленных на PD-1 и 4-1BB, такая как Ниволумаб/Урелумаб,

25 Пембролизумаб/PF-05082566 и Авелумаб/PF-05082566; PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как раскрыто в данном описании, и PF-05082566; (x) комбинация модуляторов контрольной точки, нацеленных на PD-1 и IDO, такая как Ипилимумаб/Индоксимод, Пембролизумаб/INCB024360, MEDI4736/ INCB024360, MPDL3280A/GDC-0919 и Атезолизумаб/INCB024360;

30 PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как раскрыто в данном описании, и PF-05082566; (xi) комбинация модуляторов контрольной точки, нацеленных на PD-1 и CSF1R, такая как Пембролизумаб/PLX3397, Ниволумаб/FPA008 и MPDL3280A/RO5509554; (xii) комбинация модуляторов контрольной точки, нацеленных на PD-1 и GITR, такая как Ниволумаб/BMS-986156 и

Пембролизумаб/МК-4166 или PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как раскрыто в данном описании, и BMS-986156; (xiii) комбинация модуляторов контрольной точки, нацеленных на PD-1 и CD40, такая как MPDL3280A/RO7009789; (xiv) комбинация модуляторов контрольной точки, нацеленных на PD-1 и B7-H3, такая как Пембролизумаб/эноблитузумаб, или PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как раскрыто в данном описании и эноблитузумаб; (xv) комбинация модуляторов контрольной точки, нацеленных на CTLA-4 и B7-H3, такая как Ипилимумаб/эноблитузумаб, и (xvi) комбинация модуляторов контрольной точки, нацеленных на KIR и 4-1BB, такая как Лирилумаб/Урелумаб.

10 Особенно предпочтительно, комбинация модулятора контрольной точки иммунного ответа и вакцины данного изобретения, первого компонента (K) и/или второго компонента (V), как раскрыто в данном описании, или rVSV в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном описании, для применения в соответствии с настоящим изобретением, содержит по меньшей мере (i) ингибитор CTLA-4 или (ii) ингибитор PD-1, PD-L1 или PD-L2, преимущественно по меньшей мере (i) ингибитор CTLA-4 и (ii) ингибитор PD-1. Примеры такой предпочтительной комбинации включают комбинацию Ервой[®] (Ипилимумаб; Bristol Myers Squibb) и Опдиво[®] (Ниволумаб; Bristol Myers Squibb), комбинация Ервой[®] (Ипилимумаб; Bristol Myers Squibb) и PD1-1, PD1-2, PD1-3, PD1-4, PD1-5, как раскрыто в данном описании, комбинация Ервой[®] (Ипилимумаб; Bristol Myers Squibb) и Кейтруда[®] (Пембролизумаб; MSD), комбинация Ервой[®] (Ипилимумаб; Bristol Myers Squibb) и Дурвалумаба (MedImmune/AstraZeneca), комбинация Ервой[®] (Ипилимумаб; Bristol Myers Squibb) и MEDI4736 (AstraZeneca; ср. WO 2011/066389 A1), комбинация Ервой[®] (Ипилимумаб; Bristol Myers Squibb) и MPDL3280A (Roche/Genentech; ср. US 8,217,149 B2), комбинация Ервой[®] (Ипилимумаб; Bristol Myers Squibb) и Пидилизумаба (CT-011; CureTech), комбинация Ервой[®] (Ипилимумаб; Bristol Myers Squibb) и MEDI0680 (AMP-514; AstraZeneca), комбинация Ервой[®] (Ипилимумаб; Bristol Myers Squibb) и авелумаба (Merck KGaA/Pfizer), комбинация Ервой[®] (Ипилимумаб; Bristol Myers Squibb) и МИН1 (Affymetrix), комбинация Ервой[®] (Ипилимумаб; Bristol Myers Squibb) и AMP-224, комбинация Ервой[®] (Ипилимумаб; Bristol Myers Squibb) и Ламбролизумаба, комбинация Тремелиумаба (Pfizer/MedImmune) и Опдиво[®] (Ниволумаб; Bristol Myers Squibb), комбинация Тремелиумаба (Pfizer/MedImmune) и Кейтруда[®]

(Пембролизумаб; Merck), комбинация Тремелиумаба (Pfizer/MedImmune) и Дурвалумаба (MedImmune/AstraZeneca), комбинация Тремелиумаба (Pfizer/MedImmune) и MEDI4736 (AstraZeneca; ср. WO 2011/066389 A1), комбинация Тремелиумаба (Pfizer/MedImmune) и MPDL3280A
5 (Roche/Genentech; ср. US 8,217,149 B2), комбинация Тремелиумаба (Pfizer/MedImmune) и Пидилизумаба (CT-011; CureTech), комбинация Тремелиумаба (Pfizer/MedImmune) и MEDI0680 (AMP-514; AstraZeneca), комбинация Тремелиумаба (Pfizer/MedImmune) и авелумаба (Merck KGaA/Pfizer), комбинация Тремелиумаба (Pfizer/MedImmune) и MН1
10 (Affymetrix), комбинация Тремелиумаба (Pfizer/MedImmune) и AMP-224 и комбинация Тремелиумаба (Pfizer/MedImmune) и Ламбролизумаба.

Также желательно, чтобы вакцину данного изобретения (то есть первый компонент (K) и/или второй компонент (V), как раскрыто в данном описании) объединяли (i) с ингибитором пути PD-1, как описано выше, например,
15 ингибитором PD-1, PD-L1 или PD-L2, и (ii) с ингибитором белка 3, содержащего Т-клеточный иммуноглобулин и муцин (TIM-3). В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути PD-1 и ингибитор TIM-3 могут быть введены примерно в одно и то же время и одним и тем же или разными путями введения. В других вариантах осуществления ингибитор пути PD-1 вводят до ингибитора
20 TIM-3. Не привязываясь к какой-либо теории, предполагается, что нацеливание на дополнительную контрольную точку, такую как TIM-3, помимо пути PD-1, может предотвратить рецидивы из-за активизации дополнительной контрольной точки, такой как TIM-3, во время лечения.

В соответствии с одним вариантом осуществления, желательно, чтобы
25 вакцину для применения в соответствии с данным изобретением, или любой из её компонентов (K) или (V), или rVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании, объединяют с таргетным лекарственным средством. Таргетные лекарственные средства (для применения в комбинации с rVSV
данного изобретения, как раскрыто в данном описании, или вакциной данного
30 изобретения, как раскрыто в данном описании, или любым из её компонентов (K) или (V) для применения в медицине, в частности в лечении опухоли, как раскрыто в данном описании) включают VEGF-таргетные лекарственные средства, EGFR-таргетные лекарственные средства, или конъюгаты антитело-лекарственное средство. Предпочтительные примеры VEGF-таргетных

лекарственных средств включают Бевацизумаб (Avastin®), рамуцирумаб (Cyramza®) или зив-афлиберцепт (Zaltrap®). Предпочтительные примеры EGFR-таргетных лекарственных средств включают цетуксимаб (Erbix®), панитумумаб (Vectibix®) или регорафениб (Stivarga®). Предпочтительные
5 примеры конъюгатов антитело-лекарственное средство включают Адо-трастузумаб эмтанзин (Kadcyla®), SYD985, трастузумаб vs-seco-DUBA, АВТ-414, депатуксизумаб мафодотин, AMG 595, IMGN289, лапритуксимаб эмтансин, ABBV-221, SGN-75, MDX-1203, BMS-936561, SGN-CD70A, AMG 172, гемтузумаб озогамидин (GO), SAR3419, колтуксимаб равтанзин, BAY 94–9343,
10 анетумаб равтансин, пинатузумаб ведотин, лабетузумаб говитекан, сацитузумаб говитекан, MLN2704, Наратуксимаб эмтанзин, брентуксимаб ведотин или ровальпитузумаб теzipин.

Комбинированные методы лечения, как описано выше, могут, например, вводиться в виде нефиксированной (например, свободной) комбинации веществ
15 или в форме фиксированной комбинации, включая наборы из частей. В этом контексте «комбинация» или «комбинированный» в значении данного изобретения включает, не ограничиваясь этим, продукт, полученный в результате смешивания или комбинирования больше, чем одного активного агента, и включает как фиксированные, так и нефиксированные (например,
20 свободные) комбинации (включая наборы) и применения, такие как, например, одновременное, параллельное, последовательное, поочередное, альтернативное или раздельное применение компонентов или агентов. Термин «фиксированная комбинация» означает, что оба активных агента вводят пациенту одновременно в виде одной единицы или дозы. Термин «нефиксированная комбинация»
25 означает, что оба активных агента вводятся пациенту в виде отдельных единиц либо одновременно, параллельно либо последовательно без каких-либо конкретных ограничений по времени, при этом такое введение обеспечивает терапевтически эффективные уровни двух соединений в организме пациента. Последнее относится и к коктейльной терапии, например введению трех и более
30 активных средств.

Комбинационное лечение ингибиторами контрольной точки иммунного ответа и вакциной для применения в соответствии с данным изобретением, или любым из ее компонентов (K) или (V), или rVSV, данного изобретения, как раскрыто в данном описании, могут, например, быть полезными при опухолях,

которые характеризуются активацией путей контрольных точек иммунного ответа, которые подавляют противоопухолевый иммунный ответ, тем самым избегая иммунного надзора. Как правило, такие опухоли характеризуются повышенной экспрессией указанных выше генов путей контрольных точек иммунного ответа, которые могут быть обнаружены, например, с помощью иммуногистохимии в биоптатах ткани или опухоли. Например, экспрессию PD-1 или PD-L1 можно проводить с помощью сопутствующих диагностических наборов, в которых используются специфические антитела, такие как, например, 28-8, 22C3, SP142 или SP263, для оценки экспрессии PD-1 в опухолевой ткани *in situ*. Как правило, чем выше число PD-1-позитивных клеток в опухоли, тем выше вероятность того, что пациент, пораженный этой опухолью, будет реагировать на такое лечение ингибитором контрольной точки иммунного ответа. Например, считается, что пациент имеет низкую экспрессию, если в 1-5% опухолевых клеток обнаруживается экспрессия PD-1 (или PD-L1), среднюю экспрессию, если обнаруживается экспрессия PD-1 (или PD-L1) в интервале от примерно 5% до приблизительно 10% клеток, или высокую (сильную) экспрессию, если экспрессия PD-1 (PD-L1) обнаруживается в интервале от примерно 10% до примерно более чем 50% опухолевых клеток (например, примерно в от 15%, 20%, 25%, 30%, 35% до приблизительно более 50%, 60%, 75% клеток).

Соответствующие наборы или анализы имеются в продаже и включают, например, антитела SP1452, SP263, 22C3 или 28-8 (см., например, Expert Review of Molecular Diagnostics, 16:2, 131-133). Таким образом, комбинации вакцины данного изобретения и ингибиторов контрольной точки иммунного ответа PD-1/PD-L1 могут быть полезными или желательными для лечения опухолей, характеризующихся по меньшей мере низкой экспрессией PD-1 или PD-L1, преимущественно средней экспрессией PD-1 или PD-L1, более предпочтительно высокой экспрессией PD-1 или PD-L1. Например, вакцина для применения в соответствии с данным изобретением или любой из её компонентов (K) или (V), или rVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании, могут быть объединены с ингибитором контрольной точки PD-1 или PD-L1, как раскрыто в данном описании, для применения в лечении и/или облегчении одного или нескольких симптомов рака, при этом вакцина для применения в соответствии с данным изобретением, или любой из её компонентов (K) или (V), или rVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании, и ингибитор пути PD-1

или PD-L1 вводят одновременно, последовательно или поочередно. Ингибитор пути PD-1 или PD-L1 при этом вводят в терапевтически эффективной дозе, например, от приблизительно 0,05 мг/кг массы тела, 0,1 мг/кг массы тела, 0,5 мг/кг массы тела, от 1 мг/кг массы тела до приблизительно 5 мг/кг массы тела, 7,5 мг/кг массы тела, 10 мг/кг массы тела, или при дозе приблизительно 2,5 мг/кг массы тела, 5 мг/кг массы тела, и вакцина для применения в соответствии с данным изобретением, или любой из её компонентов (К) или (V), или гVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании данного изобретения, могут быть введены в дозах, как описано выше.

10 В другом варианте осуществления, ингибитор пути PD-1 вводят внутривенно и второй компонент (V) вакцины, то есть рекомбинантный везикуловирус, преимущественно онколитический рекомбинантный везикуловирус, для применения в соответствии с данным изобретением, вводят по меньшей мере один раз внутритуморально, или по меньшей мере один раз
15 внутривенно.

В одном варианте осуществления, ингибитор пути PD-1 можно, например, вводить по меньшей мере один раз, два раза или три раза за 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней, 9 дней, 10 дней, 11 дней, 12 дней, 13 дней, 14 дней, 15 дней, 16 дней, 17 дней, 18 дней, 19 дней, 20 дней, 21 день, 20
22 дня, 23 дня, 24 дня, 25 дней, 26 дней, 27 дней, 28 дней, 29 дней, 30 дней или 31 день до введения вакцины по данному изобретению, или любого из её компонентов (К) или (V), или гVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании. В альтернативном варианте ингибитор пути PD-1 или PD-L1 можно, например, вводить одновременно, или поочередно с вакциной для применения в соответствии с данным изобретением, или любым из её компонентов (К) или (V), или гVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании. Термин «совместное» введение относится к введению первого компонента (К) и второго компонента (V) вакцины и ингибитора пути PD-1 или PD-L1 в течение одного и того же общего периода времени, например, в один и тот же день (дни), но не
25 обязательно, в то же время. Термин «поочередное введение» обычно относится к применению одной вакцины для применения в соответствии с данным изобретением или любого из её компонентов (К) или (V), или гVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании, или ингибитора пути PD-1/PD-L1 в течение периода времени, например, в течение нескольких дней или недели, с
30

последующим введением соответствующего другого терапевтического средства в течение последующего периода времени, например, в течение нескольких дней или недели, и затем повторение схемы в течение одного или нескольких циклов.

5 Вакцина для применения в соответствии с данным изобретением, или любой из её компонентов (K) или (V), или гVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании, и ингибитор пути PD-1 или PD-L1 могут, например, также вводиться последовательно, что может, например, также называться последовательным введением. Например, вакцина для применения в соответствии с данным изобретением, или любой из её компонентов (K) или (V),
10 или гVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании, и ингибитор пути PD-1 / PD-L1 могут вводиться в течение первого периода времени (например, в течение курса в несколько дней или недели) с использованием одной или нескольких доз, что сопровождается введением соответствующего другого терапевтического агента (ингибитор PD-1, PD-L1 или
15 вакцина для применения в соответствии с данным изобретением, или любой из её компонентов (K) или (V), или гVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании) в течение второго периода времени (например, в течение курса в несколько дней или недели) с использованием одной или нескольких доз. Также может быть использована перекрывающаяся схема введения, которая
20 включает введение ингибитора пути PD-1/PD-L1 или вакцины для применения в соответствии с данным изобретением или любого из её компонентов (K) или (V), или гVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании в различные дни в течение периода лечения, не обязательно в соответствии с определенной последовательностью. Также могут использоваться вариации этих общих
25 рекомендаций, например, в зависимости от используемых агентов и состояния субъекта.

В одном варианте осуществления, вакцина для применения в соответствии с данным изобретением, или любой из её компонентов (K) или (V), или гVSV
данного изобретения, как раскрыто в данном описании, может, например,
30 вводиться в соответствии со схемой введения, как раскрыто в данном описании, при этом ингибитор пути PD-1 или PD-L1 может вводиться периодически между введением первого компонента (K) и второго компонента (V) вакцины. Соответственно, способ лечения в соответствии с данным изобретением включает введение пациенту, которому это необходимо, вакцины данного

изобретения и ингибитора пути PD-1 или PD-L1, как раскрыто в данном описании.

В соответствии с одним вариантом осуществления, первый компонент (К) для применения в соответствии с данным изобретением применяют в комбинации со вторым компонентом (V) вакцины по данному изобретению или гVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании. Например, первый компонент (К) для применения в соответствии с данным изобретением может быть представлен в виде вакцины в комбинации со вторым компонентом (V) данного изобретения, или гVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании. Следует понимать, что комбинированное применение первого компонента (К) данного изобретения, как раскрыто в данном описании, со вторым компонентом (V) данного изобретения, или гVSV в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном описании, может дополнительно комбинироваться с одним или несколькими химиотерапевтическими агентами, как раскрыто в данном описании, одним или несколькими иммунотерапевтическими агентами, как раскрыто в данном описании, или с одним или несколькими таргетными лекарственными средствами, как раскрыто в данном описании. В соответствии с одним вариантом осуществления, второй компонент (V) данного изобретения, как раскрыто в данном описании, или гVSV в соответствии с данным изобретением, как определено в данном описании, предназначен для применения в комбинации (например, в медицине) с первым компонентом (К) данного изобретения, как раскрыто в данном описании. Следует понимать, что комбинированное применение второго компонента (V), или гVSV в соответствии с данным изобретением, как раскрыто в данном описании, с первым компонентом (К) данного изобретения может дополнительно комбинироваться с одним или несколькими химиотерапевтическими агентами, как раскрыто в данном описании, одним или несколькими иммунотерапевтическими агентами, как раскрыто в данном описании, или с одним или несколькими таргетными лекарственными средствами, как раскрыто в данном описании. Примеры комбинированного применения, как описано выше, могут включать обеспечение комбинации первого компонента (К) данного изобретения и/или второго компонента (V) в соответствии с данным изобретением, или первой и второй фармацевтических композиций, как описано выше, в наборе. Такие комбинации могут

ограничиваться обеспечением первого компонента (K) данного изобретения, как раскрыто в данном описании, или первой фармацевтической композиции, как раскрыто в данном описании, в комбинации с (i) одним или несколькими химиотерапевтическими агентами, как раскрыто в данном описании, (ii) одним или несколькими иммунотерапевтическими агентами, как описано выше, (iii) одним или несколькими таргетными лекарственными средствами, или обеспечением второго компонента (V) данного изобретения, как раскрыто в данном описании, rVSV данного изобретения, как раскрыто в данном описании, или первой фармацевтической композиции, как раскрыто в данном описании, в комбинации с (iv) одним или несколькими химиотерапевтическими агентами, как раскрыто в данном описании, (v) одним или несколькими иммунотерапевтическими агентами, как описано выше, (vi) одним или несколькими таргетными лекарственными средствами.

В одном аспекте настоящее изобретение обеспечивает комбинацию, содержащую первый компонент (K) и второй компонент (V) в соответствии с данным изобретением, как определено в данном описании. В соответствии с одним вариантом осуществления, комбинация, содержащая первый компонент (K) данного изобретения и второй компонент (V) данного изобретения, предназначена для применения в качестве вакцины. Таким образом, комбинация в соответствии с данным изобретением предназначена для применения, как описано выше, и может, например, вводиться в соответствии с любой из схем введения, раскрытых выше, или может, например, комбинироваться с одним или несколькими дополнительными терапевтически активными агентами, как описано выше (например, химиотерапевтическими агентами, таргетными лекарственными средствами, или иммунотерапевтическими агентами, такими как ингибиторы контрольной точки иммунного ответа, все как описано выше).

Например, в таких комбинациях, наборах и применениях, может быть предпочтительно объединять следующие компоненты:

(1) комплекс первого компонента (K), содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 60; и

(2) рабдовирус, преимущественно онколитический рабдовирус, второго компонента (V) (представляющий собой вирус везикулярного стоматита), в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%,

78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80,

при этом преимущественно вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме

- 5 - фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50,
- нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49,
- матриксный белок (M), содержащий аминокислотную
- 10 последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52,
- большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51,
- гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и
- 15 - антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

Кроме того, такие комбинации, наборы и применения могут дополнительно содержать ингибитор контрольной точки иммунного ответа пути PD-1/PD-L1, преимущественно выбранный из группы, состоящей из таких как:

- 20 пембролизумаб; ниволумаб; пидилизумаб; цемиплимаб; PDR-001; атезолизумаб; авелумаб; дурвалумаб, антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность
- 25 SEQ ID NO:63, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:64; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:65, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66;
- антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную
- 30 последовательность SEQ ID NO:67, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:68; и антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70.

В соответствии с этим применение комбинации в соответствии с данным изобретением может, например, также использоваться в способе лечения пациента, страдающего раком, который включает введение такому пациенту комбинации в соответствии со схемой введения и режимами дозирования, как раскрыто в данном описании.

Кроме того, настоящее изобретение также обеспечивает набор для применения в вакцинации для лечения, профилактики и/или стабилизации опухоли или рака, как раскрыто в данном описании, включающий фармацевтическую композицию, как раскрыто в данном описании, или вакцину, как раскрыто в данном описании, и инструкции для применения указанной фармацевтической композиции или указанной вакцины для применения в соответствии с данным изобретением для профилактики и/или лечения опухоли или рака, такого как, например, колоректальный рак или метастатический колоректальный рак, как раскрыто в данном описании.

В одном аспекте данное изобретение относится к способу увеличения опухолевой инфильтрации опухолевыми антиген-специфическими Т-клетками, при этом способ включает введение вакцины данного изобретения млекопитающему, преимущественно человеку, как раскрыто в данном описании. Например, вакцина данного изобретения для применения в соответствии со способом данного изобретения, может, например, вводиться в комбинации с ингибитором контрольной точки иммунного ответа, как раскрыто в данном описании.

В дополнительном аспекте настоящее изобретение обеспечивает набор для вакцинации для применения в лечении, профилактике и/или стабилизации опухоли или рака, преимущественно для применения в профилактике и/или лечении рака, при этом набор содержит по меньшей мере один из таких как:

- (i) вакцина данного изобретения, как определено выше,
- (ii) по меньшей мере один фармакологически активный агент, как описано выше.

В частности, набор данного изобретения может содержать больше, чем один компонент каждой из его частей (i), (ii). Например, набор в соответствии с настоящим изобретением может содержать по меньшей мере две различных вакцины данного изобретения в качестве части (i), и/или больше, чем один фармакологически активный агент как описано выше.

Например, набор данного изобретения может содержать две различные вакцины данного изобретения как часть (i), например, он может содержать два первых компонента вакцины, которые содержат различный антигенный домен, который может содержать различные антигены, как раскрыто в данном описании. Набор, как раскрыто в данном описании, может, например, также включать больше, чем одну вакцину данного изобретения как часть (i), которая включает различные агонисты TLR, или которая включает различный СРР. Например, набор, как раскрыто в данном описании, также может содержать больше чем один, например, два, три или четыре фармацевтически активных агента, как раскрыто в данном описании. Комбинация таких фармацевтически активных агентов будет зависеть от рака и/или болезненного состояния, подлежащего лечению.

Различные компоненты набора, как раскрыто в данном описании, могут быть упакованы в один или несколько контейнеров. Вышеуказанные компоненты могут быть предоставлены в лиофилизированной или сухой форме или растворены в подходящем буфере. Кроме того, набор в соответствии с настоящим изобретением может необязательно содержать инструкции по применению.

В предпочтительном варианте осуществления набор данного изобретения предназначен для применения в лечении колоректального рака, метастатического колоректального рака, трижды негативного рака молочной железы или рака поджелудочной железы.

Преимущественно, такой набор дополнительно содержит вкладыш в упаковку или листок с инструкциями по лечению колоректального рака с помощью вакцины (для применения) в соответствии с настоящим изобретением, как раскрыто в данном описании, и/или фармацевтической композиции, как раскрыто в данном описании.

В одном варианте осуществления изобретение также обеспечивает клетку, продуцирующую вирус, отличающуюся тем, что клетка продуцирует рекомбинантный рабдовирус или рекомбинантный вирус везикулярного стоматита в соответствии с данным изобретением.

Клетка, которую можно, например, использовать для получения рекомбинантного рабдовируса или рекомбинантного вируса везикулярного стоматита в соответствии с данным изобретением, может иметь любое

происхождение и может присутствовать в виде изолированной клетки или в виде клетки, включенной в клеточную популяцию. Желательно, чтобы клетка, продуцирующая рекомбинантный рабдовирус или рекомбинантный вирус везикулярного стоматита данного изобретения, была клеткой млекопитающего.

5 В более предпочтительном варианте осуществления, продуцирующая вирус клетка данного изобретения характеризуется тем, что клетка млекопитающего представляет собой мультипотентную взрослую клетку-предшественник (МАРС), нейрональную стволовую клетку (NSC), мезенхимальную стволовую клетку (MSC), клетку HeLa, клетку НЕК, любую клетку НЕК293 (например, НЕК293F
10 или НЕК293Т), клетку яичника китайского хомячка (СНО), клетку почки детеныша хомячка (ВНК) или клетку Vero или клетку, инфильтрирующую опухоль, из костного мозга (ВМ-ТIC).

В альтернативном варианте клетка, продуцирующая вирус, по данному изобретению может быть клеткой человека, клеткой обезьяны, клеткой мыши
15 или клеткой хомяка. Специалисту в данной области техники известны способы, подходящие для применения при тестировании того, продуцирует ли данная клетка вирус и, таким образом, подпадает ли конкретная клетка в объем настоящего изобретения. В этом отношении количество вируса, продуцируемого
20 клеткой данного изобретения, конкретно не ограничено. Предпочтительные вирусные титры составляют $\geq 1 \times 10^7$ TCID₅₀/мл или $\geq 1 \times 10^8$ копий генома/мл в неочищенных супернатантах данной клеточной культуры после инфицирования без дальнейшей последующей обработки.

В конкретном варианте осуществления продуцирующая вирус клетка
данного изобретения характеризуется тем, что клетка содержит одну или
25 несколько экспрессионных кассет для экспрессии по меньшей мере одного из генов, выбранных из группы, состоящей из таких как: гены n, l, p и m, кодирующие белки N, L, P и M вируса VSV, и ген gp, кодирующий гликопротеин LCMV-GP, Данденонг-GP или Мопея-GP.

Продуцирующие вирус клетки в значении данного изобретения включают
30 классические упаковочные клетки для продукции рекомбинантного рабдовируса или рекомбинантного вируса везикулярного стоматита в соответствии с данным изобретением из нереплицируемых векторов, а также клетки-продуценты для продукции рекомбинантного рабдовируса из векторов, способных к репродукции. Упаковывающие клетки обычно содержат одну или несколько плазмид для

экспрессии основных генов, которых нет в соответствующем упаковываемом векторе и/или которые необходимы для продукции вируса. Такие клетки известны специалисту в данной области техники, который может выбрать соответствующие клеточные линии, подходящие для желаемой цели.

5 Рекомбинантный рабдовирус или вирус везикулярного стоматита в соответствии с данным изобретением может быть, например, произведен в соответствии со способами, которые известны квалифицированному специалисту, и включают без ограничения (1) использование кДНК, трансфектированные в клетку, или (2) комбинацию кДНК, трансфектированных в хелперную клетку, или (3) кДНК, трансфектированные в клетку, которая
10 дополнительно инфицирована хелперным вирусом /минивирусом, обеспечивая *in trans* оставшиеся компоненты или действия, необходимые для производства либо инфекционного, либо неинфекционного рекомбинантного рабдовируса. При использовании любого из этих способов (например, хелперный
15 вирус /минивирус, хелперная клеточная линия или только трансфекция кДНК), минимальными необходимыми компонентами являются молекула ДНК, содержащая *cis*-действующие сигналы для (1) инкапсуляции геномной (или антигеномной) РНК с помощью N-белка, Р-белка и L-белка рабдовируса и (2) репликации геномного или антигеномного (репликативного промежуточного)
20 эквивалента РНК.

 Реплицирующий элемент или репликон представляет собой цепь РНК, минимально содержащую на 5'- и 3'-концах лидерную последовательность и трейлерную последовательность рабдовируса. В геномном смысле лидерная последовательность находится на 3'-конце, а трейлерная - на 5'-конце. Любая
25 РНК, помещенная между этими двумя сигналами репликации, в свою очередь, будет реплицироваться. Кроме того, лидерная и трейлерная области должны содержать минимальное количество *cis*-действующих элементов для инкапсуляции белком N и для связывания полимеразы, которые необходимы для инициации транскрипции и репликации. Для получения рекомбинантного
30 рабдовируса минивирус, содержащий ген G, также должен содержать лидерную область, трейлерную область и ген G с соответствующими сигналами инициации и терминации для производства мРНК G-белка. Если минивирус дополнительно содержит ген M, должны также присутствовать соответствующие сигналы инициации и терминации для продуцирования мРНК белка M.

Для любого гена, содержащегося в геноме рекомбинантного рабдовируса, ген будет окружен соответствующими сигналами инициации и терминации транскрипции, которые позволят экспрессировать эти гены и производить белковые продукты (Schnell et al., Journal of Virology, стр. 2318-2323, 1996). Для получения «неинфекционного» рекомбинантного рабдовируса рекомбинантный рабдовirus должен иметь минимальное количество элементов репликона и белков N, P и L, а также должен содержать ген M. При этом образуются вирусные частицы, которые отпочковываются от клетки, но являются неинфекционными частицами. Для получения «инфекционных» частиц вирусные частицы должны дополнительно содержать белки, которые могут опосредовать связывание и слияние вирусных частиц, например, за счет использования белка прикрепления или лиганда рецептора. Нативным лигандом рецептора рабдовирусов является G-белок.

Можно использовать любую клетку, допускающую колонию рекомбинантного рабдовируса. Один из способов получения инфекционных вирусных частиц включает соответствующую клеточную линию, инфицированную плазмидой, кодирующей РНК-полимеразу T7 или другую подходящую полимеразу бактериофага, такую как полимеразы T3 или SP6. Затем клетки могут быть трансфицированы индивидуальной кДНК, содержащей гены, кодирующие белки G, N, P, L и M рабдовируса. Эти кДНК обеспечат белки для построения частицы рекомбинантного рабдовируса. Клетки могут быть трансфицированы любым способом, известным в данной области.

Также в клеточную линию трансфицируют «полицистронную кДНК», содержащую эквивалент геномной РНК рабдовируса. Если инфекционная частица рекомбинантного рабдовируса предназначена для литического действия в инфицированной клетке, то должны присутствовать гены, кодирующие белки N, P, M и L, а также любой гетерологичный сегмент нуклеиновой кислоты. Если инфекционная частица рекомбинантного рабдовируса не предназначена для литической активности, то ген, кодирующий белок M, не включается в состав полицистронной ДНК. Под "полицистронной кДНК" подразумевают кДНК, содержащую по меньшей мере единицы транскрипции, содержащие гены, которые кодируют белки N, P и L. Полицистронная ДНК рекомбинантного рабдовируса может также содержать ген, кодирующий вариант белка или его полипептидный фрагмент, или терапевтическую нуклеиновую кислоту или белок.

В альтернативном варианте любой белок, который должен быть первоначально связан с первой полученной вирусной частицей или ее фрагментом, может быть представлен *in trans*.

5 Также рассматривается полицистронная кДНК, кодирующая антигенный домен в соответствии с данным изобретением, как описано выше. Рассматриваемая полицистронная кДНК может содержать ген, кодирующий вариант белка, ген, кодирующий репортер, терапевтическую нуклеиновую кислоту и/или либо гены N-P-L либо гены N-P-L-M. Первым шагом в создании рекомбинантного рабдовируса является экспрессия РНК, которая является геномным или антигеномным эквивалентом кДНК. Затем эта РНК упаковывается белком N, а затем реплицируется белками P/L. Полученный таким образом рекомбинантный вирус может быть восстановлен. Если G-белок отсутствует в геноме рекомбинантной РНК, то он обычно поставляется *in trans*. Если оба белка G и M отсутствуют, то оба поставляются *in trans*. Для приготовления «неинфекционных рабдовирусных» частиц процедура может быть такой же, как описано выше, за исключением того, что полицистронная кДНК, трансфицированная в клетки, будет содержать только гены N, P и L рабдовируса. Полицистронная кДНК неинфекционных рабдовирусных частиц может дополнительно содержать ген, кодирующий белок.

20 Трансфицированные клетки обычно инкубируют в течение менее чем 24 часов при желаемой температуре, обычно около 37 градусов. Для неинфекционных вирусных частиц собирают супернатант и выделяют вирусные частицы. Для инфекционных вирусных частиц супернатант, содержащий вирус, собирают и переносят в свежие клетки. Свежие клетки инкубируют в течение 25 примерно 48 часов и собирают надосадочную жидкость.

Клеточная линия, которую можно использовать, например, в альтернативном варианте для получения рекомбинантного рабдовируса или рекомбинантного вируса везикулярного стоматита в соответствии с данным изобретением, представляет собой клеточную линию человека 293SF-3F6 в соответствии со способом, раскрытым в Journal of Biotechnology 289 (2019) 144–149.

Настоящее изобретение также обеспечивает полинуклеотиды, кодирующие комплекс первого компонента (К) вакцины, как раскрыто в данном описании, преимущественно, полинуклеотиды в соответствии с данным изобретением

кодируют аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 45,
 или SEQ ID NO: 60 или её функциональные варианты, имеющие идентичность
 последовательности по меньшей мере 75%, 80%, 85%, более предпочтительно по
 5 меньшей мере 90%, 95%, 98%. Термин "полинуклеотид", как использовано в
 настоящем изобретении, обозначает одно- или двухцепочечный полимер
 дезоксирибонуклеотидных или рибонуклеотидных оснований, читаемых от 5'-
 конца к 3'-концу. Полинуклеотиды включают РНК и ДНК и могут быть
 выделены из природных источников, синтезированы *in vitro* или получены из
 комбинации природных и синтетических молекул. Длина полинуклеотидной
 10 молекулы здесь указана в единицах нуклеотидов (сокращенно "nt") или пар
 оснований (сокращенно "п.о."). Термин «нуклеотиды» используется как для
 одноцепочечных, так и для двухцепочечных молекул, если позволяет контекст.
 Когда термин применяется к двухцепочечным молекулам, он используется для
 обозначения общей длины и будет пониматься как эквивалентный термину
 15 «пары оснований».

В одном из аспектов настоящее изобретение также обеспечивает клетку-
 хозяина, содержащую полинуклеотиды по настоящему изобретению. Термин
 «клетка-хозяин», как использовано в данном описании, относится к любой
 прокариотической (прокариотическая клетка-хозяин) или эукариотической
 20 клетке (эукариотическая клетка-хозяин). Например, клетка-хозяин, применяемая
 в соответствии с данным изобретением, может быть клеткой дрожжей, клеткой
 насекомого или клеткой млекопитающего. Например, клетка-хозяин данного
 изобретения может быть клеткой насекомого, выбранной из клеток Sf9, Sf21, S2,
 Hi5 или VTI-TN-5B1-4, или, например, клетка-хозяин данного изобретения
 25 может быть клеткой дрожжей, выбранной из *Saccharomyces cerevisiae*, *Hansenula*
polymorpha, *Schizosaccharomyces pombe*, *Schwanniomyces occidentafis*,
Kluyveromyceslactis, *Yarrowia lipolytica* и *Pichia pastoris* или, например, клетка-
 хозяин данного изобретения может быть клеткой млекопитающего, выбранной
 из HEK293, HEK293T, HEK293E, HEK 293F, NS0, per.C6, MCF-7, HeLa, Cos-1 ,
 30 Cos-7, PC-12, 3T3, Vera, vero-76, PC3, U87, SAOS-2, LNCAP, DU145, A431, A549,
 B35, H1299, HUVEC, Jurkat, MDA-MB-231, MDA- B-468, MDA-MB-435, Caco-2,
 CHO, CHO-K1, CHO-B11, CHO-DG44, BHK, AGE1.HN, Namalwa, WI-38, MRC-5,
 HepG2, L-929, RAB-9, SIRC, RK13, 1 1 B1 1, 1 D3, 2.4G2, A-10, B-35, C-6, F4/80,
 IEC-18, L2, MH1 C1, NRK, NRK-49F, NRK-52E, RMC, CV-1, BT, MDBK, CPAE,

MDCK.1, MDCK.2 и D-17. Прокариотические клетки для применения в соответствии с данным изобретением могут, например, включать бактерии, такие как *E. coli*, включая BL21, Lemo21, *E. coli* K12. Клетки-хозяева в соответствии с данным изобретением могут быть использованы, например, для рекомбинантной продукции комплекса первого компонента (К) данного изобретения, как раскрыто в описании в соответствии со стандартными протоколами, например, LaVallie, Current Protocols in Protein Science (1995) 5.1.1-5.1.8; Chen et al., Current Protocols in Protein Science (1998) 5.10.1-5.10.41).

В дополнительном аспекте, настоящее изобретение обеспечивает полипептид, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60 для применения в медицине, в частности для применения в схеме иммунизации, в комбинации с вирусом везикулярного стоматита, в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80.

В предпочтительном варианте осуществления, настоящее изобретение обеспечивает полипептид, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60, для применения в медицине, в частности для применения в схеме иммунизации, в комбинации с вирусом везикулярного стоматита, в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80, при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50, нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49, матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52, большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51, гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

В другом связанном аспекте, настоящее изобретение относится к вирусу
везикулярного стоматита, в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита
содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей
мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%,
5 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной
SEQ ID NO: 80 для применения в медицине, в частности для применения в схеме
иммунизации, в комбинации с полипептидом, содержащим или состоящим из
аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60.

В предпочтительном варианте осуществления, настоящее изобретение
10 относится к вирусу везикулярного стоматита, в котором РНК геном вируса
везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК,
идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%,
83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%,
98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80 для применения в медицине, в
15 частности для применения в схеме иммунизации, в комбинации с полипептидом,
содержащим или состоящим из аминокислотной последовательности SEQ ID NO:
60, при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме
фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность,
состоящую из SEQ ID NO: 50, нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную
20 последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49, матриксный белок (M),
содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52,
большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность,
состоящую из SEQ ID NO: 51, гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную
последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и антигенный домен,
25 содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45
или SEQ ID NO: 59.

Преимущественно, в таких полипептидах и вирусах для применения
объединяют следующие компоненты:

(1) полипептид, содержащий или состоящий из аминокислотной
30 последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 60; и

(2) вирус везикулярного стоматита, в котором РНК геном вируса
везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК,
идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%,

83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80,

преимущественно при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме

- 5 - фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50,
- нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49,
- матриксный белок (M), содержащий аминокислотную
- 10 последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52,
- большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51,
- гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и
- 15 - антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

Кроме того, такие полипептиды и вирусы для применения могут дополнительно включать комбинацию с ингибитором контрольной точки иммунного ответа пути PD-1/PD-L1, преимущественно выбранным из группы, состоящей из таких как: пембролизумаб; ниволумаб; пидилизумаб; цемиплимаб; PDR-001; атезолизумаб; авелумаб; дурвалумаб, антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную

20 последовательность SEQ ID NO:63, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:64; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:65, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную

25 последовательность SEQ ID NO:67, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:68; и антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70.

Объем настоящего изобретения не должен ограничиваться конкретными вариантами осуществления, раскрытыми в данном описании. Действительно, различные модификации данного изобретения, кроме того, что описаны в настоящем документе, станут очевидными для специалистов в данной области техники из предшествующего описания и сопровождающих фигур и подробных Примеров, которые иллюстрируют в качестве примера принципы данного изобретения.

Материалы и способы

Заявление об этических принципах

10 Все эксперименты на животных были одобрены Австрийским Федеральным Министерством науки, исследований и экономики, а также институциональными и кантональными ветеринарными властями Женевы в соответствии с федеральным законом Швейцарии о защите животных и проводились в соответствии с институциональными рекомендациями Медицинского университета Инсбрука, Австрия, и Швейцарского федерального Закона о защите животных соответственно.

Мыши

20 Самок мышей C57BL/6Rj или B6(C)/Rj-Tyrc/c в возрасте от шести до восьми недель получали из Janvier (Le Genest St Isle, France) или Charles River (L'Arbresles, France).

Линии опухолевых клеток для имплантации

25 Клетки E.G7-OVA заказывали в ATCC и поддерживают в полной среде RPMI 1640 с 0,4 мг/мл генетицина (Life Technologies). Клетки B16-OVA обеспечивались Bertrand Huard (University of Grenoble-Alpes, Grenoble, France) и их поддерживают в полной среде RPMI 1640 с 1 мг/мл генетицина. Клетки TC-1 клетки обеспечивались T.C. Wu (Johns Hopkins University, Maryland, US) и их культивировали в полной среде RPMI 1640 с 0,4 мг/мл генетицина. Клетки MC-38 были любезно предоставлены Готфридом Байером (Medical University of Innsbruck, Innsbruck, Austria) и их содержали в полной среде DMEM, 30 содержащей 5% гентамицина. Для имплантации опухоли мышам подкожно вводили 3×10^5 клеток E.G7-OVA, 2×10^5 клеток B16-OVA или 2×10^5 клеток MC-38 в правый бок или 1×10^5 клеток TC-1 в спину. Для мониторинга роста опухоли диаметр опухоли измеряли 2–3 раза в неделю с помощью штангенциркуля, а объем рассчитывали по формуле: $0,4 \times \text{длина} \times \text{ширина}^2$. Мышей умерщвляли,

когда размер опухоли достигал размера, установленного соответствующими ветеринарными службами, или опухоли демонстрировали признаки изъязвления. Животных подвергали эвтаназии путем удушения углекислым газом и смещения шейных позвонков.

5 Создание вакцинных конструкций

Рекомбинантные белковые вакцинные конструкции комплекса первого компонента (К) были разработаны и произведены в *E. coli* компанией Genscript. В процессе очистки эндотоксина удаляли из вакцин путем интенсивного промывания с помощью Triton-X114 с последующей аффинной хроматографией. 10 Содержание эндотоксина определяли количественно в каждой партии вакцины с использованием LAL-хромогенного анализа. Для дальнейших экспериментов *in vitro* и *in vivo* использовали только партии с уровнем эндотоксина ниже 10 ЕЭ/мг белка (в соответствии с рекомендациями). Первый компонент (К) вакцины OVA содержит эпитопы H-2b CD4 и CD8 из овальбумина, тогда как первый 15 компонент (К), включающий Mad24 (мультиантигенный домен 24), содержит иммуногенные неозпитопы Adpgk и Repl1. Что касается антигенов вируса папилломы человека (HPV), то первый компонент (К) содержит Mad25 (мультиантигенный домен 25), который содержит эпитопы H-2b CD4 и CD8 из E7 HPV.

20 Ранее были описаны рекомбинантные вирусы VSV-GP, VSV-GP-OVA и VSV-GP-люцифераза (VSV-GP-Luc) (Muik et al., 2014, Cancer Res. 74(13): 3567-3578; Tober et al. al., 2014, J. Virol. 88(9): 4897-4907; Dold et al., 2016, Mol Ther. Oncolitics 3: 16021), тогда как VSV-GP-Mad24 и VSV-GP-HPV были получены *de novo*. VSV-GP-Mad24 (мультиантигенный домен 24) экспрессирует 25 иммуногенные неозпитопы Adpgk и Repl1 (Yadav et al., 2014, Nature 515(7528): 572-576), а VSV-GP-HPV кодирует ослабленную конструкцию слияния E6/E7 (Cassetti et al., 2004, Vaccine 22(3-4): 520-527), кроме E2 дикого типа. Все варианты рекомбинантного вируса были извлечены и получены своими силами, как описано ранее (Heilmann et al., 2019, Viruses 11(11): 989). Вирусы очищали с 30 использованием сахарозной подушки и титровали на клетках ВНК-21 (ATCC).

Иммунизация и блокада контрольной точки

Для иммунизации животных без опухолей, мышей случайным образом распределяли по разным группам лечения. Для модели E.G7-OVA мыши получали первую вакцинацию на 5-й день после имплантации опухоли с

последующими 3 бустерными иммунизациями с интервалом 7 дней. Мышей с имплантированными опухолями МС-38 вакцинировали на 3, 10, 17 и 24 день после имплантации опухоли. Мышей с опухолями ТС-1 группировали по размеру опухоли до первой иммунизации на 7-й день после имплантации опухоли, чтобы средний размер опухоли в каждой экспериментальной группе был сопоставим. Вакцинацию повторяли на 14, 28 и 49 день после имплантации опухоли. Мышей вакцинировали либо 2 нмоль комплекса первого комплекса (К) (направленным на соответствующий ТАА), вводимого п.к. в основание хвоста либо с 1×10^7 TCID₅₀ соответствующего второго компонента вируса (V) (VSV-GP-ТАА или VSV-GP), вводимого внутривенно в латеральную хвостовую вену в дни, указанные выше.

Для блокады контрольной точки мышам с опухолью E.G7-OVA внутривенно вводили 200 мкг антитела αPD-1 (клон RMP1-14, BioXcell) каждые 4 дня, начиная с 7-го дня после имплантации опухоли. Для модели опухоли МС-38 200 мкг антитела αPD-L1 (клон 10F.9G2, BioXCell) вводили внутрибрюшинно на 6, 10, 13, 17, 20, 24 и 27 день после имплантации опухоли. Мышам с опухолями ТС-1 внутривенно вводили 200 мкг антитела αPD-1 через 7, 15, 28 и 49 дней после имплантации опухоли.

Проточная цитометрия

Суспензию отдельных клеток готовили из селезенки и костного мозга путем механической диссоциации с использованием клеточного сита 40 мкм. Затем следовал лизис эритроцитов с использованием лизирующего буфера Pharm Lyse™ (BD Biosciences). Для цельной крови лизис проводили после поверхностного окрашивания. Опухولةинфильтрирующие лейкоциты (TIL) очищали с использованием набора для диссоциации опухолей мышей (Miltenyi) в соответствии с инструкциями производителя. Вкратце, опухолевые ткани ТС-1 разрезали скальпелем на кусочки размером 2-4 мм, суспендировали в простой среде DMEM, содержащей ферменты, диссоциирующие опухоль (Miltenyi), и расщепляли на Gentle MACS с системой нагрева (Miltenyi) с использованием программы для солидных опухолей.

Ферментативное расщепление останавливали охлаждением клеток холодным раствором ФСБ 0,5% БСА. После фильтрации через сито для клеток 70 мм клетки CD45⁺ очищали с использованием микрогранул CD45 TIL (Miltenyi)

в соответствии с протоколом производителя и использовали для анализа проточной цитометрией.

Для обнаружения антигенспецифических CD8⁺ Т-клеток цельную кровь или суспензии отдельных клеток из селезенки, костного мозга или опухолей метили одним или несколькими из следующих флуоресцентно меченных мультимеров пептид-МНС: H2-Kb-SIINFEKL (OVA), H2-Db-ASMTNMELM (Adpgk), H2-Kb-RGYVYQGL (VSV-N), все из MBL International (Woburn, MA, US), или H2-Db-RAHYNIVTF (E7), который был из Immudex (Copenhagen, Denmark). Затем проводили окрашивание поверхности следующими антителами: CD8 (53-6,7), CD90.2 (30-H12), CD44 (IM7); CD62L (MEL-14), CD127 (SB/199), KLRG1 (2F1), CD4 (GK1.5), CD19 (6D5), CD14 (Sa14-2), все от BioLegend (San Diego, CA, US). Мертвые клетки метили с помощью набора LIVE/DEAD™ Fixable Near-IR Dead Cell Stain Kit (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, US).

Для фенотипирования субпопуляций лейкоцитов, инфильтрирующих опухоль, использовали следующие моноклональные антитела (mAbs): CD45 (30F11), CD11b (M1/70), CD3 (17A2), CD4 (RMA4-4), CD8 (53-6.7), CD25 (3C7), KLRG1 (2F1), CD279 (29F.1A12), CD366 (RMT3-23), Ly6C (AL-21), Ly6G (1A8), Ly6C/G (RB6-8C5), CD335 (29A1.4), CD11c (HL3), CD103 (M290), I-A/I-E (M5/114.5.2), FoxP3 (FJK-16s), CD206 (C068C2), CD68 (FA-11), все из BD Biosciences (San Jose, CA, US) за исключением CD279, CD366, CD68, CD206 и Ly6C/G, которые были из Biolegend и FoxP3 из eBioscience. Мертвые клетки идентифицировали желтым или водным флуоресцентным реактивным красителем LIVE/DEAD от Life Technologies и исключали из анализа.

Внутриклеточное окрашивание проводили после стимуляции указанными пептидами и в присутствии mAb CD107a (1D4B, BD Biosciences) в течение 6 ч в присутствии брефельдина А (GolgiPlug, BD Biosciences). Внутриклеточное окрашивание проводили с помощью mAb к IFN- γ (XMG1.2, BD Biosciences), TNF- α (MP6-XT22, BD Biosciences) и соответствующим изотипическим контролям (BD Biosciences). Для внутриклеточного окрашивания гранзимом В клетки культивировали в течение 4 ч в присутствии брефельдина А (GolgiPlug, BD Biosciences). Внутриклеточное окрашивание проводили с помощью mAb к гранзиму В (REA226, Miltenyi). Фиксацию и пермеабелизацию проводили с помощью набора BD Bioscience в соответствии с инструкциями производителя.

Образцы были получены на FACS Canto II (BD Biosciences), проточном цитометре Gallios (Beckman Coulter) или Attune (ThermoFisher).

Данные проточной цитометрии анализировали с помощью программного обеспечения FlowJo версии 10.5.3 (FlowJo, LLC, Oregon, US) или программного обеспечения Kaluza (Beckman Coulter).

Транскриптомный анализ

Опухолевая ткань была быстро заморожена в жидком азоте после сбора, и гомогенаты были приготовлены с использованием буфера RLT (Qiagen) и SpeedMill PLUS (Analytik Jena, Jena, Germany) с последующей экстракцией фенолом/хлороформом. Затем водную фазу, содержащую РНК, обрабатывали и выделяли РНК с использованием набора RNeasy Mini (Qiagen) в соответствии с инструкциями производителя. Качество выделенной РНК оценивали с использованием РНК анализа ScreenTape (Agilent Technologies, Waldbronn, Germany) на TapeStation 4200 (Agilent Technologies). Экстрагированную РНК анализировали на дифференциальную экспрессию с помощью панели nCounter PanCancer Immune Profiling Panel и системы анализа nCounter FLEX (NanoString Technologies, Seattle, WA, USA). Профилированные данные были предварительно обработаны в соответствии с рекомендациями производителя (Kulkarni (2011) "Digital multiplexed gene expression analysis using the NanoString nCounter system." Curr Protoc Mol Biol Chapter 25: Unit25B.10), а тепловые карты были созданы с использованием программного обеспечения nSolver 4.0.

Нормализованный подсчет генов из программного обеспечения nSolver был использован для расчета анализа главных компонент (PCA) с использованием ClustVis (Metsalu and Vilo (2015) "ClustVis: a web tool for visualizing clustering of multivariate data using Principal Component Analysis and heatmap." Nucleic Acids Res 43(W1): W566-570). Диаграммы Венна были созданы с помощью веб-инструмента (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>).

Мультиплексный твердофазный иммуноферментный анализ (ELISA)

Цитокины и хемокины, присутствующие в плазме иммунизированных животных, анализировали с использованием панели антивирусного ответа мыши LEGENDplex™ Mouse Anti-Virus Response Panel (13-plex) (BioLegend) в соответствии с инструкциями производителя. Данные были проанализированы с использованием облачного программного обеспечения для анализа данных LEGENDplex™ (BioLegend).

Иммуногистохимия

Опухоли фиксировали в 4% буферном растворе формальдегида и заливали в парафин. Срезы толщиной 2-3 мкм окрашивали гематоксилином и эозином (ГЭ). Иммуногистохимию (ИГХ) использовали для оценки Т-клеток с использованием первичных антител против CD8 (Cell Signaling, #98941, разведение 1:2000). Для извлечения антигена срезы нагревали в цитратном буфере. Следующие этапы выполнялись либо вручную, либо автоматически в автостейнере (Lab Vision AS 360, Thermo Scientific, Fremont, USA): блокирование эндогенной пероксидазы путем инкубации в H_2O_2 , снижение фона путем применения реагента, блокирующего белок, и нанесение соответствующего первичного антитела. Использовали состав вторичного антитела, конъюгированного с меченым ферментом полимером, и диаминобензидин в качестве хромогена. Срезы контр-окрашивали гематоксилином. Опытный патологоанатом, не знающий схемы лечения, оценивал срезы с помощью микроскопа Olympus BX-53 (Olympus, Tokyo, Japan).

Математическая статистика

Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения Prism (GraphPad) и считался статистически значимым, если $P < 0,05$. Используемые статистические тесты включали непарный двусторонний t-критерий, однофакторный дисперсионный анализ с множественным сравнением Тьюки, двухфакторный дисперсионный анализ с множественным сравнением Сидака, критерий Крускала-Уоллиса, критерий Манна-Уитни и проверка по логранговому критерию, как показано на легенда фигуры. Процедура Бенджамини-Екутиели использовалась для расчета FDR на основе р-значений, рассчитанных по t-тесту.

Примеры

Если не указано иное, в Примерах, описанных здесь ниже, первый компонент (K), также называемый KISIMA, представляет собой комплекс (i) проникающего в клетку пептида (Z13) в соответствии с SEQ ID NO: 2, (ii) (мульти)антигенный домен (Mad), который содержит по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп и (iii) пептидный агонист TLR Anaxa в соответствии либо с SEQ ID NO: 6, либо с вариантом последовательности SEQ ID NO: 7, в котором компоненты (i) - (iii) являются ковалентно связанными в порядке от N-конца к С-концу. В конструкциях Z13Mad5Anaxa, Z13Mad10Anaxa

и Z13Mad12Anaxa пептидный агонист TLR Anaxa имеет последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 6. В конструкциях Z13Mad24Anaxa, Z13Mad25Anaxa и Z13Mad39Anaxa пептидный агонист TLR Anaxa имеет последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 7. KISIMA-OVA представляет собой Z13Mad5Anaxa.

5 Пример 1

Гетерологичная прайм-буст вакцинация, использующая первый компонент (К) как прайм и второй компонент (V), вызывает самый высокий антиген-специфический ответ Т-клеток CD8

10 Для характеристики гетерологичной комбинации пептидной вакцины KISIM с онколитической вакциной VSV-GP-TAA был проведен ряд исследований иммуногенности с модельным антигеном (OVA), неоантигеном (Adpgk) и вирусным антигеном (HPV-E7). Мыши линии C57BL/6 без опухоли были вакцинированы трижды с использованием одной прайм и двух бустерных вакцинаций, в дни 0, 7 и 14 для антигенов OVA и Adpgk (Фигура 2А и 2В) или в дни 0, 7, 21 и 42 для антигенов HPV-E7 (Фигура 2С), с KISIMA-Ag (К) или VSV-Ag (V), или VSV-GP-пустым (V(∅)). У мышей брали кровь через 1 неделю после каждой вакцинации и проводили мультимерное окрашивание, выявляющее антиген-специфические CD8 Т-клетки, и анализировали с помощью проточной цитометрии (5 мышей в группе на антигены OVA и Adpgk и 3 мыши на группу на антиген HPV). Z13Mad5Anaxa (п.к.); VSV-GP-OVA (вводится внутримышечно (в.м.)) (Фигура 2А); Z13Mad12Anaxa и VSV-GP-Mad24 (в.в.) (Фигура 2В), Z13Mad10Anaxa (п.к.) и VSV-GP-HPV-E2-E6-E7 (в.в.) (Фигура 2С).

Пример 2

Путь введения VSV-GP-антигена

25 Два пути вакцинации, внутривенное (в.в.) введение и внутримышечное (в.м.) введение, сравнивали для VSV-GP-OVA в комбинации с Z13Mad5Anaxa (п.к.) у наивных мышей. Бустирование с помощью VSV-GP-OVA в.в. индуцирует сильнейший циркулирующий OVA-специфический иммунный ответ, который снижается во времени гораздо менее быстро, чем при в.м. пути введения (см. Фиг. 3). На 134-й день, в конце периода наблюдения, число OVA-специфических CD8 Т-клеток также увеличивалось при в.в. введении по сравнению с в.м. группой в селезенке и костном мозге (см. Фиг. 3).

Кроме того, количество эффекторных и OVA-специфических CD8 Т-клеток памяти было значительно выше после в.в. введения по сравнению с в.м.

инъекциями VSV-GP-OVA в кровотке, а также в лимфоидных органах (селезенка и костный мозг).

Антиген-специфический Т-клеточный ответ также оценивали у мышей, получавших VSV-GP-OVA п.к., в.м., в.в. или внутрибрюшинным (в.б.) путями.

5 VSV-GP-OVA, вводимый п.к., в.б. или в.м., приводил к худшему OVA-специфичному ответу CD8 Т-клеток по сравнению с в.в. путем введения.

Пример 3

Иммуногенность вакцины по данному изобретению

10 Наивных мышей C57BL/6 (5 мышей в группе) вакцинировали в Дни 0 и 28 (недели 0 и 4) подкожно 10 нмоль первого компонента вакцины по данному изобретению (К, SEQ ID NO: 60) в основание хвоста и в День 14 (неделя 2) внутривенно с 10^7 TCID₅₀ одной из различных конструкций VSV-GP, такой как VSV-GP-пустой вирус (VSVΦ), VSV-GP-Mad128 (SEQ ID NO: 80), который представляет собой VSV-GP, кодирующий антигенный домен в соответствии с
15 SEQ ID NO: 45, VSV-GP-Mad128Апаха, который представляет собой VSV-GP, кодирующий аминокислотную последовательность, содержащую SEQ ID NO: 71, который содержит антигенный домен, содержащий SEQ ID NO: 45, и иммуномодулирующий фрагмент аннексина II (SEQ ID NO: 7) или VSV-GP-ATP128, который представляет собой VSV-GP, кодирующий в своем геноме
20 комплекс, включающий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 60.

Мультимерное окрашивание (А) выполняли на клетках крови в День 35 (5-я неделя) для количественного определения СЕА-специфических Т-клеток CD8. Экспрессию PD-1 и KLRG1 (В) также оценивали с помощью проточной
25 цитометрии.

На Фигуре 13 А показан процент мультимер-позитивных клеток (в % от CD8 Т-клеток) для различных экспериментальных групп, а на Фигуре 13 В показан процент PD-1-KLRG1⁻, PD-1-KLRG1⁺, PD-1⁺KLRG1⁻, PD-1⁺KLRG1⁺ среди мультимер-позитивных клеток.

30 Пример 4

СЕА-специфический иммунный ответ на периферии

Наивных мышей C57BL/6 (5 мышей в группе) вакцинировали в Дни 0 и 28 (недели 0 и 4) подкожно 10 нмоль первого компонента вакцины по данному изобретению (К, SEQ ID NO: 60) в основание хвоста и в День 14 (неделя 2)

внутривенно с 10^7 TCID₅₀ одной из различных конструкций VSV-GP (ср. Пример 3).

Анализ ELISpot (А) проводили на клетках селезенки в День 35 (5-я неделя) для количественного определения СЕА-специфических Т-клеток, продуцирующих IFN- γ . Вкратце, клетки селезенки инкубировали в течение 24 часов с пулами СЕА пептидов. Внутриклеточное окрашивание (В) проводили на клетках селезенки в День 35 (5-я неделя) для количественного определения Т-клеток CD8, продуцирующих СЕА-специфические цитокины. Вкратце, клетки селезенки инкубировали в течение 6 часов с пулами СЕА пептидов, включая 5 часов с ингибитором транспорта белка перед окрашиванием и анализом с помощью проточной цитометрии.

На Фиг. 14А показано количество клеток, продуцирующих СЕА-специфический IFN- γ (на миллион Т-клеток) для различных экспериментальных групп, а на Фиг. 14В показан процент клеток, продуцирующих цитокины, среди Т-клеток CD8.

«АТР128» относится к комплексу первого компонента (К) вакцины по данному изобретению, который состоит из полипептида, состоящего из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 60, «Mad128» относится к антигенному домену данного изобретения, содержащему аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 45, «VSV□» относится к VSV-GP, который экспрессирует только GP вируса LCMV, но не кодирует в своем геноме антигенный домен.

Пример 5

Частота гранзим В-положительных циркулирующих СЕА-специфических CD8 Т-клеток

Наивных мышей C57BL/6 (5 мышей в группе) вакцинировали в Дни 0 и 28 (недели 0 и 4) подкожно 10 нмоль первого компонента К вакцины по данному изобретению (К, SEQ ID NO: 60, ("АТР128")) в основание хвоста и в День 14 (2-я неделя) внутривенно с 10^7 TCID₅₀ одной из различных конструкций VSV-GP.

Внутриклеточное окрашивание клеток крови проводили в День 35 (неделя 5) для количественного определения СЕА-специфических продуцирующих гранзим В CD8 Т-клеток. Вкратце, клетки крови инкубировали в течение 4 часов с ингибитором транспорта белка перед мультимерным и внутриклеточным окрашиванием и анализом с помощью проточной цитометрии.

На Фиг. 15 показан процент клеток, продуцирующих гранзим В, среди СЕА-специфических CD8 Т-клеток для различных экспериментальных групп.

Как можно видеть на Фиг. 15, рекомбинантные VSV в соответствии с данным изобретением, содержащие антигенный домен без функциональности СРР, демонстрируют превосходные многофункциональные СЕА-специфические
5 ответы CD8 Т-клеток на периферии.

Пример 6

Гетерологическая вакцинация обращает вспять иммуносупрессию в микроокружении опухоли (ТМЕ)

10 Мышей вакцинировали, как показано на Фиг. 4А и описано в Примере 7. Анализ ТМЕ и инфильтрирующей опухоль лейкоцитов (TIL) после гетерологической прайм-буст вакцины с использованием вакцины, содержащей антигенный домен (Mad25, SEQ ID NO: 75), который содержит антигенные эпитопы HPV E7 и VSV-GP-E7, кодирующий в своем геноме одни и те же
15 антигенные эпитопы E7 в модели опухоли ТС-1, которую оценивали на 27-й день, через неделю после введения второго компонента (V) («VSV-GP-HPV буст»), транскриптомным анализом на основе NanoString®, проточной цитометрией и иммуногистохимией.

После гетерологической KV вакцинации резкие изменения в ТМЕ ТС-1
20 наблюдались при транскриптомном анализе на основе NanoString®, о чем свидетельствует дифференциальная экспрессия нескольких генов (Фиг. 18, А и В). 64,9% всех генов панели были активированы в опухолях, обработанных KV, по сравнению с 36,8% после аутологичной VV вакцинации; что указывает на более сильную активацию множественных иммунных путей (Фиг. 18А). В то
25 время как 244 из этих генов можно отнести к иммуноактивирующим эффектам VSV-GP-HPV, набор из 243 генов активировался только в группе гетерологической вакцинации (Фиг. 18С). Гены, экспрессия которых однозначно активируется при лечении KV, участвуют как во врожденном, так и в адаптивном иммунном ответе (Фигура 19). Интересно, что гетерологичная
30 вакцинация также отрицательно регулировала экспрессию 35 генов (Фиг. 18, В и D), включая *Cdkn1a* и *Msln*, которые участвуют в развитии рака. Кроме того, гетерологичная KV вакцинация активировала множественные иммунные гены, связанные с цитотоксическими Т-клетками (Фиг. 18Е), дендритными клетками (DC) (Фиг. 18G), цитокинами (Фиг. 18F), хемокинами (Фиг. 18H) и

процессингом и презентацией антигена (Фиг. 18I). Иерархическая кластеризация показала, что опухоли мышей, получавших определенную комбинацию вакцин, имели сходный транскриптом и, следовательно, с большей вероятностью группировались вместе. Биологически повышенная инфильтрация СТЛ наряду с 5 повышенными уровнями цитотоксических генов, таких как гранзимы (*Grzma*, *Grzmb* и *Grzmk*) и перфорин (*Prfl*) (Фиг. 18E), а также презентация антигена (Фиг. 18I) предполагают усиленное уничтожение опухолевых клеток в результате гетерологичной вакцинации. Кроме того, большее количество генов, указывающих на функцию и созревание DC, включая перекрестную презентацию, 10 активировалось в гетерологичных обработанных опухолях, что поддерживает противоопухолевый иммунитет (Фиг. 18G). Все комбинации вакцин активировали компоненты механизма антигенного процессинга, но гомологичная VV вакцинация оказывала более сильное влияние на гены, кодирующие молекулы МНС I и МНС II; тогда как вакцинация KV 15 положительно регулировала неклассические МНС (Фиг. 18I).

Как провоспалительные, так и противовоспалительные цитокины повышались в результате иммуноактивирующего эффекта KV вакцинации. Следует отметить, что повышенные уровни интерферонов типа I и типа II (Фиг. 18F) объясняют активацию генов, участвующих в пути презентации антигена. 20 Кроме того, цитокины, такие как *Ifng* и *Tnf*, важные для эффекторных функций Т-клеток, были повышены в опухолях ТС-1 после гетерологичной вакцинации (Фиг. 18F). Наконец, как VV, так и KV вакцинация индуцировала экспрессию нескольких хемокинов в обработанных опухолях ТС-1. Интересно, что уровень некоторых цитокинов и хемокинов, активность которых в опухоли повышалась, 25 также был повышен в плазме мышей, получавших гетерологичную KV вакцину, включая повышенные уровни IFN- γ , CCL5, CXCL10, CCL2, IL-6, CXCL1 и IL-1 β через один день после бустерной вакцины VSV-GP-HPV (Фиг. 20A).

Наблюдения транскриптомного анализа были дополнительно подтверждены анализом количества (Фиг. 20B) и типов (Фиг. 6) инфильтрирующих опухоль лейкоцитов (TIL). Основные популяции лейкоцитов количественно определяли с 30 помощью нескольких комбинаций маркеров и перераспределения в опухолях, представленных на Фиг. 6. Иммуносупрессивные клетки, такие как супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC), гетерогенная популяция незрелых миелоидных клеток, регуляторные Т-клетки (Treg) и

Опухولةассоциированные макрофаги-2 (TAM2, в отличие от провоспалительных, TAM1) являются основным препятствием для иммунотерапии. TIL из необработанных опухолей TC-1 преимущественно состоят из иммуносупрессивных клеток, таких как M2-подобные опухولةассоциированные макрофаги (TAM-2) и супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC), которые вместе составляют более 80% инфильтрирующих опухоль иммунных клеток, в то время как T-клетки составляют только 1% инфильтрата (Фиг. 6A). Терапевтическая вакцинация вызвала глубокие изменения в TIL с поразительным притоком популяций как CD8+, так и CD4+ T-клеток и резким снижением TAM-2, что привело к увеличению соотношения TAM-1:TAM-2, что свидетельствует о реполяризации. Кроме того, гетерологичная KV вакцинация способствовала сильнейшему притоку CD8+ T-клеток, которые составляли более 25% иммунных клеток, проникающих в опухоль (Фиг. 6A). Таким образом, в то время как обе схемы вакцинации способствовали перемещению иммунных клеток в опухоль, вакцинация KV привлекла наибольшую долю CTL, CD4+ T-хелперных клеток и увеличила соотношение TAM-1: TAM-2, тем самым ремоделируя TME и создавая благоприятную среду для клиренса опухолевых клеток. Применение вакцины, как описано выше, увеличивает доли CD8 и эффекторных CD4 T-клеток и демонстрирует благоприятный TME, характеризующийся значительным улучшением соотношения TAM1/TAM2.

Затем была проведена иммуногистохимия для подтверждения локализации иммунных инфильтратов. Окрашивание CD8 опухолей, собранных через 9 дней после бустерной вакцинации, подтвердило общий фенотип иммунного исключения необработанных опухолей TC-1 с небольшим количеством CD8+ T-клеток, ограниченным краем опухоли (Фиг. 20C). В то время как инфильтрация CD8+ T-клеток увеличивалась при гомологичной схеме вакцинации KK и VV, гетерологичная комбинация KV демонстрировала массивное присутствие цитотоксических T-клеток в самых глубоких частях опухоли.

30 Пример 7

Праймирование первым компонентом (K) вакцины улучшает функциональность периферических антиген-специфических CTL

Мышей с пальпируемыми опухолями TC-1 вакцинировали либо 2 нмоль первого компонента (K), в котором антигенный домен содержит Mad25,

вводимого п.к. на 7-й день и 1×10^7 TCID₅₀ второго компонента (V) (VSV-GP-HPV-E2-E6-E7, вводимого внутривенно) на 14-й день, или дважды с 2 нмоль первого компонента (K) на 7-й и 14-й дни, или дважды со вторым компонентом (V) в Дни 7 и 14 (Фиг. 4). Селезенки собирали на 21-й день после имплантации опухолей TC-1 для анализа лимфоцитов CD8. Используемый VSV-GP-HPV-E2-E6-E7 содержит полноразмерные гены, кодирующие три различных антигена E2, E6* и E7* (содержащие один и тот же антигенный домен Mad25), полученные из HPV16. Исходные последовательности E6 и E7 были мутированы, чтобы нести точечные мутации, которые аннулируют их онкогенность. Продукция цитокинов рестимулированными *ex vivo* HPV-специфичными CD8 Т-клетками измерялась с помощью внутриклеточного окрашивания проточной цитометрией (Фиг. 4B), которое показывает значительное увеличение количества клеток IFN γ ⁺-CD107⁺, клеток IFN γ ⁺-TNF α ⁺ и клеток IFN γ ⁺-TNF α ⁺-CD107⁺ по сравнению с контрольными условиями, и демонстрирует, что гетерологичная вакцинация (KV) приводит к более сильным реакциям, чем гомологичная вакцинация (VV). (С) Экспрессия гранзима В селезеночными CD8 Т-клетками измерялась с помощью проточной цитометрии, которая демонстрирует, что гетерологичная вакцинация (KV) приводит к более сильным ответам, чем гомологичная вакцинация (либо VV, либо KK).

В соответствии с результатами, полученными на животных без опухолей, прайм с первым компонентом (K)-HPV с последующей бустер-инъекцией VSV-GP-HPV приводили к значительно более высокой частоте (Фиг. 16A) и абсолютному количеству (Фиг. 16B) специфичных для HPV-E7 CD8⁺ Т-клеток на периферии по сравнению с гомологичной обработкой VSV-GP-HPV. Поскольку хорошо известно, что иммуносупрессивное микроокружение опухоли вызывает быстрое истощение Т-клеток, был оценен фенотип циркулирующих антиген-специфических CD8⁺ Т-клеток. Как показано на Фиг. 16C, только небольшая часть HPV-E7-специфических CD8⁺ Т-клеток демонстрировала истощенный фенотип на периферии, характеризующийся экспрессией PD-1 и Tim-3.

Пример 8

Праймирование первым компонентом (K) вакцины улучшает функциональность внутриопухолевых антиген-специфических CTL

Мышей с пальпируемыми опухолями TC-1 вакцинировали либо 2 нмоль первого компонента (K) с антигенным доменом Mad25 (вводят п.к.) в День 7, либо 1×10^7 TCID₅₀ второго компонента (V) (VSV-GP-HPV-E2-E6-E7), содержащего тот же антигенный домен Mad25 (вводится в.в.) в День 14 после имплантации опухоли TC-1, или дважды вторым компонентом (V) (VSV-GP-HPV-E2-E6-E7, вводится в.в.) в Дни 7 и 14 после имплантации опухоли TC-1 (Фиг. 5). Опухоли собирали в День 21 после имплантации для анализа инфильтрирующих опухоль лимфоцитов (TIL). Частоту экспрессии маркеров активации и истощения (PD1, Tim3, KLRG1) HPV-специфическими CD8 Т-клетками измеряли с помощью проточной цитометрии (Фиг. 5B). Однако, в то время, как только небольшая часть специфичных для HPV-E7 демонстрировала истощенный фенотип на периферии (Фиг. 16C, см. Пример 7 выше), большинство инфильтрирующих опухоль CD8⁺ Т-клеток экспрессировали оба маркера, что предполагает их истощение (Фиг. 5B). Интересно, что более высокая доля внутриопухолевых PD-1⁺Tim-3⁺ CD8⁺ Т-клеток у мышей, вакцинированных KV, по-прежнему экспрессировала маркер ранней активации KLRG-1, что указывает на менее выраженный статус истощения по сравнению с мышами, получавшими гомологичный VV. Поскольку истощение Т-клеток представляет собой прогрессирующий процесс, который начинается с экспрессии маркеров и продолжается с потерей функции и, в конечном итоге, с гибелью клеток, функциональность CD8⁺ Т-клеток оценивали путем измерения секреции цитокинов после повторной стимуляции *ex vivo*. Продукцию цитокинов рестимулированными *ex vivo* HPV-специфическими CD8 Т-клетками измеряли с помощью окрашивания внутриклеточной проточной цитометрией (Фиг. 5C). В то время как на периферии значительно более высокая доля селезеночных HPV-E7-специфических CD8⁺ Т-клеток у мышей, вакцинированных KV, экспрессировала IFN- γ , TNF- α и фактор дегрануляции CD107a по сравнению с мышами, которых лечили с помощью VV (Фиг. 4B, Пример 7) и более высокая частота CTL, продуцирующих гранзим В, была обнаружена у мышей, вакцинированных KV, по сравнению с мышами, вакцинированными VV (Фиг. 4C, Пример 7), было обнаружено, что гораздо более высокая доля CD8⁺ Т-клеток активируется в опухоли, где большинство HPV-E7-специфических CD8⁺ Т-клеток были полифункциональными, продуцируя IFN- γ , TNF- α и/или CD107a (Фиг. 5C). В соответствии с

результатами селезенки вакцинация KV индуцировала значительно более высокую долю многофункциональных CD8⁺ Т-клеток по сравнению с лечением VV, в частности тройных положительных клеток IFN- γ +TNF- α +CD107a⁺, подтверждающая данные фенотипирования и подчеркивая высоко цитотоксический, слабо истощенный фенотип KV, вызывающий антиген-специфические CD8⁺ Т-клетки.

Обе схемы вакцинации (KV и VV) были способны индуцировать высокую инфильтрацию CD8⁺ Т-клеток в опухоль, около 60% из которых, как было обнаружено, являются специфичными к HPV-E7 при мультимерном окрашивании (Фиг. 17А и В). В отличие от периферии, внутри опухоли не было различий между двумя схемами вакцинации по частоте специфичных для HPV-E7 CD8⁺ Т-клеток (Фиг. 17А) и их количеству (Фиг. 17В).

В целом, праймирование первым компонентом (К) и бустирование вторым компонентом (V) не только поддерживает индукцию большего количества опухолеспецифических CD8⁺ Т-клеток, но также способствует их рекрутированию в опухоль и повышает их функциональность по сравнению с гомологичной вирусной вакцинацией.

Пример 9

Терапевтический эффект гетерологичной вакцины KVKK в сингенных моделях опухолей, экспрессирующих овальбумин

Мышам C57BL/6 вводили 3×10^5 клеток EG.7. Мышей лечили 2 нмоль первого компонента (К), содержащего антигенный домен Mad39 (аминокислотная последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 77), вводимого п.к. (пунктирные линии), 1×10^7 TCID₅₀ VSV-GP-OVA, содержащего полноразмерный ген, кодирующий овальбумин (содержащий антигенный домен Mad39), в своем геноме, который вводили внутривенно (пунктирные линии) или 200 мкг антитела α PD-1, который вводили внутривенно. Кровь брали через 7 дней после вакцинации на тетрамерный анализ. Введение либо первого компонента (К), либо второго компонента (V) (VSV-GP-OVA) проводили на 5, 12, 19 и 26 день после имплантации опухоли. Введение антитела α PD-1 проводили на 7, 11, 15, 19, 23 и 27 дни после имплантации опухоли. Контроли были выполнены с имитацией лечения и только с антителом α PD-1. Были протестированы четыре различных схемы лечения: VVVV, KKKK, KVKK и KVKK + α PD-1. Оценивали рост опухоли (Фиг. 7А) и выживаемость (Фиг. 7В)

после лечения. Число полных респондеров (серые), т. е. мышей без опухолей, среди общего числа мышей (черные) указано в скобках рядом с кривыми роста опухоли для каждой лечебной группы. Были проанализированы частота Ova-специфических CTL (Фиг. 7C) и доля PD-1-позитивных среди тетрамер-
 5 позитивных клеток Ova в периферической крови (Фиг. 7D). Корреляцию между величиной ответа Ova (на 26-й день) и размерами опухоли (на 25-й день) анализировали для трех различных групп лечения (Фиг. 7E).

Пример 10

**Эффективность терапевтической противораковой вакцины с
 10 использованием первого компонента (К) и второго компонента (V) вакцины (VSV-GP-TAA) в моделях сингенных опухолей, нацеленных на неопитопы**

Мышам C57BL/6 вводили 2×10^5 клеток MC-38 подкожно в правый бок. Мышей вакцинировали против Adpgk и Reps1 (неопитопы MC-38, антигенный домен Mad24, SEQ ID NO: 76) с использованием 2 нмоль первого компонента
 15 (К), включающего Mad24, который вводили п.к., или 1×10^7 TCID₅₀ второго компонента (V) (VSV-GP-TAA), содержащего Mad24, который вводили внутривенно в указанные дни (пунктирные линии). Кроме того, мыши получали 200 мкг антитела α PD-L1 внутривенно в указанные дни (пунктирные
 20 линии). Введение либо первого компонента (К), либо второго компонента (V) (VSV-GP-TAA) проводили на 3, 10, 17 и 24 день после инъекции клеток MC-38. Введение антитела α PD-1 проводили через 6, 10, 13, 17, 20, 24 и 27 дней после инъекции клеток MC-38. Контроли были выполнены с имитацией лечения и только с антителом α PD-1. Были протестированы четыре различных схемы
 25 лечения: VVVV, KKKK, KVKK и KVKK + α PD-1. Наблюдали за ростом опухоли (Фиг. 8A) и выживаемостью (Фиг. 8B) животных. Число полных респондеров (серые), т. е. мышей без опухолей, среди общего числа мышей (черные) указано в скобках рядом с кривыми роста опухоли для каждой лечебной группы. Количество циркулирующих Adpgk-специфических CD8 Т-клеток оценивали с помощью проточной цитометрии через 7 дней после каждой вакцинации (Фиг.
 30 8C).

Пример 11

Эффективность терапевтической противораковой вакцинации с использованием первого компонента (К) и второго компонента (V) VSV-GP-TAA в сингенных моделях опухолей, нацеленных на онковирусный антиген

Мышам C57BL/6 вводили $1,5 \times 10^5$ клеток TC-1 подкожно в правый бок. Мышей вакцинировали против E7 (онкобелок, полученный из HPV, экспрессируемый в клетках TC-1), используя 2 нмоль первого компонента (K), включающего антигенный домен Mad25 (SEQ ID NO: 75), который вводили п.к., и 1×10^7 TCID₅₀ VSV-GP-TAA, который вводили внутривенно, в указанные дни (пунктирные линии). Кроме того, мышам внутривенно вводили 200 мкг антитела α PD-1 в указанные дни (пунктирные линии). Введение либо первого компонента (K), либо второго компонента (V) (VSV-GP-TAA) проводили на 7, 14, 28 и 49 день после инъекции клеток TC-1. Введение антитела α PD-1 проводили на 7, 14 и 28 день после инъекции клеток TC-1. Контроли были выполнены с имитацией лечения и только с антителом α PD-1. Были протестированы четыре различных схемы лечения: VVVV, KKKK, KVKK и KVKK + α PD-1. Кривые роста опухоли (Фиг. 9А) и выживаемость (Фиг. 9В) животных контролировали. Количество циркулирующих HPV-E7-специфических CD8 Т-клеток оценивали с помощью проточной цитометрии через 7 дней после каждой вакцинации (Фиг. 9С). Показана корреляция между долей антигенспецифических CTL и размером опухоли (Фиг. 9D). Количество полных респондеров (серые) среди всех мышей (черные) указано в скобках рядом с кривыми роста опухоли для каждой группы лечения.

20 Пример 12

Гетерологическая прайм-буст вакцинация формирует длительную иммунную память у вакцинированных мышей

Для оценки иммунной памяти у вакцинированных мышей наличие циркулирующих опухолеспецифических CTL против вакцинированных антигенов оценивали у долгоживущих мышей, у которых отторглись подкожные опухоли после терапевтической вакцинации. Показана частота Ova-специфических (Фиг. 10А), Adpgk-специфических (Фиг. 10В) и E7-специфических (Фиг. 10С) CD8+ Т-клеток в периферической крови мышей, которые отторгли соответствующие EG.7 (Фиг. 10А), МС38 (Фиг. 10В) и опухоли TC-1 (Фиг. 10С).

30 Пример 13

Защита от повторного заражения опухолью у вакцинированных мышей

Выживших мышей из разных лечебных групп (Пример 9, Пример 10 и Пример 11) повторно заражали клетками EG.7, МС38 или TC-1, соответственно,

на противоположном боку, и последующий рост опухоли контролировали. На Фиг. 11А показаны результаты для группы EG.7-OVA, а на Фиг. 11В показаны объединенные данные трех независимых экспериментов ТС-1. Были включены 5
однопометники того же возраста (контроль). Количество мышей без опухолей (серые) среди всех мышей (черные) указано в скобках рядом с кривыми роста опухоли для каждой кривой роста опухоли. Результаты для всех трех моделей опухолей (EG.7, MC38 и ТС-1) представлены в Таблице 3 ниже:

а) Защита от повторного заражения в модели опухоли EG.7

Лечение	Долгоживущие особи	Защищенные от повторного заражения (%)	Ova-специфические CD8+ Т-клетки (%)
KKKK	1	0	0,58
KVKK	1	100	7,71
KVKK + αPD-1	4	100	21,45
KV_φKK	1	100	0,46

б) Защита от повторного заражения в модели опухоли MC38

Лечение	Долгоживущие особи	Защищенные от повторного заражения неоантиген-экспрессирующими клетками (%)	Защищенные от повторного заражения клетками, не имеющими неоантигена (%)	Adpgk-специфические CD8+ Т-клетки (%)
αPD-L1	1	100	100	0,07
VVVV	4	75	50	0,83
KVKK	1	100	0	2,63
KVKK + αPD-L1	5	100	100	10,94
KV_φKK	1	100	0	0,31
V_φV_φV_φV_φ	2	100	50	0,084

с) Защита от повторного заражения в модели опухоли Tc1

Лечение	Долгоживущие особи	Защищенные от повторного заражения (%)
VVVV	5	60
KVKK	6	100
KVKK + αPD-1	4	75

Таблица 3: Защита от повторного заражения у мышей с длительной ремиссией обработанных опухолей E.G7, MC-38 и ТС-1.

10 Таким образом, гетерологичная прайм-буст вакцина KVК (как сама по себе, так и в сочетании с антителами, блокирующими контрольную точку) развивает эффективную реакцию памяти, поскольку почти все повторно зараженные мыши быстро отторгали вновь имплантированную опухоль (Таблица 3, А-С).

15 Интересно, что у мышей, несущих ТС-1, только 60% выживших, получавших лечение гомологичным VSV-GP-HPV, были защищены от повторного заражения, что, возможно, отражает снижение образования клеток-предшественников

памяти по сравнению с гетерологичной вакцинацией. Точно так же только 75% выживших в течение длительного времени, которые успешно отторгли опухоли MC-38 после гомологичной вакцинации VSV-GP-Mad24, остались без опухолей после повторного заражения.

5 Пример 14

Компонент (К) способствует образованию Т-клеток памяти у вакцинированных мышей

Мышей без опухолей иммунизировали 2 нмоль первого компонента (К), включающего антигенный домен Mad5 (SEQ ID NO: 74), который вводили п.к., или 1×10^7 TCID₅₀ VSV-GP-Ova, содержащего полноразмерный ген, кодирующий овальбумин (содержащий антигенный домен Mad5), который вводили внутримышечно, на 0, 14 и 28 дни. Доля CD127-KLRG-1⁻ ранних эффекторных клеток (ЕЕС), KLRG-1⁺ короткоживущих эффекторных клеток (SLEC) и CD127⁺ эффекторных клеток-предшественников памяти (МРЕС) среди Ova-специфических CD8⁺ Т-клеток измеряли в периферической крови через 7 дней после 2-х первых иммунизаций и через 28 дней после 3-й иммунизации для гомологичной вакцинации (ККК) (Фиг. 12А), для гомологичной вакцинации VSV-GP-Ova (ВВВ) (Фиг. 12Б) и для гетерологической прайм-буст вакцинации (КВК) (Фиг. 12В).

20 Пример 15

Праймирование первым компонентом (К) имеет решающее значение для терапевтического эффекта гетерологичной вакцинации на модели опухоли ТС-1

Чтобы определить роль праймирования первым компонентом (К), лечение вторым компонентом (VSV-GP-HPV) через 14 дней после опухоли (время бустерной вакцинации) оценивали с праймирующим первым компонентом (К) или без него (Фиг. 21А). Вкратце, мышам вводили 1×10^5 клеток ТС-1 п.к. и иммунизировали с 2 нмоль праймирующего первого компонента (К)- (антигенный домен, включающий Mad25) п.к. через 7 дней или с 1×10^7 TCID₅₀ VSV-GP-HPV в.в. через 14 дней после имплантации опухоли, по существу как описано выше для модели ТС-1. Дополнительные дозы К и V вводили, как показано пунктирными линиями на Фиг. 21А.

Хотя лечение вирусом само по себе приводило к замедлению роста опухоли, ремиссии не наблюдалось (Фиг. 21, А и С). Напротив, лечение вирусом после

праймирующего первого компонента (К) приводило к полной ремиссии во всех опухолях; даже при больших опухолях (Фиг. 21, В и С). Это убедительно указывает на то, что праймирование первым компонентом (К) необходимо для индукции регрессии опухолей крупного размера, обработанных вирусом, через две недели после трансплантации. Эти данные свидетельствуют о том, что праймирование первым компонентом (К) закладывает иммунологическую основу для сильной ремиссии опухоли, которая следует за бустерной вакцинацией вторым компонентом (V) в модели опухоли ТС-1.

Взятые вместе данные, представленные в Примерах, убедительно подтверждают эффективность гетерологичной прайм-буст вакцины с первым компонентом (К) и вторым компонентом (V), как раскрыто в данном описании. Этот подход приводит не только к значительному повышению уровня периферических и внутриопухолевых Т-клеток, но также к глубокому изменению ТМЕ в сторону более поддерживающей иммунитет композиции.

ТАБЛИЦА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ И НОМЕРОВ SEQ ID (СПИСОК ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ):

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
SEQ ID NO: 1	MMDPNSTSEDVKFTDPYQVPFVQAFDQATRVYQ DLGGPSQAPLPCVLPVLPPEPLPQGQLTAYHVSTA PTGSWFSAPQAPENAYQAYAAPQLFPVSDITQNQ QTNQAGGEAPQPGDNSTVQATAAAVVFACPGANQG QQLADIGVPQPAPVAAPARRTRKPPQESLEECDSE LEIKRYKNRVASRKCRKFKQLLQHYREVAAAKSS ENDRLRLLKQMCPSLDVDSIIPRTPDVLHEDLLNF	ZEBRA раскрывается под регистрационн ым номером NCBI YP_401673
SEQ ID NO: 2	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSEN DRLRLLK	CPP3 (Z13)
SEQ ID NO: 3	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAK	CPP4 (Z14)
SEQ ID NO: 4	KRYKNRVASRKSRAKFK	CPP5 (Z15)
SEQ ID NO: 5	REVAAAKSSENDRLRLLK	CPP8 (Z18)
SEQ ID NO: 6	STVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	пептидный агонист TLR2 Анаха
SEQ ID NO: 7	STVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	Вариант последовательн ости пептидного агониста TLR “Анаха”
SEQ ID NO: 8	NIDRPKGLAFTDQVDSIKIAWESPQGQVSRVYRVT YSSPEDGIRELFPAPDGEDDTAELQGLRPGSEYTVS VVALHDDMESQPLIGIQST	EDA
SEQ ID NO: 9	MGKGDPPKPRGKMSSYAFFVQTCREHNKKKHPDA SVNFSEFSKCSERWKTMSAKEKGFEDMAKADK ARYEREMKTYIPPKGETKKKFKDPNAPKRPPSAFFL	TLR2 агонист ┐30-HMGB1

	FCSEYRPKIKGEHPGLSIGDVAKKLGEMWNNTAAD DKQPYEKKAALKKEKEYEKDIAAYRAKGPDAACK GVVKAEKSKKKK	
SEQ ID NO: 10	MPLEQRSQHCKPEEGLEARGEALGLVGAQAPATEE QEAASSSTLVEVTLGEVPAAESPDPPQSPQGASSL PTTMNYPLWSQSYEDSSNQEEEGPSTFPDLESEFQA ALSRKVAELVHFLLLKYRAREPVTKAEMLGSSVVG NWQYFFPVIFSKAFSSLQLVFGIELMEVDPIGHLIYIF ATCLGLSYDGLLDGNQIMPKAGLLIIVLAIHAREGD CAPEEKIWEELSVLEVFEGREDSILGDPKLLTQHF VQENYLEYRQVPGSDPACYEFLWGPALVETSIVK VLHMHVKISGGPHIS YPPLHEWVLRGEE	MAGE-A3 (UniProtKB P43357)
SEQ ID NO: 11	MALPTARPLLGSCGTPALGSLLFLLFSLGWVQPSRT LAGETGQEAAPLDGVLNPPNISSLSRQLLGFPCA EVSGLSTERVRELAVALAQKNVKLSTEQLRCLAHR LSEPPEDLDALPLDLLLFLNPDAFSGPQACTRFFSRI TKANVDLLPRGAPERQRLPAALACWGVVRSLLSE ADVRALGGLACDLPGRFVAESAEVLLPRLVSCPGP LDQDQQAARAALQGGGPPYGPSTWSVSTMDAL RGLLPVLGQPIRSIPQGIVAAWRQRSSRDPSWRQPE RTILRPRFRREVEKTAACPSGKKAREIDESLIFYKKW ELEACVDAALLATQMDRVNAIPFTYEQLDVLKHKL DELYPQGYPESVIQHLGYLFLKMSPEDIRKWNVTSL ETLKALLEVNKGHEMSPQAPRRPLPQVATLIDRFV KGRGQLDKDTLDTLTAFYPGYLCSLSPEELSSVPPS SIWAVRPQDLDTCDPRQLDVLYPKARLAFQNMNG SEYFVKIQSFLGGAPTEDLKALSQQNVSMDLATFM KLRTDAVLPLTVAEVQKLLGPHVEGLKAEERHRPV RDWILRQRQDDDTLGLGLQGGIPNGYLVLDLSMQ EALSGTPCLLGGPVLTVLALLLASTLA	Мезотелин (UniProtKBQ13 421)
SEQ ID NO: 12	MGAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGCACP ERMAEAGFIHCPTENEPDLAQCFFCFKELEGWEPD DDPIEEHKKHSSGCAFLSVKKQFEELTLGEFLKLDL ERAKNKIAKETNKKKFEETAKKVRRAIEQLAAM D	сурвивин
SEQ ID NO: 13	MQAEGRGTGGSTGDADGPGGPGIPDGPGGNAGGP GEAGATGGRGPRGAGAARASGPGGGAPRGPHGGA ASGLNGCCRCGARGPESRLLEFYLAMPFATPMEAE LARRSLAQDAPPLPVPVLLKEFTVSGNILTIRLTA ADHRQLQLSISSCLQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPP SGQRR	NY-ESO-1 (UniProtKB: P78358)
SEQ ID NO: 14	MERRRLWGSIQSRYISMSVWTSRRLVELAGQSLL KDEALAIAALELLPRELFPPLFMAAFDGRHSQTLKA MVQAWPFTCLPLGVLMMKGQHLHLETFAVLDGLD VLLAQEVRPRRWKLQVLDLRKNSHQDFWTVWSG NRASLYSFPEPEAAQPMTKKRKVDGLSTEAEQPFIP VEVLVDLFLKEGACDELFSYLIEKVKRKNVRLC CKKLIKIFAMPMDIKMILKMQVQLDSIEDLEVTCTW KLPTLAKFSPYLGQMINLRLLLLSHIHASSYISPEKE EQYIAQFTSQFLSLQCLQALYVDSLFFLRGRDLQLL RHVMNPLETSLITNCRLSEGDMHLSQSPSVSLSV LSLSGVMLTDVSPEPLQALLERASATLQDLVFDEC GITDDQLLALLPSLSHCSQLTTLSFYGNSSISALQSL LQHLIGLSNLTHVLYPVPLESYEDIHGTLHLERLAY	PRAME

	LHARLRELLCELGRPSMVWLSANPCPHCGDRTFYD PEPILCPCFMPN	
SEQ ID NO: 15	MDGGTLPRSAPPAPPVVGCAARRRPAPELLRCSR RRRPATAETGGGAAAVARRNERERNRVKLVNLGF QALRQHVPHGGASKKLSKVETLRSAVEYIRALQRL LAEHDAVRNALAGGLRPQAVRPSAPRGPPTTPVA ASPSRASSSPGRGGSSEPGSPRSAYSSDDSGCEGALS PAERELDFSSWLGGY	ASCL2
SEQ ID NO: 16	SAVEYIRALQ	эпитоп ASCL2
SEQ ID NO: 17	ERELDFSSW	эпитоп ASCL2
SEQ ID NO: 18	AAVARRNERERNRVKLVNLGFQALRQHVPHGGAS KKLSKVETLRSAVEYIRALQRLLAEHDAVRNALAG GLRPQAVRPSAPRGPSEGALSPAERELDFSSWLG Y	фрагмент ASCL2
SEQ ID NO: 19	MTPGTQSPFFLLLLLVLTVTGSGHASSTPGGEKE TSATQRSSVPSSTEKNAVSMTSSVLSSHSPGSGSSTT QGQDVT LAPATEPASGSAATWGQDVTSVPVTRPAL GSTTPPAHDVTSAPDNKPAPGSTAPPAHGVT SAPDT RPAPGSTAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPPAHGVT APDTRPAPGSTAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPPAH GVT SAPDTRPAPGSTAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTA PPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPPAHGVT SAPDTRPAP GSTAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPPAHGVT SAPDT RPAPGSTAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPPAHGVT APDTRPAPGSTAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPPAH GVT SAPDTRPAPGSTAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTA PPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPPAHGVT SAPDTRPAP GSTAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPPAHGVT SAPDT RPAPGSTAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPPAHGVT APDTRPAPGSTAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPPAH GVT SAPDTRPAPGSTAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTA PPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPPAHGVT SAPDTRPAP GSTAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPPAHGVT SAPDT RPAPGSTAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPPAHGVT APDTRPAPGSTAPPAHGVT SAPDTRPAPGSTAPPAH GVT SAPDNRPALGSTAPPVHNVT SASGSASGSASTL VHNGTSARATTTTPASKSTPFSIPSHHSDTPTTLASHS TKTDASSTHHSSVPLTSSNHSTSPQLSTGV SFFFLS FHISNLQFNSSLEDPSTDYYQELQRDISEMFLQIYKQ GGFLGLSNIKFRPGSVVVQLTLAFREGTINVHDVET QFNQYKTEAASRYNLTISDVSVSDVPPFSAQSGAG VPGWGIALLVLCVLVALAIVYLIALAVCQCRRKN YGQLDIFPARDTYHPMSEYPTYHTHGRYVPPSSTD RSPYEKVSAGNGGSSLSYTNPAVAATSANL	MUC-1
SEQ ID NO: 20	GSTAPPVHN	эпитоп MUC-1
SEQ ID NO: 21	TAPPAHGVT	эпитоп MUC-1
SEQ ID NO: 22	RISTFKNWPF	эпитоп сурвивина
SEQ ID NO: 23	APTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWPFLEGS AVKKQFE	фрагмент

	ELTLGEFLKLDRE	сурвивина
SEQ ID NO: 24	MESPSAPPHRWCIWQRLLLTASLLTFWNPPTAKL TIESTPFNVAEGKEVLLLVHNLPHLFGYSWYKGE RVDGNRQIIGYVIGTQQATPGPAYSGREIYPNASLL IQNIIQNDTGfYTLHVIKSDLVNEEATGQFRVYPELP KPSISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPETQDATYLWWV NNQSLPVSRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDTASYKC ETQNPVSARRSDSVILNVLYGPDAPTISPLNTSYRSG ENLNLSCHAASNPPAQYSWFVNGTFQQTQELFIPN ITVNNSGSYTCQAHNSDTGLNRTTVTITVYAEPPK PFITSNNSNPVEDEDAVALTCEPEIQNTTYLWWVN NQSLPVSRLQLSNDNRTLTLFNVTRNDVGPYECGI QNKLSVDHSDPVILNVLYGPDPTISPSYTYRPGV NLSLSCHAASNPPAQYSWLIDGNIQHTQELFISNIT EKNSGLYTCQANNSASGHSRTTVKTITVSAELPKPS ISSNNSKPVEDKDAVAFTCEPEAQNTTYLWWVNG QSLPVSRLQLSNGNRTLTLFNVTRNDARAYVCGI QNSVSANRSDPVTLDVLYGPDTPHSPDSSYLSGAN LNLSCHSASNPPQYSWRINGIPQHTQVLFIAKITP NNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGL SAGATVGIMIGVLVGV	СЕА
SEQ ID NO: 25	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTL DVLDPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQH TQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSIT VSASGTSPGLSA	фрагмент СЕА
SEQ ID NO: 26	YLSGANLNL	эпитоп СЕА
SEQ ID NO: 27	SWRINGIPQQ	эпитоп СЕА
SEQ ID NO: 28	MGRGLLRGLWPLHIVLWTRIASTIPPHVQKSVNND MIVTDNNGAVKFPQLCKFCDFRSTCDNQKSCMSN CSITSICEKQEVCAVWRKNDENITLETVCHDPKL PYHDFILEDAAAPKCMKEKKKPGETFFMCSCSSDE CNDNIIFSEEYNTSNPDLLLVIQVGTGISLLPPLGVAI SVIIIFYCYRVNRQQKLSSTWETGKTRKLMFSEHC AILEDSDISSTCANNINHNTPELLDLVGVGK RFAEVYKAKLKQNTSEQFETVAVKIFPYEEYASWK TEKDIFSDINLKHENILQFLTAERKTELKQYWLIT AFHAKGNLQEYLTRHVISWEDLRKLGSSSLARGIAH LHSDHTPCGRPKMPIVHRDLKSSNILVKNDLTCCCLC DFGLSLRLDPTLSVDDLANSQVGTARYMAPEVLE SRMNLENVESFKQTDVYSMALVLWEMTSRCNAV EVKDYEPFPGSKVREHPCVESMKDNVLRDRGRPEI PSFWLNHQGIQMVCELTTECWDHDPEARLTAQCV AERFSELEHLDRLSGRSCSEEKIPEDGSLNTTK	TGFbR2 (UniProtKB P37137)
SEQ ID NO: 29	MEEPQSDPSVEPPLSQETFSDLWKLLENVLSPLP SQAMDDLMLSPDDIEQWFTEDPGPDEAPRMPEAAP PVAPAPAAPTPAAPAPAPSWPLSSSVPSQKTYQGSY GFRLGFLHSGTAKSVTCTYSPALNKMFCQLAKTCP VQLWVDSTPPPGRVVRAMAIYKQSQHMTEVVRR PHHERCSDSDGLAPPQHLIRVEGNLRVEYLDDRNT FRHSVVVPYEPPEVGSCTTIHYNMCMSSCMGGM NRRPILTIITLEDSSGNLLGRNSFEVRCACPRDRR TEENLRKKGEPHHELPPGSTKRALPNNTSSSPQPK KKPLDGEYFTLQIRGRERFEMFRELNEALELKDAQ AGKEPGGSRAHSSHLKSKKGQSTSRHKKLMFKTEG	P53

	PDS	
SEQ ID NO: 30	MTEYKLVVVGAGGVGKSALTIQLIQNHFVDEYDPT IEDSYRKQVVIDGETCLLDILDITAGQEEYSAMRDQ YMRTGEGFLCVFAINNTKSFEDIHHYREQIKRVKDS EDVPMVLVGNKCDLPSRTVDTKQAQDLARSYGIPF IETSAKTRQRVEDAFYTLVREIRQYRLKKISKEEKT PGCVKIKKCIIM	Kirsten Ras
SEQ ID NO: 31	VVVGAGGVG	эпитоп Kirsten Ras
SEQ ID NO: 32	MASSVGNVADSTEPTKRMLSFQGLAELAHREYQA GDFAAERHCMQLWRQEPDNTGVLLLLSSIHFCR RLDRSAHFSTLAIKQNPLLAEAYSNLGNVYKERGQ LQEAIEHYRHALRLKPDFIDGYINLAAALVAAGDM EGAVQAYVSALQYNPDLYCVRSDLGNLLKALGRL EEAKACYLKA IETQPNFAVAWSNLGCVFNAQGEIW LAIHHFEKAVTLDPNFLDAYINLGNVLKEARIFDRA VAAYLRALSLSPNHAVVHG N LACVYYEQGLIDLAI DTYRRAIELQPHFPDAYCNLANALKEKGSVAEAE CYNTALRLCPHADSLNLANIKREQGNIEEA VRL YRKALEVFPEFAAAHSNLASVLQQQGLQEALMH YKEAIRISPTFAДНЕЙNMGNTLKEMQDVQ GALQCY TRAIQINPAFADAHSNLASIHKDSGNIPEAIASYRTA LKLKPDFPDAYCNLAHCLQIVCDWTDYDERMCKL VSIVADQLEKNRLPSVHPHSMMLYPLSHGFRKAIAE RHGNLCLDKINVLHKPPYEHPKDLKLSDGRLRVGY VSSDFGNHPTSHLMQSIIPGMHNPDKFEVFCYALSP DDGTNFRVKVMAEANHFIDLSQIPCNGKAADRIHQ DGIHILVNMNGYTKGARNELFALRPAPIQAMWLG PGTSGALFMDYIITDQETSPA EVAEQYSEK LAYMPH TFFIGDHANMFPHLKKAVIDFKSNGHIYDNRIVLN GIDLKAFLDLSPDVKIVKMKCPDGGDNADSSNTAL NMPVIPMNTIAEAVIEMINRGQIQITINGFSISNGLAT TQINNKAAATGEEVPRTIIVTTRSQYGLPEDAIVYCNF NQLYKIDPSTLQMWANILKRVNSVLWLLRFPVAVG EPNIQYYAQNMGLPQNRIIFSPVAPKEEHVRRGQLA DVCLDTPLCNGHTTGMDVLWAGTPMVTMPGETLA SRVAASQLTCLGCELIANKRQEYEDIAVKLGTDLE YLKKVRGKVWKQRISPLFNTKQYTMELERLYLQ MWEHYAAGNKPDHMIKPVEVTESA	OGT
SEQ ID NO: 33	MAEDSGKKRKRKNFEAMFKGILQSGLDNFVINHM LKNNVAGQTSIQTLVPNTDQKSTSVKKNHKKKTV KMLEYLGDV LHGVFN YLAKHDVLT LKEEEKKY YDTKIEDKALILVDSL RKNRVAHQMFTQTLLNMDQ KITSVKPLLQIEAGPPESAESTNILKCPREEFLRLCK KNHDEIYPIKKREDRRLALIICNTKFDHLPARNGA HYDIVGMKRLQLGLGYTVVDEKNLTARDMESVLR AFAARPEHKSSDSTFLVLSHGILEGICGTAHKKKK PDVLLYDTIFQIFNNRNCLSLKDKPKVIIVQACRGE KHGELWVRDSPASLALISSQSENLEADSVCKIHEE KDFIAFCSSTPHNVSWRDRTRGSIFITELITCFQKYS CCCHLMEIFRKVQKSFEVPQAKAQMP TIERATLTR DFYLFPGN	CASP5
SEQ ID NO: 34	MSSPLASLSKTRKVPLPSEPMNPGRRGIRIYGDEDE VDMLSDGCGSEEKISVPCYGGIGAPVSRQVPASHD	COA-1

	SELMAFMTRKLWDLEQQVKAQTDEILSKDQKIAAL EDLVQTLRPHPAEATLQRQEELETMCVQLQRQVRE MERFLSDYGLQWVGEPMDQEDSESKTVSEHGERD WMTAKKFWKPGDSLAPPEVDFDRLLASLQDLSEL VVEGDTQVTPVPGGARLRTLEPIPLKLYRNGIMMF DGPFPFYDPSTQRCLRDILDGFFPSELQRLYPNGV PFKVSDLRNQVYLEDGLDPFPGEGRVVGRQLMHK ALDRVEEHPGSRMTAEKFLNRZPKFVIRQGEVIDIR GPIRDTLQNCCLPARIQEIVVETPTLAAERERSQES PNTAPPLSMLRIKSENGEQAFLMMQPDNTIGDVR ALLAQARVMDASAFEIFSTFPPTLYQDDTLTLQAA GLVPKAAALLRARRAPKSSLKFSPPGCPGPGPGPSP GPGPGSPGPGPGPSPPCPGPSPSPQ	
SEQ ID NO: 35	MAFVCLAIGCLYTFLLISTTFGCTSSSDTEIKVNPQD FEIVDPGYLGYLYLQWQPPLSLDHFKECTVEYELK YRNIGSETWKTIITKNLHYKDGFDLNKIEAKIHTL LPWQCTNGSEVQSSWAETTYWISPOGIPETKVQDM DCVYYNWQYLLCSWKPGIGVLLDTNYNLFYWYEG LDHALQCVDYIKADGQNIQCRFPYLEASDYKDFYI CVNGSSENKPIRSSYFTFQLQNIKPLPPVYLTFTRE SSCEIKLKWSIPLGPIPARCFDYEIEIREDDTTLVTAT VENETYTLKTTNETRQLCFVVRKVNICYSDDGIW SEWSDKQCWEGEDLSKKTLRFLWLPFGFILILVIFV TGLLLRKPNTPKMIPEFFCDT	IL13Ральфа2
SEQ ID NO: 36	LPFGFIL	эпитоп IL13Ральфа2
SEQ ID NO: 37	MNKLYIGNLSENAAPSDLESIFKDAKIPVSGPFLVK TGYAFVDCPDESWALKAIKALSGKIELHGKPIVEEH SVPKRQRIRKLQIRNIPPHLQWEVLDSLLVQYGVVE SCEQVNTDSETAVVNVTYSSKDQARQALDKLNGF QLENFTLKVAYIPDEMAAQQNPLQQPRGRRGLGQR GSSRQGSPPSVSKQKPCDLPLRLLVPTQFVGAIGK EGATIRNITKQTQSKIDVHRKENAGAAEKSITILSTP EGTSAACKSILEIMHKEAQDIKFTEEIPLKILAHNNF VGRLLIGKEGRNLKKIEQDQDTKITISPLQELTYNPE RTITVKGNVETCAKAEEMKKIRESYENDIASMNL QAHLIPGLNLNALGLFPPTSGMPPPTSGPPSAMTPP YPQFEQSETETVHLFIPALSVGAIGKQGQHIKQLSR FAGASIKIAPAEAPDAKVRMVIITGPPEAQFKAQGR YGKIKEENFVSPKEEVKLEAHIRVPSFAAGRVIKGG GKTVNELQNLSSAEVVVPRDQTPDENDQVVVKITG HFYACQVAQRKIQEILTQVKQHQQQKALQSGPPQS RRK	КОС-1
SEQ ID NO: 38	MAPKFPDSVEELRAAGNESFRNGQYAEASALYGRA LRVLQAQGSSDPEEESVLYSNRAACHLKDGNCRDC IKDCTSALALVPFSIKPLLRASAYEAELEKYPMAVY DYKTVLQIDDNVTSAVEGINRMTRALMDSLGPWE RLKLPSIPLVPVSAQKRWNSLPSENHKEMAKSKSK ETTATKNRVPSAGDVEKARVLKEEGNELVKKGNH KKAIEKYSESLCSNLESATYSNRALCYLVLKQYTE AVKDCTEALKLDGKNVKAFYRRAQAHKALKDYK SSFADISNLLQIEPRNGPAQKLRQEVKQNLH	TOMM34
SEQ ID NO: 39	MSGGHQLQLAALWPWLLMATLQAGFGRTGLVLA AAVESERSAEQKAIIRVIPLKMDPTGKLNLTLEGVF	RNF43

	AGVAEITPAEGKLMQSHPLYLCNASDDDNLEPGFIS IVKLESPRRAPRPCLSLASKARMAGERGASAVLFDI TEDRAAAEQQLQPLGLTWPVVLIWGNDAEKLMEF VYKNQKAHVRIELKEPPAWPDYDVWILMTVVGTIF VIILASVLRIRCRPRHSRPDPLQQRTAWAISQLATTR YQASCRQARGEWPDSSGSSAPVCAICLEEFSEGQ ELRVISCLHEFHRCVDPWLHQHRTCPLCMFNITEG DSFSQSLGPSRSYQEPGRRLHLIRQHPGHAHYHLPA AYLLGPSRSAVARPPRPGPFLPSQEPGMGPRHHRFP RAAHPRAPGEQQRLAGAQHPYAQGWGLSHLQSTS QHFAACPVLRRARPPDSSGSGESYCTERSGYLAD GPASDSSSGPCHGSSSDSVVNCTDISLQGVHGSST FCSSLSSDFDPLVYCSPKGDPQRVDMQPSVTSRPRS LDSVVPTGETQVSSHVHYHRHRHHHYKKRFQWHG RKPGPETGVPQSRPPIRTQPQPEPPSPDQQVTRSNS AAPSGRLSNPQCPRALPEPAPGPVDASSICPSTSSLF NLQSSLSARHPQRKRRGGPSEPTPGSRPQDATVHP ACQIFPHYTPSVAYPWSPEAHPLICGPPGLDKRLLP ETPGPCYSNSQPVWLCLTPRQPLEPHPPGEGPSEWS SDTAEGRPCYPHCVLSAQPGSEEELEELCEQAV	
SEQ ID NO: 40	MAPPQVLAFLLLAAATATFAAAQEECVCENYKL AVNCFVNNNRQCQCTSVGAQNTVICSKLAAKCLV MKAEMNGSKLGRRAKPEGALQNNDGLYDPDCDES GLFKAKQCNGTSMCWCVNTAGVRRTDKDTEITCS ERVRTYWIIELKHKAREKPYDSKSLRTALQKEITT RYQLDPKFITSILYENNVITIDLQVNSSQKTQNDVDI ADVAYYFEKDVKGESLFHSSKMDLTVNGEQLDLD PGQTLIYYVDEKAPEFSMQGLKAGVIAVIVVVVIAV VAGIVVLVISRKKRMAKYEKAEIKEMGEMHRELN A	ЕрСАМ
SEQ ID NO: 41	GLKAGVIAV	эпитоп ЕрСАМ
SEQ ID NO: 42	MELAALCRWGLLLALLPPGAASTQVCTGTMKLR LPASPETHLDMLRHLYQGCQVVQGNLELTYLPTNA SLSFLQDIQEVQGYVLIHNRQVRQVPLQRLRIVRGT QLFEDNYALAVLDNGDPLNNTTPVTGASPGGLREL QLRSLTEILKGGVLIQRNPQLCYQDTILWKDIFHKN NQLALTLIDTNRSRACHPCSPMCKGSRGWGESSED CQSLTRTVCAAGGCARCKGPLPTDCCHEQCAAGCTG PKHSDCLACLHFNHSGICELHCPALVTYNTDTFESM PNPEGRYTFGASCVTACPYNYLSTDVGSCTLVCP HNQEVTAEDGTQRCEKCSKPCARVCYGLGMEHLR EVRAVTSANIQEFAGCKKIFGSLAFLPESFDGDPAS NTAPLQPEQLQVFETLEEITGYLYISAWPDSLPLS VFQNLQVIRGRILHNGAYSLTLQGLGISWLGLRSLR ELGSGLALIHNTLHCFVHTVPWDQLFRNPHQALL HTANRPEDECVGEGLACHQLCARGHCWGPPTQC VNCSQFLRGQECVVEECRVLQGLPREYVNARHCLPC HPECQPQNGSVTCFGPEADQCVACAHYKDPDFCVA RCPSPGVKPDLSYMPIWKFPDEEGACQPCPINCTHSC VDLDDKGCPAEQRASPLTSIISAVVVGILLVVVLGVV FGILIKRRQQKIRKYTMRRLQETELVEPLTPSGAM PNQAQMILKETELRKVKVLGSGAFGTVYKGIWIP DGENVKIPVAIKVLENTSPKANKEILDEAYVMAG VGSPYVSRLGICLTSTVQLVTQLMPYGCLLDHVR	HER-2/neu

	ENRGRGLGSQDLLNWCMIQAKGMSYLEDVRLVHRD LAARNVLVKSPNHVKITDFGLARLLDIDETEYHAD GGKVPIKWMALESILRRRFTHQSDVWSYGVTVWE LMTFGAKPYDGIPAREIPDLLEKGERLPQPPICTIDV YMIMVKCWMIDSECRPRFRELVSEFSRMARDPQRF VVIQNEDLGPASPLDSTFYRSLEDDDMGDLVDAE EYLVPPQQGFFCPDPAPGAGGMVHHRHRSSTRSGG GDLTLGLEPSEEEAPRSPLAPSEAGSDVFDGDLGM GAAKGLQSLPTHDPSPQLQRYSEDPTVPLPSETDGYV APLTCSPQPEYVNQPDVRPQPPSPREGPLPAARPAG ATLERPKTSLSPGKNGVVKDVFAFGGAVENPEYLTP QGGAAPQPHPPAFSPAFDNLYYWDQDPPERGAPP STFKGTPTAENPEYLGLDVPV	
SEQ ID NO: 43	MGSDVRDLNALLPAVPSLGGGGCALPVSGAAQW APVLDFAPPGASAYGSLGGPAPPAPPPPPPPHSFI KQEPSWGGAEPEEQCLSAFTVHFSGQFTGTAGAC RYGPFPPPPSQASSGQARMFPNAPYLPSCLESPAI RNQGYSTVTFDGTSPSYGHTPSHAAQFPNHSFKHE DPMGQQGSLGEQQYSVPPPVYGCHTPTDSC TGSQA LLLRTPYSSDONLYQMTSQLECM TWNQMNLGATLK GVAAGSSSSVKWTEGQSNHSTGYESDNHTTPILCG AQYRIHTHGVFRGIQDVRRVPGVAPTLVRSASETSE KRPFMCAYPGCNKRYFKLSHLQMHSRKHTGEKPY QCDFKDCERRFSRSDQLKRHRRTHTGVKPFQCKTC QRKFSRSDHLKTHTRTHTGKTSEKPFSCRWPSCQK KFARSDELVRHHNMHQRNMTKLQLAL	WT1
SEQ ID NO: 44 (60)	KVAELVHFL	эпитоп MAGE A3
SEQ ID NO: 45	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTL DVLDPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQH TQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSIT VSASGTSPGLSAAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWP FLEGSVKKQFEELTLGEFLKLDREAAVARRNER ERNRVKLVNLGFQALRQHVP HGGASKKLSKVETL RSAYEYIRALQRLLAEHDAVRNALAGGLRPQAVRP SAPRGPSEGALSPAERELDFSSWLG Y	антигенный карго вируса АТР128
SEQ ID NO: 46	MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIVLIIITSIKAVYNFA TCGILALVSFLFLAGRSCGMYGLNGPDIYKGVYQF KSVEFDMSHLNLTMPNACSANNSHHYISMGSSGLE LFTFNDSILNHNFCNLTSAFNKKTFDHTLMSIVSSL HLSIRGNSNHKAVSCDFNNGITIQYNLSFSDPQSAIS QCRTFRGRVLD MFRTAFGGKYMRS GWGWAGSDG KTTWCSQTSYQYLIIQNRTWENHCRYAGPFGMSRI LFAQEKTKFLTRRLAGTFTWTLSDSSGVENPGGYC LTKWMILAAELKCFGNTAVAKCNVNHDEEFC DML RLIDYNKAALSFKFKQDVESALHVFKT TVNSLISDQL LMRNHLRDLMGVPYCNYSKFWYLEHAKTGETSVP KCWLVTNGSYLNETHFSDQIEQEADNMITEMLRKD YIKRQGSTPLALMDLLMFST SAYLISIFLHLVKIPHT RHIKGGSCPKPHRLTNKGICSCGAFKVPGVKTIWKR R	GP вируса LCMV
SEQ ID NO: 47	MGQLITMFEALPHIIDEVINIVIIVLIIITSIKAVYNFA TCGIIALISFCLLAGRSCGLYGVTPDIYKGLYQFKS VEFNMSQLNLTMPNACSANNSHHYISMGKSGLELT	гликопротеин GP вируса DNADV

	FTNDSIISHNFCNLTDGFKKTFDHTLMSIVASLHLS IRGNTNYKAVSCDFNNGITIQYNLSFSDAQSAINQC RTRFRGRVLDMFRTAFGGKYMRSYGWKGSDGKTT WCSQTSYQYLIIQNRTWENHCEYAGPFGLSRVFA QEKTKFLTRRLAGTFTWTLSDSSGTEPPGGYCLTK WMLIAAELKCFGNTAVAKCNINHDEEFCMLRLID YNKAALKKFKEDVESALHLFKTTVNSLISDQLLMR NHLRDLMGVPYCNYSKFWYLEHVKTGDTSVPKC WLVSNGSYLNETHFSDQIEQEADNMITEMLRKDYI KRQGSTPLALMDLLMFSTSAYLISVFLHLMKIPTHR HIKGGTCKPKPHRLTSKGICSCGAFKVPVGVKTVWKR R	
SEQ ID NO: 48	MGQIVTFFQEVPHILEEVMNIVLMTLSILAILKGIYN VMTCGIIGLITFLFLCGRSCSSIIYKDNIEFFSLDLDLDM SSLNATMPLSCSKNNSHHYIQVGNETGLELTLTNTS IIDHKFCNLSDAHRNLYDKALMSILTFHLSIPDFN QYEAMSCDFNNGKISIQYNLSHSNYVDAGNHCGTI ANGIMDVFRMYWSTSLSVASDISGTQCIQTDYKY LIIQNTSWEDHCMFSRSPMGFLSLLSQRTNRYISR RLLGLFTWTLSDSEGNDMPGGYCLTRSMLIGLDLK CFGNTAIAKCNQAHDEEFCMLRFLDFNKQAISKL RSEVQQSINLINKAVNALINDQLVMRNHLRDLMI PYCNYSKFWYLNDRTRTGRTSLPKCWLVTNGSYLN ETQFSTEIEQEANMFTDMLRKEYEKRQSTTPLGL VDLFFVSTSFYLISVFLHLIKIPTHRHIKGGKPCPKPHR LNHMAICSCGFYKQPLPTQWKR	Гликопротеин GP вируса MOPV
SEQ ID NO: 49	MSVTVKRIIDNTVVVVKLPANEDPVEYPADYFRKS KEIPLYINTTKSLSDLRGYVYQGLKSGNVSIHVNSY LYGALKDIRGKLDKDWSSFGINIGKAGDTIGIFDLV SLKALDGVLPDGVSDASRTSADDKWLPLYLLGLYR VGRTQMPEYRKKLMDGLTNQCKMINEQFEPLVPE GRDIFDVWGNDSNYTKIVA AVDMFFHMFKKHECA SFYGTIVSRFKDCAALATFGHLCKITGMSTEDVTT WILNREVADEMVMMLPGQEIDKADSYMPYLIDF GLSSKSPYSSVKNPAFHFWGQLTALLRSTRARNA RQPDDIEYTSLTAGLLYAYAVGSSADLAQQFCVG DNKYTPDDSTGGLTTNAPPQGRDVVEWLGWFEDQ NRKPTPDMMQYAKRAVMSLQGLREKTIGKYAKSE FDK	нуклеопротеин (N) вируса везикулярного стоматита
SEQ ID NO: 50	MDNLTKVREYLKSYSRLDQAVGEIDEIEAQRAEKS NYELFQEDGVEEHTKPSYFQAADSDTESEPEIEDN QGLYAPDPEAEQVEGFIQGPLDDYADEEVDVVFTS DWKQPELESDEHGKTLRLTSPEGLSGEQKSQWLSTI KAVVQSAKYWNLAECTFEASGEGVIMKERQITPDV YKV TPVMNTHPSQSEAVSDVWSLSKTSMTFQPKKASLQ PLTISLDELFSRGEFISVGGDGRM SHKEAILLGLRYKKLYNQARVKYSL	фосфопротеин (P) вируса VSV
SEQ ID NO: 51	MEVHDFETDEFNDFNEDDYATREFLNPDERMITYLN HADYNLNSPLISDDIDNLRKFNLSPIPSMWDSKNW DGVLEMLTSCQANPIPTSQMHKWMGSWLMSDNH DASQGYSFLHEVDKEAEITFDVVETFIRGWGNKPIE YIKKERWTDSFKILAYLCQKFLDLHLKLTILNAVSE VELLNLARTFKGKVRSSHGNTNICRIRVPSLGPTFIS	Большой белок (L) вируса VSV

	<p>EGWAYFKKLDILMDRNFLLMVKDVIIGRMQTVLS MVCRIDNLFSEQDIFSLNIIYRIGDKIVERQGNFSYD LIKMVEPICNLKLMKLARESRLVPQFPFHENHIKT SVDEGAKIDRGIRFLHDQIMSVKTVDLTLVIYGSFR HWGHPFIDYYTGLEKLHSQVTMKKDIDVSYAKAL ASDLARIVLFQQFNDHKKWVFNGLDLPDHPFKSH VKENTWPTAAQVQDFGDKWHELPLIKCFEIPDLLD PSIIYSDKSHSMNRSEVLKHVRMNPNTPIPSKKVLQ TMLDTKATNWKEFLKEIDEKGLDDDDLIIGLKGKE RELKLAGRFFSLMSWKLREYFVITEYLIKTHFVPMF KGLTMADDLTAVIKKMLDSSSGQGLKSYEAICIAN HIDYEKWNHQRKLSNGPVFRVMGQFLGYPSLIER THEFFEKSLIYYNGRPDLMRVHNNTLINSTSQRVC WQQEGGLEGLRQKGSILNLLVIQREAKIRNTAV KVLAQGDNQVICTQYKTKSRNVVELQGALNQMV SNNEKIMTAIKIGTGKLGLLINDETMQSADYLN GKIPIFRGVIRGLETKRWSRVTCVTNDQIPTCANIMS SVSTNALTVAHFAENPINAMIQYNYFGTFARLLM MHDPALRQSLYEVDKIPGLHSSTFKYAMLYLDPSI GGVSGMSLSRFLIRAFDPVTELSFWRFIHHVARS EHLKEMSAVFGNPEIAKFRITHIDKLVEDPTSLNIA MGMSPANLLKTEVKKCLIESRQTIRNQVIKDATIYL YHEEDRLRSFLWSINPLFPRFLSEFKSGTFLGVADG LISLFQNSRTIRNSFKKKYHREDDLIVRSEVSSLTH LGKHLRRGCKMWTCSATHADTLRYKSWGRTVI GTTVPHPLEMLGPQHRKETPCAPCNTSGFNYSVH CPDGIHDVFSSRGPLPAYLGSKTSESTSILQPWERES KVPLIKRATRLRDAISWFVEPDSKLAMTILSNIHSLT GEEWTKRQHGFKRTGSALHRFSTSRMSHGGFASQS TAALTRLMATTD TMRDLGDQNFDFLFQATLLYAQI TTTVARDGWITSCTDHYHIACKSCLRPIEITLDSSM DYTPPDVSHVLKTRWRNGEGSWGQEIKQIYPLEGN WKNLAPAEQSYQVGRGIGFLYGDLAYRKSTHAEDS SLFPLSIQGRIRGRGFLKGLLDGLMRASCCQVIHRR SLAHLKR PANAVYGGLIYLIDKLSVSPFSLTRSGP IRDELETIPHKIPTSYP TSNRDMGVIVRNYFKYQCRL IEKGKYRSHYSQLWLFSDVLSIDFIGPFSISTLLQIL YKPFLSGKDKNELRELANLSSLLRS GEGWEDIHVK FFTKDILLCPEEIRHACKFGIAKDNNKDMSYPPWGR ESRG TITIPVYYTTTTYPKMLEMPRIQNPLLSGIR LGQLPTGAHYKIRSILHGMGIHYRDFLSCGDGSGG MTAALLRENVHSRGIFNSLLELSGSMRGASPEPPS ALETLGDKSRCVNGETCWEYPSDLCDPRTWDYF LRLKAGLGLQIDLIVMDMEVRDSSTSLKIETNVRNY VHRILDEQGVLIYKTYGTYICESEKNAV TILGPMFK TVDLVQTEFSSSQTSEVYMVCKGLKKLIDEPNPDW SSINESWKNLYAFQSSEQEFARAKKVSTYFTLTGIP SQFIPDPFVNIETMLQIFGVPTGVSHAAALKSSDRPA DLLTISLFYMAIISYYNINHIRVGPIPPNPPSDGIAQN VGIAITGISFWLSLMEKDIPLYQQCLAVIQQSFPIRW EAVSVKGGYKQKWSTRGDGLPKDTRISDSLAPIGN WIRSLELVRNQVRLNPFNEILFNQLCRTVDNHLKW SNLRRNTGMIEWINRRISKEDRSILMLKSDLHEENS WRD</p>	
SEQ ID NO: 52	MSSLKKILGLKGKGGKSKKLGIAPPPYEEDTSMEY	Матриксный

	APSAPIDKSYFGVDEMPTYDPNQLRYEKFFFTVKM TVRSNRPFRTYSDVAAAVSHWDHMYIGMAGKRPF YKILAF LGSSNLKATPAVLADQGGQPEYHAHCEGRA YLPHRMGKTPPMLNVPEHFRRPFNIGLYKGTIELTM TIYDDESLEAAPMIWDHFNSKFSDFREKALMFGLI VEKKASGAWVLDSIGHFK	белок (M) вируса VSV
SEQ ID NO: 53	MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIHLIITSIKAVYNFA TCGILALVSFLFLAGRSCGMVGLNGPDIYKGVYQF KSVEFDMSHLNLTMPNACSANNSHHYISMGSSGLE LTFTNDSILNHNFCNLTSAFNKKTFDHTLMSIVSSL HLSIRGNSNHKAVSCDFNNGITIQYNLSFSDPQSAIS QCRTFRGRVLDMFRFAFGGKYMRSGWGWAGSDG KTTWCSQTSYQYLIIQNRTWENHCRYAGPFGMSRI LFAQEKTFLTRRLAGTFTWTLSDSSGVENPPGGYC LTKWMILAAELKCFGNTAVAKCNVNHDEEFCMML RLIDYNKAALSFKQDVESALHVFKTTVNSLISDQL LMRNHLRDLMGVPYCNYSKFWYLEHAKTGETSVP KCWLVTNGSYLNETHFSDQIEQEADNMITEMLRKD YIKRQGSTPLALMDLLMFSTSAYLISIFLHLVKIPHT RHIKGGSCPKPHRLTNKGICSCGAFKVPGVKTIWKR R	гликопротеин GP вируса LCMV
SEQ ID NO: 54	MDNLTKVREYLKSYSRLDQAVGEIDEIEAQRAEKS NYELFQEDGVEEHTKPSYFQAADSDTESEPEIEDN QGLYAPDPEAEQVEGFIQGPLDDYADEEVDVVFTS DWKQPELESDEHGKTLRLTSPEGLSGEQKSQWLSTI KAVVQSAKYWNLAECTFEASGEGVIMKERQITPDV YKVTVMNTHPSQSEAVSDVWLSKTSMTFQPKK ASLQPLTISLDELFSRGEFISVGGDGRMSHKEAILL GLRYKKLYNQARVKYSL	фосфопротеин (P) вируса rVSV
SEQ ID NO: 55	MSVTVKRIIDNTVVVVKLPANEDPVEYPADYFRKS KEIPLYINTTKSLSDLRGYVYQGLKSGNVSIHVNSY LYGALKDIRGKLDKDWSSFGINIGKAGDTIGIFDLV SLKALDGVLPDGVSDASRTSADDKWLPLYLLGLYR VGRTQMPEYRKKLMDGLTNQCKMINEQFEPLVPE GRDIFDVWGNDSNYTKIVA AVDMFFHMFKKHECA SFYGTIVSRFKDCAALATFGHLCKITGMSTEDVTT WILNREVADEMVMMLPGQEIDKADSYMPYLIDF GLSSKSPYSSVKNPAFHFWGQLTALLRSTRARNA RQPDIEYTSLTTAGLLYAYAVGSSADLAQQFCVG DNKYTPDDSTGGLTTNAPPQGRDVVEWLGWFEQ NRKPTPDMMQYAKRAVMSLQGLREKTIGKYAKSE FDK	нуклеопротеин (N) вируса rVSV
SEQ ID NO: 56	MSSLKKILGLKGKGGKSKKLGIAPPPYEEDTSMEY APSAPIDKSYFGVDEMPTYDPNQLRYEKFFFTVKM TVRSNRPFRTYSDVAAAVSHWDHMYIGMAGKRPF YKILAF LGSSNLKATPAVLADQGGQPEYHAHCEGRA YLPHRMGKTPPMLNVPEHFRRPFNIGLYKGTIELTM TIYDDESLEAAPMIWDHFNSKFSDFREKALMFGLI VEKKASGAWVLDSIGHFK	матриксный белок (M) вируса rVSV
SEQ ID NO: 57	MEVHDFETDEFNDFNEDDYATREFLNPDERMITYLN HADYNLNSPLISDDIDNLRKFNLSPIPSMWDKSNW DGVLEMLTSCQANPIPTSQMHKWMGSWLMSDNH DASQGY SFLHEVDKEAEITFDVVETFIRGWGNKPIE YIKKERWTDSFKILAYLCQKFLDLHLKLTILNAVSE	большой белок (L) вируса rVSV

VELLNLARTFKGKVRSSHGTNICRIRVPSLGPTFIS
 EGWAYFKKLDILMDRNFLLMVKDVIIGRMQTVLS
 MLCRDNLFSEQDIFSLNIRIGDKIVERQGNFSYD
 LIKMEPICNLKLMKLARESRPLVPQFPFHENHIKT
 SVDEGAKIDRGIRFLHDQIMSVKTVDLTLVIYGSFR
 HWGHPFIDYYTGLEKLHSQVTMKKDIDVSYAKAL
 ASDLARIVLFQQFNDHKKWVFNGLDLPDHPFKSH
 VKENTWPTAAQVQDFGDKWHELPLIKCFEIPDLLD
 PSIIYSDKSHSMNRSEVLKHVRMNPNTPIPSKKVLQ
 TMLDTKATNWKEFLKEIDEKGLDDDDLIIGLKGKE
 RELKLAGRFFSLMSWKLREYFVITEYLIKTHFVPMF
 KGLTMADDLTAVIKKMLDSSSGQGLKSYEAICIAN
 HIDYEKWNHQRKLSNGPVFRVMGQFLGYPSLIER
 THEFFEKSLIYNGRPDLMRVHNNTLINSTSQRVC
 WQQQEGGLEGLRQKGWSILNLLVIQREAKIRNTAV
 KVLAQGDNVICTQYKTKSRNVVELQGALNQMV
 SNNEKIMTAIKIGTGKLGLLINDETMQSADYLN
 GKIPFRGVIRGLETKRWSRVTCVTNDQIPTCANIMS
 SVSTNALTVAHFAENPINAMIQYNYFGTFARLLM
 MHPALRQSLYEVDKIPGLHSSTFKYAMLYLDPSI
 GGVSGMSLSRFLIRAFDPVTELSFWRFIHHARS
 EHLKEMSAVFGNPEIAKFRITHIDKLVEDPTSLNIA
 MGMSPANLLKTEVKKCLIESRQTIRNQVIKDIY
 YHEEDRLRSFLWSINPLFPRFLSEFKSGTFLGVADG
 LISLFQNSRTIRNSFKKKYHREDDLIVRSEVSSLTH
 LGKHLRRGSCKMWTCSATHADTLRYKSWGRTVI
 GTTVPHPLEMLGPQHRKETPCAPCNTSGFNYSVH
 CPDGIHDVFSSRGPLPAYLGSKTSESTSILQPWERES
 KVPLIKRATRLRDAISWFVEPDSKLAMTILSNIHSLT
 GEEWTKRQHGFKRTGSALHRFSTSRMSHGGFASQS
 TAALTRLMATTDTRDLGDQNFDFLQATLLYAQI
 TTTVARDGWITSCTDHYHIACKSCLRPIEITLDSM
 DYTTPDVSHVLKTRWRNGEGSWGQEIKQIYPLEGN
 WKNLAPAEQSYQVGRIGFLYGDLAYRKSTHAEDS
 SLFPLSIQGRIRGRGFLKGLLDGLMRASCCQVIHRR
 SLAHLKR PANAVYGGLIYLIDKLSVSPFSLTRSGP
 IRDELETIPHKIPTSYPSTNRDMGVIVRNYFKYQCRL
 IEKGKYRSHYSQLWLFSDVLSIDFIGPFSISTLLQIL
 YKPFLSGKDKNELRELANLSSLLRSSEGWEDIHVK
 FFTKDILLCPEEIRHACKFGIAKDNNKDMSYPPWGR
 ESRGTITTIPVYYTTTTYPKMLEMPRIQNPLLSGIR
 LGQLPTGAHYKIRSILHGMGIHYRDFLSCGDGSGG
 MTAALLRENVHSRGIFNSLLELSGSMRGASPEPPS
 ALETLGDKSRCVNGETCWEYPSDLCDPRTWDYF
 LRLKAGLGLQIDLIVMDMEVRDSSSTSLKIETNVRNY
 VHRILDEQGVLIYKTYGTYICESEKNAVILGPMFK
 TVDLVQTEFSSSQTSEVYMVCKGLKLLIDEPNPDW
 SSINESWKNLYAFQSSEQEFARAKKVSTYFTLTGIP
 SQFIPDPFVNIETMLQIFGVPTGVSHAAALKSSDRPA
 DLLTISLFYMAIISYNNHIRVGIPIPNPPSDGIAQN
 VGIAITGISFWLSLMEKDIPLYQQCLAVIQSFPIRW
 EAVSVKGGYKQKWSTRGDGLPKDTRISDSLAPIGN
 WIRSLELVRNQVRLNPFNEILFNQLCRTVDNHLKW
 SNLRRNTGMIEWINRRISKEDRSILMLKSDLHEENS
 WRD

SEQ ID NO: 58	MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIHLIITSIKAVYNFA TCGILALVSFLFLAGRSCGMVGLNGPDIYKGVYQF KSVEFDMSHLNLTMPNACSANNSHHYISMGSSGLE LTFTNDSILNHNFCNLTSAFNKKTFDHTLMSIVSSL HLSIRGNSNHKAVSCDFNNGITIQYNLSFSDPQSAIS QCRTFRGRVLDMFRTAFGGKYMRSWGWAGSDG KTTWCSQTSYQYLIIQNRTWENHCYAGPFGMSRI LFAQEKTKFLTRRLAGTFTWTLSDSGVENPGGYC LTKWMILAAELKCFGNTAVAKCNVNHDEEFCMML RLIDYNKAALSFKQDVESALHVFKTTVNSLISDQL LMRNHLRDLMGVPYCNYSKFWYLEHAKTGETSVP KCWLVTNGSYLNETHFSDQIEQEADNMITMLRKD YIKRQGSTPLALMDLLMFSTSAYLISIFLHLVKIPHT RHIKGGSCPKPHRLTNKGICSCGAFKVPGVKTIWKR R	гликопротеин (GP) вируса rVSV
SEQ ID NO: 59	MANRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSA NRSDPV TLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQ QHTQVLFIAKITPNNGTYACFVSNLATGRNNSIVK SITVSASGTSPGLSAAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKN WPFLEGS AVKKQFEELTLGEFLKDRERAAVARRN ERERNRVKLVNLGFQALRQHVP HGGASKKLSKVE TLRS AVEYIRALQRLLAEHDAVRNALAGGLRPQAV RPSAPRGPSEGALSPAERELLD FSSWLG GY	pVSV-GP128- Mad-домен
SEQ ID NO: 60	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVA AAKSSEN DRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSA NRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSW RINGIPQQHTQVLFIAKITPNNGTYACFVSNLATG RNNNSIVKSITVSASGTSPGLSAAPTLPPAWQPFLK DHRISTFKNWPFLEGS AVKKQFEELTLGEFLKDRER AAVARRNERERNRVKLVNLGFQALRQHVP HGGAS KKLSKVETLRS AVEYIRALQRLLAEHDAVRNALAG GLRPQAVRPSAPRGPSEGALSPAERELLD FSSWLG G YSTVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNF DAE	Комплекс первого компонента вакцины ("ATP128")
SEQ ID NO: 61	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSASAMS WVRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNY YAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNV DHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLG	Тяжелая цепь PD1-1
SEQ ID NO: 62	EIVLTQSPATLSLSPGERATMCSRASENIDTSGISFM NWYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSIPARFSGSGS TDFLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFN RGEC	Легкая цепь PD1-1
SEQ ID NO: 63	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSASAMS	Тяжелая цепь

	WVRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNPNY YAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPS NTKVDRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG	PD1-2
SEQ ID NO: 64	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDTSGISFM NWYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSVIPARFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC	Легкая цепь PD1-2
SEQ ID NO: 65	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKSAMS WVRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNY YAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPS NTKVDRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG	Тяжелая цепь PD1-3
SEQ ID NO: 66	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDVSGISFM NWYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSVIPARFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC	Легкая цепь PD1-3
SEQ ID NO: 67	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKSAMS WVRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNY YAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPS NTKVDRVESKYGPPCPPCAPEFLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLGLG	Тяжелая цепь PD1-4
SEQ ID NO: 68	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDVSGISFM NWYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSVIPARFSGSGSG	Легкая цепь PD1-4

	TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC	
SEQ ID NO: 69	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKSAMS WVRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSVKGRFTI SRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHSNVNY YAMDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTS ESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPS NTKVDKRVESKYGPPCPPAPEFLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDG VEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLN GKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ PENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGN VFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG	Тяжелая цепь PD1-5
SEQ ID NO: 70	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDVSGISFM NWYQQKPGQAPKLLIYVASNQSGIPARFSGSGSG TDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPWTFGQGTKL EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYP REAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFN RGEC	Легкая цепь PD1-5
SEQ ID NO: 71	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTL DVLDPSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRINGIPQQH TQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSIT VSASGTSPGLSAAPTLPPAWQPFLKDHRISTFKNWP FLEGSVKKQFEELTLGEFLKLDREAAVARRNER ERNRVKLVNLGFQALRQHVPFHGGASKKLSKVETL RSAVEYIRALQRLLAEHDAVRNALAGGLRPQAVRP SAPRGPSEGALSPAERELDFSSWLGGYSTVHEILS KLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE	Mad128-Anaxa
SEQ ID NO: 72	VMNIVLIALSILAVLKGLYNIATCGLIGLVTFLLCG RSCSSNLYKGVYELQSLDLNMTLNMTMPLSCTKN NSHHYIRVGNETGLELTLTNTSLLDHKFCNLSDAH KKNLYDHALMSIISTFHLSPNPNQYEAMSCDFNGG KITVQYNLSHSYAGDAARHCGTIANGVLQTFMRM AWGGSYIALDSGHGNWDCIMTSYQYLIIQNTTWED HCQFSRPSPIGYLSLLSQRTDIYISRLLGTFTWTL SDSEGNAT	LASV GP, зрелый UniProtID D6NLU4
SEQ ID NO: 73	DPNAPKRPPSAFFLFCSEKRYKNRVASRKSRAKFK QLLQHYREVA AAKSSENDRLRLLLKESLKISQAVH AAHAEINEAGREVVGVGALKVPRNQDWLGVPRFA KFASFEAQGALANIAVDKANLDVEQLESIINFELT EWTGS	Hp-91
SEQ ID NO: 74	ESLKISQAVHAAHAEINEAGREVVGVGALKVPRNQ DWLGVPRFAKFASFEAQGALANIAVDKANLDVEQ LESIINFELTEWTGS	Mad5
SEQ ID NO: 75	QAEPDRAHYNIVTFSSKS	Mad25
SEQ ID NO: 76	NGRVLELFRAAQLANDVVLQIMELSGATRPTGIPV HLELASMTNMELMSSIVHQGNNV	Mad24
SEQ ID NO: 77	ESLKISQAVHAAHAEINEAGREVVGVGALKVPRNQ	Mad39

	DWLGVPFRAKFAFASFEAQGALANIAVDKANLDVEQ LESIINFEKLTTEWTGS	
SEQ ID NO: 78	QAEPDRAHYNIVTFCKC	Mad10
SEQ ID NO: 79	LFRAAQLANDVVLQIMEHLELASMTNMELMSSIVV ISASIIVFNLELEG	Mad12

ПЕРВОНАЧАЛЬНАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Вакцина, содержащая первый компонент (К) и второй компонент (V), где первый компонент (К) содержит комплекс, при этом указанный комплекс состоит из или содержит:
- 5 (iv) проникающий в клетку пептид;
- (v) антигенный домен, содержащий по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп; и
- (vi) по меньшей мере один пептидный агонист TLR,
- 10 где компоненты i) – iii) являются ковалентно связанными, и где второй компонент (V) содержит онколитический рабдовирус.
2. Вакцина по п. 1, в которой комплекс первого компонента (К) представляет собой пептид, полипептид, или белок.
- 15 3. Вакцина по п. 1 или п. 2, в которой комплекс первого компонента (К) представляет собой рекомбинантный пептид, полипептид или белок.
4. Вакцина по любому из п.п. 1 - 3, в которой проникающий в клетку пептид первого компонента (К) содержит аминокислотную последовательность в соответствии с любой из SEQ ID NO: 2 (Z13), SEQ ID NO: 3 (Z14), SEQ ID NO: 4 (Z15) или SEQ ID NO: 5 (Z18).
- 20 5. Вакцина по любому из п.п. 1 - 4, в которой комплекс первого компонента (К) содержит больше, чем один пептидный агонист TLR, в частности 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше пептидных агонистов TLR.
- 25 6. Вакцина по любому из п.п. 1 - 5, в которой по меньшей мере один пептидный агонист TLR представляет собой пептидный агонист TLR2, TLR4 и/или TLR5.
- 30 7. Вакцина по любому из п.п. 1 - 6, в которой по меньшей мере один пептидный агонист TLR представляет собой пептидный агонист TLR2 и/или пептидный агонист TLR4.

8. Вакцина по любому из п.п. 1 - 7, в которой пептидный агонист TLR содержит или состоит из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 6 и/или SEQ ID NO: 7, или варианта функциональной последовательности SEQ ID NO: 6 и/или SEQ ID NO: 7.
9. Вакцина по любому из п.п. 1 - 8, в которой пептидный агонист TLR2 представляет собой аннексин II или его иммуномоделирующий фрагмент.
10. Вакцина по любому из п.п. 1 - 9, в которой агонист TLR2 содержит или состоит из аминокислотной последовательности в соответствии с аннексином II, кодирующим последовательность SEQ ID NO: 4 или SEQ ID NO: 7 из WO 2012/048190 A1 или их фрагменты или варианты.
11. Вакцина по любому из п.п. 1 - 10, в которой агонист TLR4 содержит или состоит из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 8 (пептидный агонист TLR4 EDA).
12. Вакцина по любому из п.п. 1 - 10, в которой агонист TLR2 содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 9 (белок 1 высококомобильной группы), или по меньшей мере один её иммуномодулирующий фрагмент.
13. Вакцина по любому из п.п. 1 - 12, в которой по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп антигенного домена указанного первого компонента (К) выбирают из группы, состоящей из таких как: пептид, полипептид или белок.
14. Вакцина по любому из п.п. 1 - 13, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит больше чем один антиген или антигенный эпитоп, в частности 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше антигенов или антигенных эпитопов.

15. Вакцина по любому из п.п. 1 - 14, в которой больше чем один антиген или антигенный эпитоп, в частности 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или больше антигенов или антигенных эпитопов расположены последовательно в антигенном домене первого компонента.

5

16. Вакцина по любому из п.п. 1 - 15, в которой по меньше мере один антиген или антигенный эпитоп представляет собой по меньшей мере один CD4+ эпитоп и/или по меньшей мере один CD8+ эпитоп.

10

17. Вакцина по любому из п.п. 1 - 16, в которой по меньше мере один антиген или антигенный эпитоп содержит или состоит из по меньшей мере одного эпитопа опухоли или рака.

15

18. Вакцина по п. 17, в которой по меньшей мере один опухолевый эпитоп указанного первого компонента (К) выбирают из связанного с опухолью антигена, опухолеспецифического антигена или опухолевого неоантигена.

20

19. Вакцина по п. 17 или 18, в которой по меньшей мере один опухолевый эпитоп антигенного домена указанного первого компонента (К) выбирают из группы опухолей, включающей эндокринные опухоли, желудочно-кишечные опухоли, мочеполовые и гинекологические опухоли, рак молочной железы, опухоли головы и шеи, гематопоэтические опухоли, опухоли кожи, торакальные и респираторные опухоли.

25

20. Вакцина по любому из п.п. 17 - 19, в которой по меньшей мере один опухолевый или раковый эпитоп антигенного домена указанного первого компонента (К) выбирают из группы опухолей или раковых заболеваний, таких как желудочно-кишечные опухоли, включающие анальный рак, рак аппендицита, холангиокарциному, карциноидные опухоли, рак кишечника желудочно-кишечного тракта, рак внепеченочного желчного протока, рак желчного пузыря, гастриальный рак (желудка), желудочно-кишечную карциноидную опухоль, желудочно-кишечную стромальную опухоль (GIST), гепатоцеллюлярный рак, рак поджелудочной железы, рак прямой кишки, колоректальный рак или метастатический колоректальный рак.

30

21. Вакцина по любому из п.п. 17 - 20, в которой по меньшей мере один опухолевый или раковый эпитоп антигенного домена указанного первого компонента (К) выбирают из группы связанных с опухолью антигенов, опухоле-специфических антигенов или опухолевых неоантигенов колоректального рака или метастатического колоректального рака.
22. Вакцина по любому из п.п. 17 - 21, в которой по меньшей мере один опухолевый или раковый эпитоп антигенного домена указанного первого компонента (К) представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: EpCAM, HER-2, MUC-1, TOMM34, RNF 43, KOC1, VEGFR, β hCG, сурвивин, CEA, TGF β R2, p53, KRas, OGT, CASP5, COA-1, MAGE, SART, IL13Ральфа2, ASCL2, NY-ESO-1, MAGE-A3, PRAME, WT1.
23. Вакцина по любому из п.п. 17 - 22, в которой по меньшей мере один опухолевый или раковый эпитоп антигенного домена указанного первого компонента (К) представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: ASCL2, EpCAM, MUC-1, сурвивин, CEA, KRas, MAGE-A3 и IL13Ральфа2, преимущественно по меньшей мере один опухолевый эпитоп представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: ASCL2, EpCAM, MUC-1, сурвивин, CEA, KRas и MAGE-A3, более предпочтительно по меньшей мере один опухолевый эпитоп представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: ASCL2, EpCAM, MUC-1, сурвивин и CEA, и даже более предпочтительно по меньшей мере один опухолевый эпитоп представляет собой эпитоп антигена, выбранный из группы, состоящей из таких как: ASCL2, EpCAM, сурвивин и CEA.
24. Вакцина по любому из п.п. 1 - 23, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит по меньшей мере один эпитоп сурвивина.
25. Вакцина по любому из п.п. 1 - 24, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит пептид, состоящий из

аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 12, или его фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант его функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

5

26. Вакцина по любому из п.п. 1 - 25, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 23, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

10

27. Вакцина по любому из п.п. 1 - 26, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 22.

15

28. Вакцина по любому из п.п. 1 - 27, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит по меньшей мере один эпитоп СЕА.

20

29. Вакцина по любому из п.п. 1 - 28, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 24, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности.

25

30. Вакцина по любому из п.п. 1 - 29, в которой антигенный домен содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 25, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

30

31. Вакцина по любому из п.п. 1 - 30, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит пептид, имеющий

аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 26, и/или пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 27.

- 5 32. Вакцина по любому из п.п. 1 - 31, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит по меньшей мере один эпитоп ASCL2.
- 10 33. Вакцина по любому из п.п. 1 - 32, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 15, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.
- 15 34. Вакцина по любому из п.п. 1 - 33, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 18, или варианта её функциональной последовательности, имеющего по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.
- 20 35. Вакцина по любому из п.п. 1 - 34, в которой антигенный домен содержит пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 16, и/или пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 17.
- 25 36. Вакцина по любому из п.п. 1 - 35, в которой антигенный домен содержит
- 30 а) один или несколько эпитопов ЕрСАМ или их вариантов функциональной последовательности;
- б) один или несколько эпитопов MUC-1 или их вариантов функциональной последовательности;
- в) один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности;

d) один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности;

e) один или несколько эпитопов KRas или их вариантов функциональной последовательности;

5 f) один или несколько эпитопов MAGE-A3 или их вариантов функциональной последовательности, и/или

g) один или несколько эпитопов ASCL2 или их вариантов функциональной последовательности.

10 37. Вакцина по любому из п.п. 1 - 36, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит

a) один или несколько эпитопов EpCAM или их вариантов функциональной последовательности;

15 b) один или несколько эпитопов MUC-1 или их вариантов функциональной последовательности;

d) один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности; и/или

f) один или несколько эпитопов MAGE-A3 или их вариантов функциональной последовательности.

20

38. Вакцина по любому из п.п. 1 - 36, в которой антигенный домен содержит

a) один или несколько эпитопов EpCAM или их вариантов функциональной последовательности;

25 b) один или несколько эпитопов MUC-1 или их вариантов функциональной последовательности;

d) один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности; и/или

30 e) один или несколько эпитопов KRas или их вариантов функциональной последовательности.

39. Вакцина по любому из п.п. 1 - 36, в которой антигенный домен содержит

- а) один или несколько эпитопов ЕрСАМ или их вариантов функциональной последовательности;
- 5 с) один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности;
- d) один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности; и/или
- f) один или несколько эпитопов МАGE-А3 или их вариантов
- 10 функциональной последовательности.

40. Вакцина по любому из п.п. 1 – 36, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит

- а) один или несколько эпитопов ЕрСАМ или их вариантов
- 15 функциональной последовательности;
- d) один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности; и/или
- f) один или несколько эпитопов МАGE-А3 или их вариантов
- функциональной последовательности.

20

41. Вакцина по любому из п.п. 1 - 36, в которой антигенный домен содержит

- б) один или несколько эпитопов МUC-1 или их вариантов функциональной последовательности;
- 25 с) один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности; и/или
- f) один или несколько эпитопов МАGE-А3 или их вариантов функциональной последовательности.

30

42. Вакцина по любому из п.п. 1 - 36, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит

- а) один или несколько эпитопов ЕрСАМ или их вариантов функциональной последовательности;

b) один или несколько эпитопов MUC-1 или их вариантов функциональной последовательности;

c) один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности; и/или

5 d) один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности.

43. Вакцина по п. 42, в которой антигенный домен содержит

10 a) один или несколько эпитопов ЕрСАМ или их вариантов функциональной последовательности;

b) один или несколько эпитопов MUC-1 или их вариантов функциональной последовательности; и/или

d) один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности.

15

44. Вакцина по п. 43, в которой антигенный домен содержит

a) один или несколько эпитопов ЕрСАМ или их вариантов функциональной последовательности; и/или

20 d) один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности.

45. Вакцина по любому из п.п. 1 - 37, в которой антигенный домен содержит

25 a) один или несколько эпитопов ЕрСАМ или их вариантов функциональной последовательности;

c) один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности;

d) один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности; и/или

30 g) один или несколько эпитопов ASCL2 или их вариантов функциональной последовательности.

46. Вакцина по п. 45, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит

- один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов

функциональной последовательности; и

- 5
- один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности.

47. Вакцина по п. 45, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит

- 10
- один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов

функциональной последовательности; и

- один или несколько эпитопов ASCL2 или их вариантов

функциональной последовательности.

15

48. Вакцина по п. 45, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит

- один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности; и

- один или несколько эпитопов ASCL2 или их вариантов

20

функциональной последовательности.

49. Вакцина по любому из п.п. 45 - 48, в которой антигенный домен указанного первого компонента (К) содержит

- один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов

25

функциональной последовательности;

- один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности; и

- один или несколько эпитопов ASCL2 или их вариантов

функциональной последовательности.

30

50. Вакцина по п. 49, в которой антигенный домен содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- один или несколько эпитопов СЕА или их вариантов функциональной последовательности;

- один или несколько эпитопов сурвивина или их вариантов функциональной последовательности; и

- один или несколько эпитопов ASCL2 или их вариантов функциональной последовательности.

5

51. Вакцина по любому из п.п. 1 - 50, в которой антигенный домен содержит в направлении от N-конца к C-концу:

10 - пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 24, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности;

15 - пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 12, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности; и

20 - пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 15, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности.

20

52. Вакцина по п. 51, в которой C-конец пептида, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 24, или её фрагмента или варианта, непосредственно связан с N-концом пептида, состоящего из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 25 12, или её фрагмента или варианта; и C-конец пептида, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 12, или её фрагмента или варианта, непосредственно связан с N-концом пептида, имеющего аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 15 или её фрагмент или вариант.

30

53. Вакцина по п. 52, в которой антигенный домен комплекса указанного первого компонента (К) содержит пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 25 или варианта её функциональной последовательности, имеющего по меньшей мере 70%, 75%,

80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности; пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 23 или варианта её функциональной последовательности, имеющего по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности; и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 18 или варианта её функциональной последовательности, имеющего по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

54. Вакцина по п. 53, в которой антигенный домен комплекса указанного первого компонента (К) содержит пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 45 или варианта её функциональной последовательности, имеющего по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% идентичности последовательности.

55. Вакцина по п. 54, в которой комплекс первого компонента (К) содержит или состоит из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 60, или варианта её функциональной последовательности, имеющего по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

56. Вакцина по любому из предыдущих пунктов, в которой онколитический рабдовирус второго компонента (V) представляет собой рекомбинантный рабдовирус.

57. Вакцина по п. 56, в которой онколитический рекомбинантный рабдовирус второго компонента (V) выбирают из рода везикуловирусов.

58. Вакцина по п. 57, в которой онколитический рекомбинантный везикуловирус выбирают из группы, включающей такие как: вирус везикулярного стоматита Алагоас (VSAV), вирус Караяс (CJSV), вирус Чандипура (CHPV), вирус Кокал (COCV), вирус везикулярного стоматита Индиана (VSIV), вирус Исфахан (ISFV), вирус Мараба (MARAV), вирус везикулярного стоматита Нью-Джерси (VSNJV) или вирус Пири (PIRYV).

59. Вакцина по п. 57 или 58, в которой онколитический рекомбинантный везикуловирус представляет собой рекомбинантный вирус везикулярного стоматита, который представляет собой преимущественно один из вируса везикулярного стоматита Индиана (VSIV) или вируса везикулярного стоматита Нью-Джерси (VSNJV).
60. Вакцина по п. 59, в которой онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита является репликационно компетентным.
61. Вакцина по п. 59 или 60, в которой онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита
- (i) не имеет функционального гена, кодирующего гликопротеин G, и/или
 - (ii) не имеет функционального гликопротеина G.
62. Вакцина по любому из п.п. 59 - 61, в которой
- (i) ген, кодирующий гликопротеин G, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP другого вируса, и/или
 - (ii) гликопротеин G замещен гликопротеином GP другого вируса.
63. Вакцина по п. 62, в которой
- (i) ген, кодирующий гликопротеин G, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP аренавируса, и/или
 - (ii) гликопротеин G замещен гликопротеином GP аренавируса.
64. Вакцина по п. 62 или п. 63, в которой
- (i) ген, кодирующий гликопротеин G, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса Данденонг или вируса Мопея, и/или
 - (ii) гликопротеин G замещен гликопротеином GP вируса Данденонг или вируса Мопея.
65. Вакцина по любому из п.п. 61 - 64, в которой
- (i) ген, кодирующий гликопротеин G, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и/или
 - (ii) гликопротеин G замещен гликопротеином GP вируса LCMV.

66. Вакцина по п. 65, в которой гликопротеин GP вируса LCMV содержит аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 46, или вариант её функциональной последовательности, который является по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 95% идентичным ей.

67. Вакцина по любому из п.п. 59 - 66, в которой онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита второго компонента (V) кодирует в своём геноме по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп по любому из п.п. 22 - 54, причем ген, кодирующий гликопротеин G вируса везикулярного стоматита, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и/или гликопротеин G вируса везикулярного стоматита замещен гликопротеином GP вируса LCMV.

68. Вакцина по любому из п.п. 59 - 67, в которой онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита второго компонента (V) кодирует в своём геноме нуклеопротеин (N), большой белок (L), фосфопротеин (P), матриксный белок (M), гликопротеин (G) вируса везикулярного стоматита и по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп по любому из п.п. 22 - 54, причем ген, кодирующий гликопротеин G вируса везикулярного стоматита, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и/или гликопротеин G замещен гликопротеином GP вируса LCMV.

69. Вакцина по любому из п.п. 59 - 68, в которой онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита второго компонента (V) кодирует в своём геноме нуклеопротеин (N), большой белок (L), фосфопротеин (P), матриксный белок (M), гликопротеин (G) вируса везикулярного стоматита и по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп по любому из п.п. 22 - 54, причем ген, кодирующий гликопротеин G вируса везикулярного стоматита, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и/или гликопротеин G замещен гликопротеином GP вируса LCMV, и где

- нуклеопротеин (N) содержит аминокислоту, представленную в SEQ ID NO:49, или функциональный вариант, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98% идентичный SEQ ID NO: 49,

5 - где фосфопротеин (P) содержит аминокислоту, представленную в SEQ ID NO:50, или функциональный вариант, по меньшей мере на 80%, 85%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98% идентичный SEQ ID NO: 50,

- где большой белок (L) содержит аминокислоту, представленную в SEQ ID NO:51, или функциональный вариант, по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98% идентичный SEQ ID NO: 51,

10 - матриксный белок (M) содержит аминокислоту, представленную в SEQ ID NO:52, или функциональный вариант, по меньшей мере 80%, 85%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98% идентичный SEQ ID NO: 52.

15 70. Вакцина по любому из п.п. 59 - 69, в которой онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита второго компонента (V) кодирует в своём геноме второй антигенный домен, состоящий из аминокислотной последовательности антигенного домена первого компонента (K) по любому из п.п. 22 - 54.

20 71. Вакцина по п. 70, в которой второй антигенный домен, кодируемый в геноме онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита второго компонента (V), содержит по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп, выбранный из группы, включающей:

- CEA (SEQ ID NO: 24)
- 25 - Сурвивин (SEQ ID NO: 12)
- ASCL2 (SEQ ID NO: 15)
- MUC-1 (SEQ ID NO: 19)
- EpCAM (SEQ ID NO: 40)
- KRas (SEQ ID NO: 30)
- 30 - MAGE-A3 (SEQ ID NO: 10).

72. Вакцина по п. 71, в которой второй антигенный домен, кодируемый в геноме онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита

второго компонента (V), содержит по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп CEA (SEQ ID NO: 24).

5 73. Вакцина по п. 71 или 72, в которой второй антигенный домен, кодируемый в геноме онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита второго компонента (V), содержит по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп сурвивина (SEQ ID NO: 12).

10 74. Вакцина по любому из п.п. 71 - 73, в которой второй антигенный домен, кодируемый в геноме онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита второго компонента (V), содержит по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп ASCL2 (SEQ ID NO: 15).

15 75. Вакцина по любому из п.п. 71 - 74, в которой второй антигенный домен онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита второго компонента (V) содержит преимущественно в направлении от N-конца к C-концу:

20 - пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 24, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности;

25 - пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 12, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности; и

30 - пептид, имеющий аминокислотную последовательность в соответствии с SEQ ID NO: 15, или её фрагмент, имеющий длину по меньшей мере 10 аминокислот, или вариант её функциональной последовательности, имеющий по меньшей мере 70% идентичности последовательности.

76. Вакцина по п. 75, в которой второй антигенный домен онколитического рекомбинантного вируса везикулярного стоматита второго компонента (V) содержит пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 25 или варианта её

функциональной последовательности, имеющего по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности; пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 23 или варианта её функциональной последовательности, имеющего по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности; и пептид, состоящий из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 18 или варианта её функциональной последовательности, имеющего по меньшей мере 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% идентичности последовательности.

10 77. Вакцина по п. 76, в которой онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита второго компонента (V) кодирует в своём геноме второй антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45.

15 78. Вакцина по п. 77, в которой комплекс первого компонента (K) состоит из аминокислотной последовательности в соответствии с SEQ ID NO: 60 и в которой онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита второго компонента (V) кодирует в своём геноме

20 - фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 54,

 - нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 55,

 - матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 56,

25 - большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 57,

 - гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 58, и

30 - антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 59.

 79. Вакцина по любому из п.п. 1 - 78 для применения в лечении и/или предотвращении опухоли или рака у пациента, которому это необходимо.

80. Вакцина для применения по п. 79, в которой опухоль выбирают из эндокринных опухолей, опухолей желудочно-кишечного тракта, мочеполовых и гинекологических опухолей, опухолей головы и шеи, гемопоэтических опухолей, кожных опухолей, опухолей грудной клетки и дыхательных путей.

5

81. Вакцина для применения по п. 79 или 80, в которой опухоль выбирают из группы желудочно-кишечных опухолей, включающей анальный рак, рак аппендицита, холангиокарциному, карциноидную опухоль, рак кишечника желудочно-кишечного тракта, рак внепеченочного желчного протока, рак желчного пузыря, гастральный рак (желудка), желудочно-кишечную карциноидную опухоль, желудочно-кишечную стромальную опухоль (GIST), гепатоцеллюлярный рак, рак поджелудочной железы, рак прямой кишки, колоректальный рак или метастатический колоректальный рак.

10

82. Вакцина для применения по п. 81, в которой опухоль представляет собой опухоль колоректального рака или метастатического колоректального рака.

15

83. Вакцина для применения по любому из п.п. 79 - 82, в которой и первый компонент (К) и второй компонент (V) вводят по меньшей мере по одному разу.

20

84. Вакцина для применения по п. 83, в которой первый компонент (К) вводят до введения второго компонента (V).

25

85. Вакцина для применения по п. 83 или 84, в которой первый компонент (К) вводят по меньшей мере два раза, предпочтительно до и после введения второго компонента (V).

30

86. Вакцина для применения по п. 85, в которой первый компонент (К) и второй компонент (V) вводят в порядке К-V-К, К-V-К-К, К-V-V-К, преимущественно в порядке К-V-К или К-V-К-К.

87. Вакцина для применения по любому из п.п. 83 - 86, в которой первый компонент (К) и второй компонент (V) вводят с разницей между введениями 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21 день, преимущественно с разницей между введениями от приблизительно 5, 6, 7, 8, 9, 10 дней до
5 приблизительно 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 дней, предпочтительно от приблизительно 11, 12, 13, 14 дней до приблизительно 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 дня.

88. Вакцина для применения по п. 87, в которой первый компонент (К)
10 вводят по меньшей мере один раз через от 10, 11, 12, 13, 14 дней до приблизительно 20, 22, 24, 26, 28, 30 дней после введения второго компонента (V).

89. Онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита,
15 кодирующий в своем геноме по меньшей мере один антиген или антигенный эпитоп по любому из п.п. 22 - 54, причем ген, кодирующий гликопротеин G вируса везикулярного стоматита, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и/или гликопротеин G замещен гликопротеином GP вируса LCMV.

20
90. Онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита по п. 89, кодирующий в своем геноме нуклеопротеин (N), большой белок (L), фосфопротеин (P), матриксный белок (M), гликопротеин (G) вируса везикулярного стоматита и по меньшей мере один антиген или антигенный
25 эпитоп по любому из п.п. 22 - 54, причем ген, кодирующий гликопротеин G вируса везикулярного стоматита, замещен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и/или гликопротеин G замещен гликопротеином GP вируса LCMV.

30
91. Онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита по любому из п.п. 69 - 78.

92. Онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита по любому из п.п. 89 - 91 для применения в лечении и/или предотвращении опухоли или рака.

5 93. Онколитический рекомбинантный вирус везикулярного стоматита по любому из п.п. 89 - 92 для применения в вакцине по любому из п.п. 1 - 88.

10 94. Комплекс первого компонента (К) по п. 55 или по любому из п.п. 1 - 54 для применения в комбинации с химиотерапевтическим агентом, иммунотерапевтическим агентом, таким как ингибитор контрольной точки иммунного ответа, или таргетным лекарственным средством.

15 95. Комплекс первого компонента (К) по п. 55 для применения в комбинации с онколитическим рекомбинантным вирусом везикулярного стоматита вакцины по любому из п.п. 89 - 91, необязательно в комбинации с химиотерапевтическим агентом, иммунотерапевтическим агентом, таким как ингибитор контрольной точки иммунного ответа, или таргетным лекарственным средством.

20 96. Онколитический вирус везикулярного стоматита по любому из п.п. 89 - 91 для применения в комбинации с комплексом первого компонента (К) по п. 55, необязательно в комбинации с химиотерапевтическим агентом, иммунотерапевтическим агентом, таким как ингибитор контрольной точки иммунного ответа, или таргетным лекарственным средством.

25 97. Вакцина по любому из п.п. 79 - 88 для применения в комбинации с химиотерапевтическим агентом, иммунотерапевтическим агентом, таким как ингибитор контрольной точки иммунного ответа, или таргетным лекарственным средством.

30 98. Способ лечения пациента, которому это необходимо, страдающего опухолью, при этом способ включает введение указанному пациенту эффективного количества вакцины по любому из п.п. 1 - 78.

99. Способ лечения пациента, которому это необходимо, по п. 98, в котором опухоль выбирают из эндокринных опухолей, опухолей желудочно-кишечного тракта, мочеполовых и гинекологических опухолей, рака молочной железы, опухолей головы и шеи, гемопозитических опухолей, опухолей кожи, 5 опухолей грудной клетки и дыхательных путей, преимущественно колоректального рака или метастатического колоректального рака.

100. Способ лечения пациента, которому это необходимо, по п. 98 или п. 99, в котором вакцину вводят вместе с одним или несколькими 10 иммунотерапевтическими агентами, такими как ингибитор контрольной точки иммунного ответа, химиотерапевтическими агентами или таргетными лекарственными средствами.

101. Способ лечения пациента, которому это необходимо, по п. 100, в 15 котором модулятор контрольной точки вводят одновременно, последовательно, поочередно или после введения указанной вакцины.

102. Способ лечения человека, которому это необходимо, по п. 101, в 20 котором модулятор контрольной точки вводят за приблизительно 1 - приблизительно 14 дней до введения вакцины.

103. Способ лечения пациента, которому это необходимо, по любому из п.п. 98 - 102, в котором первый компонент (К) и второй компонент (V) вакцины вводят внутривенно, подкожно или внутримышечно. 25

104. Способ лечения пациента, которому это необходимо, по любому из п.п. 98 - 103, в котором первый компонент (К) и второй компонент (V) вакцины вводят разными путями введения.

30 105. Способ лечения пациента, которому это необходимо, по п. 104, в котором первый компонент (К) вакцины вводят внутримышечно, а второй компонент (V) вакцины вводят внутривенно или внутритуморально, преимущественно, внутривенно.

106. Способ лечения пациента, которому это необходимо, по любому из п.п. 98 - 105, в котором вводят от приблизительно 0,5 нмоль до приблизительно 10 нмоль комплекса первого компонента (К) вакцины.

5 107. Способ лечения человека, которому это необходимо, по любому из п.п. 98 - 106, в котором рекомбинантный VSV второго компонента (V) вакцины дозируют от приблизительно 10^6 TCID₅₀ до приблизительно 10^{11} TCID₅₀.

10 108. Способ лечения человека, которому это необходимо, по любому из п.п. 98 - 107, в котором первый компонент (К) и второй компонент (V) вакцины, преимущественно по п. 77 или п. 78, вводят в порядке: первый компонент (К), потом второй компонент (V), преимущественно в порядке К-V-К.

15 109. Способ лечения человека, которому это необходимо, по любому из п.п. 98 - 108, в котором первый компонент (К) и второй компонент (V) вакцины вводят последовательно, при этом первый компонент (К) и второй компонент (V) вводят с разницей между введениями от приблизительно 7 дней до приблизительно 30 дней.

20 110. Способ лечения человека, которому это необходимо, по любому из п.п. 98 - 109, при этом способ включает введение указанному пациенту первого компонента (К) по меньшей мере один раз через приблизительно 21 день - приблизительно 180 дней после последнего введения первого компонента (К).

25 111. Набор для применения в вакцинации при лечении и/или профилактике опухоли или рака, при этом набор содержит вакцину по любому из п.п. 1 - 78.

30 112. Набор для применения по п. 111, где набор дополнительно содержит по меньшей мере один из химиотерапевтического агента, ингибитора контрольной точки иммунного ответа, таргетного лекарственного средства или иммунотерапевтического агента для применения в комбинации с вакциной.

113. Способ увеличения инфильтрации опухоли опухолевыми антиген-специфическими Т-клетками у пациента, включающий введение пациенту, страдающему опухолью или раком, вакцины по любому из п.п. 1 - 78.

5 114. Вирус везикулярного стоматита, в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80.

10

115. Вирус везикулярного стоматита по п. 114, при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме

- фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50,

15 - нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49,

- матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52,

20 - большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51,

- гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и

- антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

25

116. Вакцина по любому из п.п. 1 - 78, в которой онколитический рабдовирус второго компонента (V) представляет собой вирус везикулярного стоматита, в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80.

30

117. Вакцина по п. 116, в которой вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме

- фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50,
- нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49,
- 5 - матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52,
- большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51,
- гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и
- 10 - антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

118. Полипептид, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 60, для применения в схеме иммунизации в комбинации с вирусом везикулярного стоматита, в котором РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 20 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80.

119. Полипептид для применения в схеме иммунизации в комбинации с вирусом везикулярного стоматита по п. 118, при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме

- 25 - фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50,
- нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49,
- матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52,
- 30 - большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51,
- гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и

- антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

120. Вирус везикулярного стоматита, в котором РНК геном вируса
5 везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80, для применения в схеме иммунизации в комбинации с полипептидом, содержащим или состоящим из аминокислотной
10 последовательности SEQ ID NO: 60.

121. Вирус везикулярного стоматита для применения в схеме иммунизации в комбинации с полипептидом по п. 120, при этом вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме

- 15 - фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50,
- нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49,
- матриксный белок (M), содержащий аминокислотную
20 последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52,
- большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51,
- гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и
25 - антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

122. Набор из частей, содержащий полипептид и вирус везикулярного стоматита, где указанный полипептид содержит или состоит из аминокислотной
30 последовательности SEQ ID NO: 60, и где РНК геном вируса везикулярного стоматита содержит или состоит из последовательности РНК, идентичной или по меньшей мере на 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичной SEQ ID NO: 80.

123. Набор из частей по п. 122, в котором вирус везикулярного стоматита кодирует в своём геноме

- 5 - фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 50,
- нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 49,
- матриксный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 52,
- 10 - большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 51,
- гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность, состоящую из SEQ ID NO: 53, и
- антигенный домен, содержащий аминокислотную последовательность, 15 состоящую из SEQ ID NO: 45 или SEQ ID NO: 59.

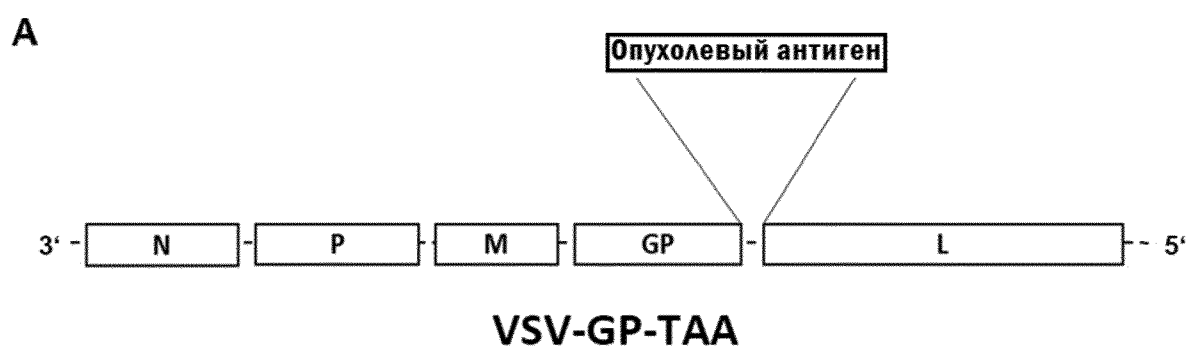
124. Комплекс первого компонента (K) для применения по п. 94 или 95, вирус для применения по п. 96, вакцина для применения по п. 97, способ по п. 100 или набор по п. 112, в которых ингибитор контрольной точки иммунного 20 ответа выбирают из группы, состоящей из таких как: пембролизумаб; ниволумаб; пидилизумаб; цемиплимаб; PDR-001; атезолизумаб; авелумаб; дурвалумаб, антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62; антитело, включающее 25 тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:63, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:64; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:65, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66; антитело, включающее 30 тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:67, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:68; и антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70.

125. Вакцина по п. 78 или п. 116 или набор из частей по п. 122 или 123, которые дополнительно содержат ингибитор контрольной точки иммунного ответа пути PD-1/PD-L1, преимущественно выбранный из группы, состоящей из
5 таких как: пембролизумаб; ниволумаб; пидилизумаб; цемиплимаб; PDR-001; атезолизумаб; авелумаб; дурвалумаб, антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность
10 SEQ ID NO:63, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:64; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:65, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную
15 последовательность SEQ ID NO:67, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:68; и антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70.

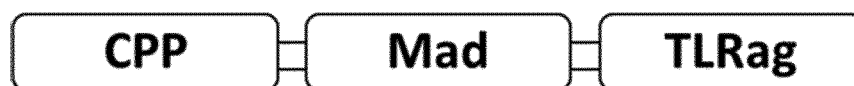
20
126. Полипептид для применения по п. 118 или 119; или вирус для применения по п. 120 или 121; где комбинация дополнительно содержит ингибитор контрольной точки иммунного ответа пути PD-1/PD-L1, преимущественно выбранный из группы, состоящей из таких как:
25 пембролизумаб; ниволумаб; пидилизумаб; цемиплимаб; PDR-001; атезолизумаб; авелумаб; дурвалумаб, антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:61, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:62; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность
30 SEQ ID NO:63, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:64; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:65, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:66; антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную

последовательность SEQ ID NO:67, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:68; и антитело, включающее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:69, и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO:70.

127. Вакцина для применения по любому из п.п. 79 - 88 и 97; вирус для применения по любому из п.п. 93, 96, 120, 121, 124 и 126; комплекс первого компонента (К) для применения по любому из п.п. 95 и 124; способ по любому из п.п. 98 - 110, 113 и 124; набор для применения по любому из п.п. 111, 112 и 124; или полипептид для применения по любому из п.п. 118, 119 и 126; в которых первый компонент (К) и второй компонент (V) вводят как гетерологичную прайм-буст вакцину.

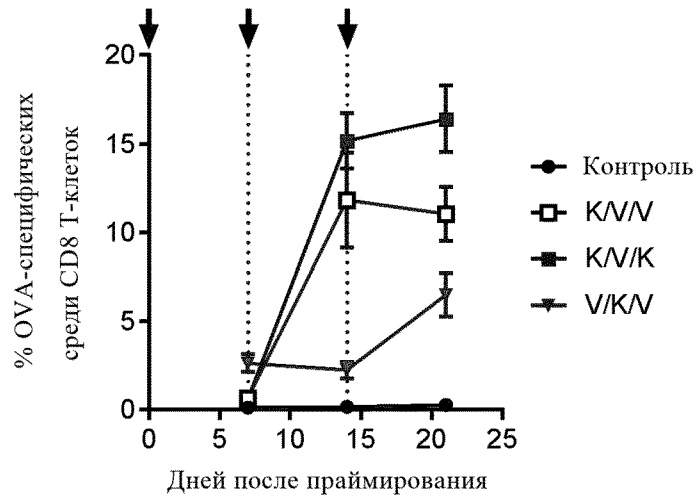


B

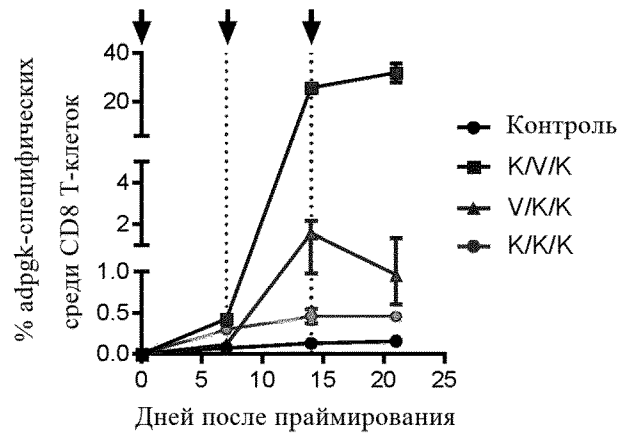


Фиг. 1

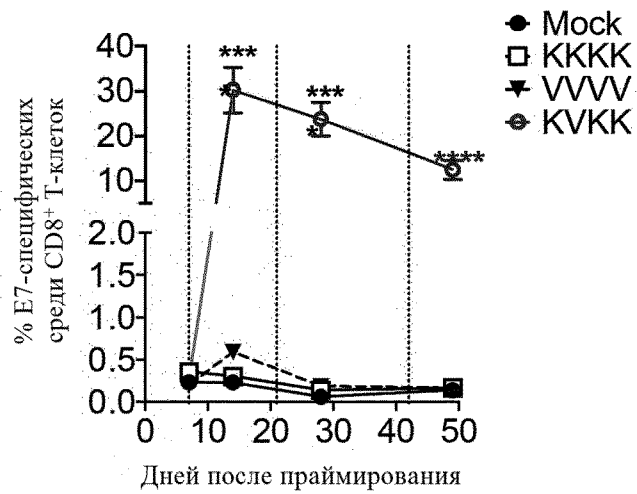
A



B

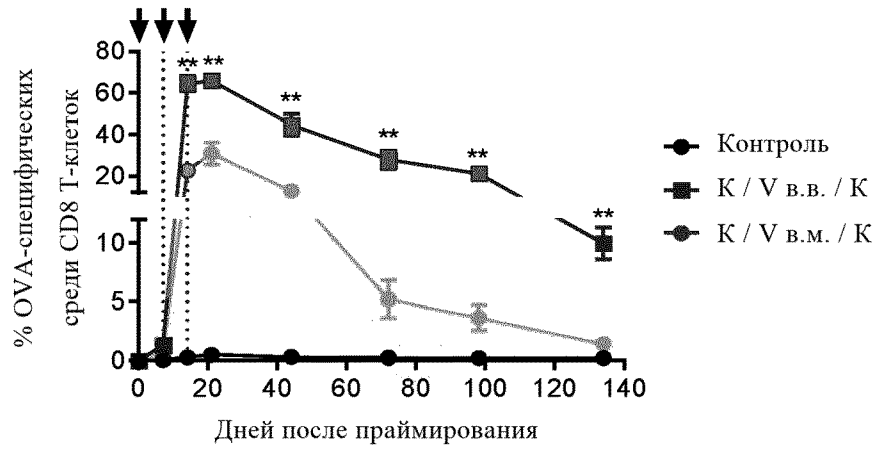


C

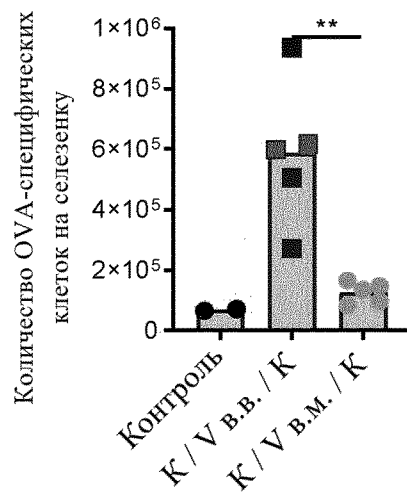


Фиг. 2

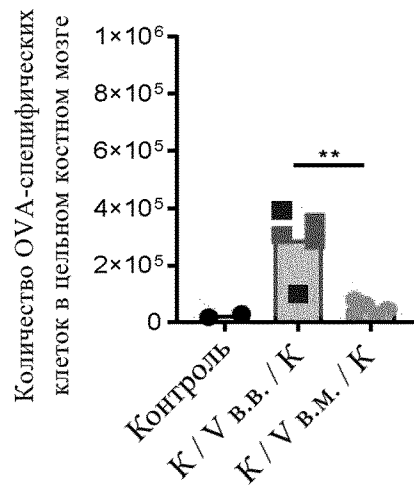
A



B

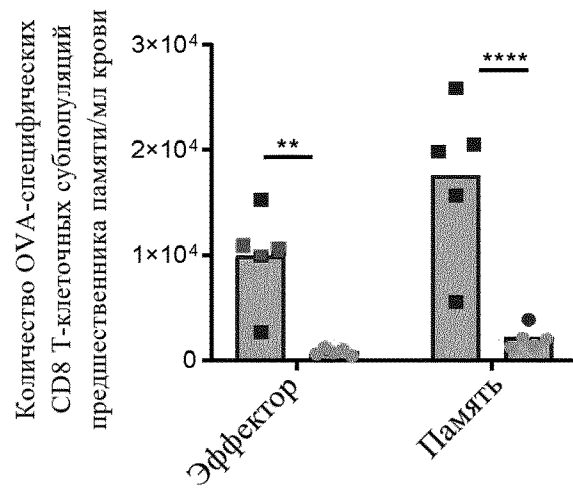


C

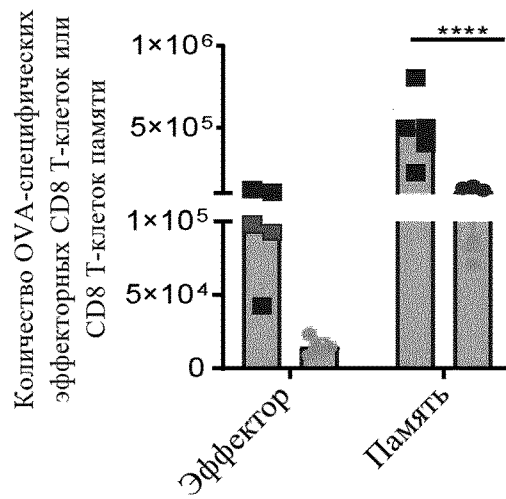


Фиг. 3

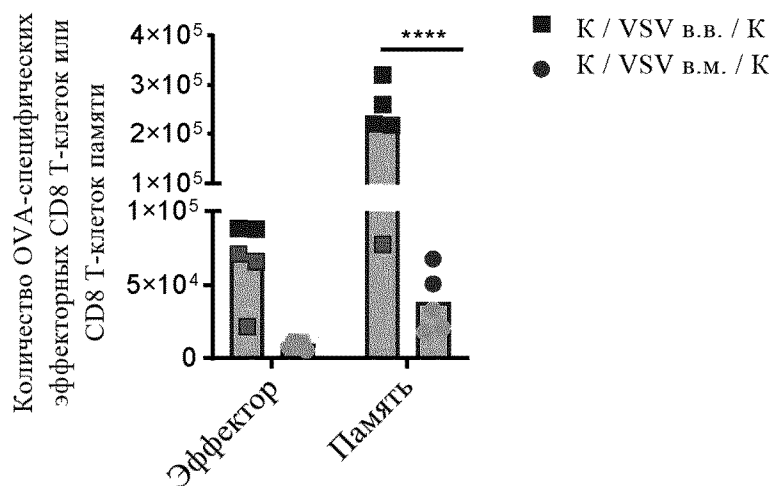
D



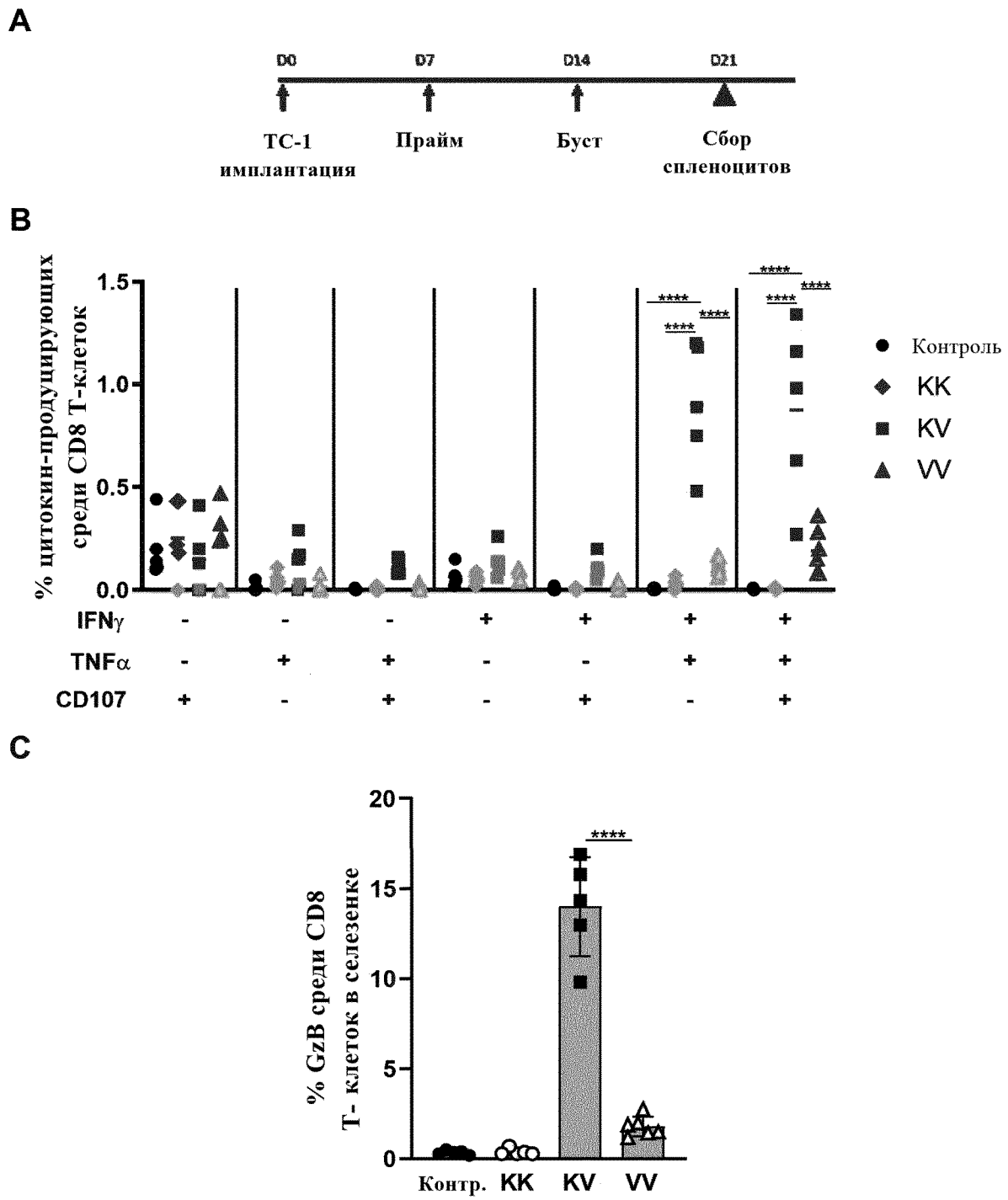
E



F

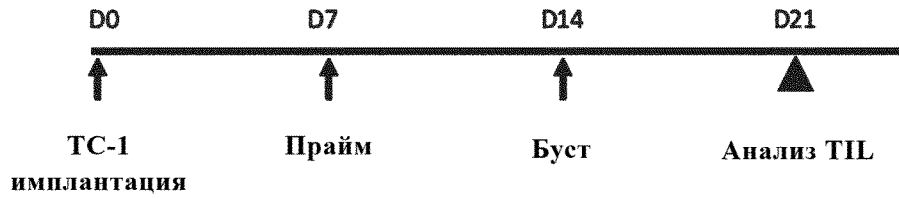


Фиг. 3 (продолжение)

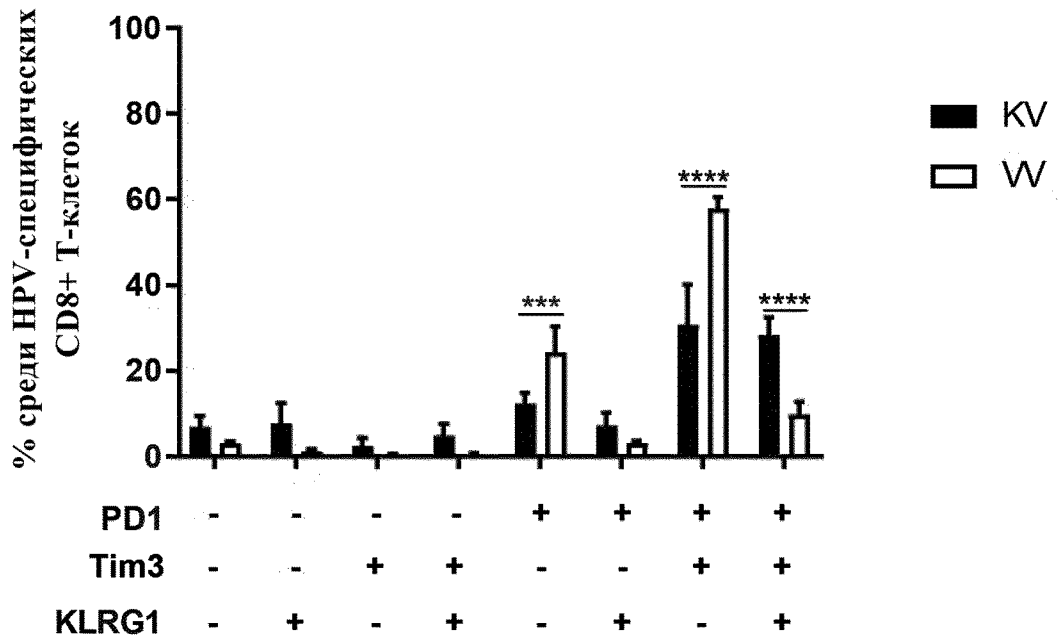


Фиг. 4

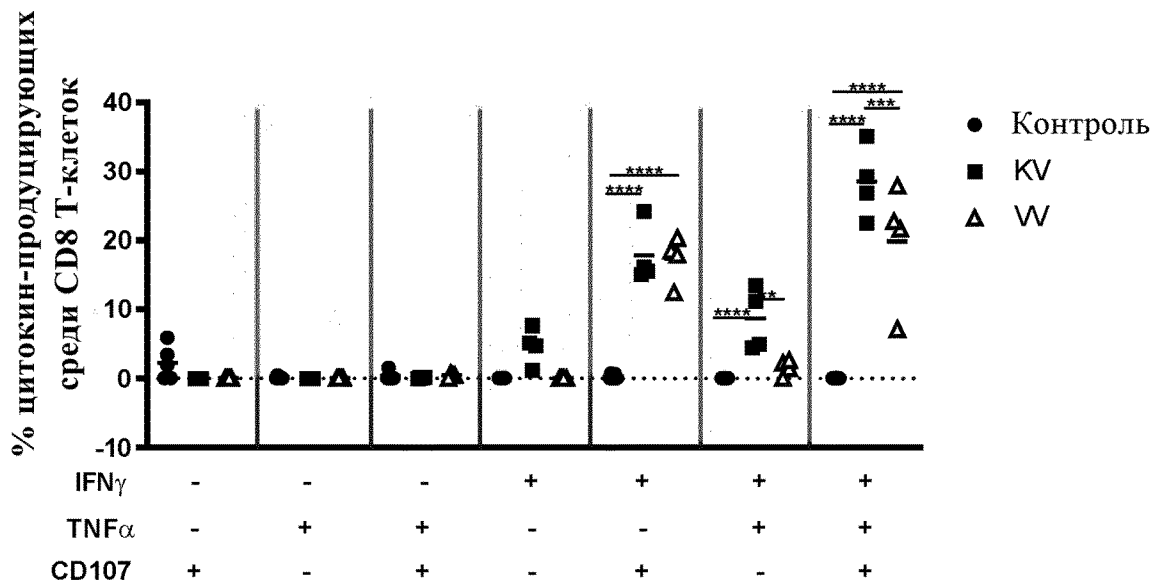
A



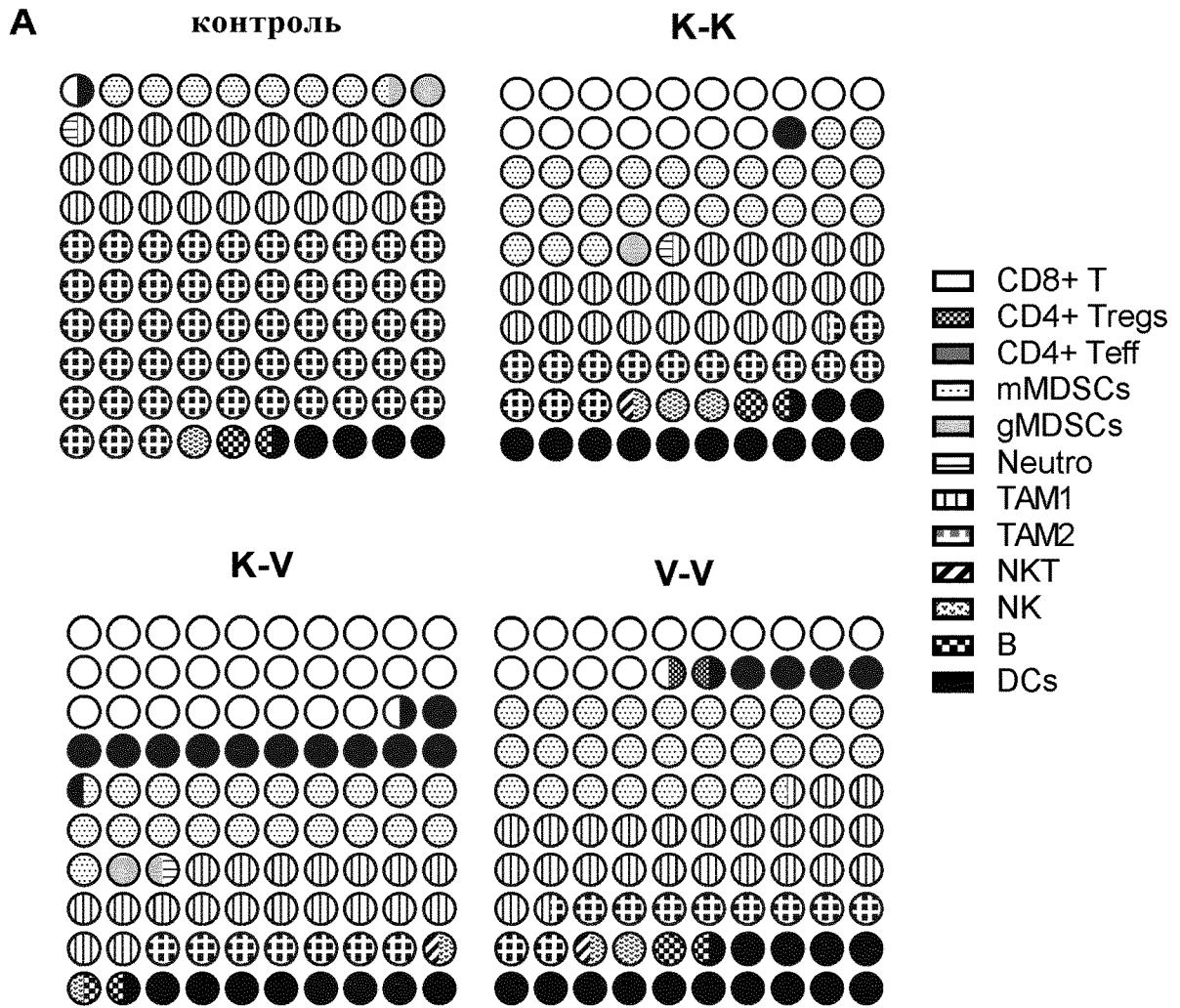
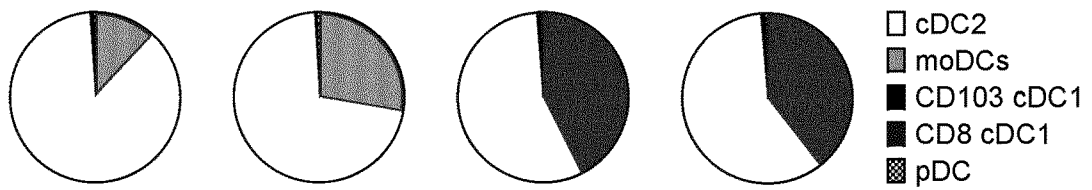
B



C

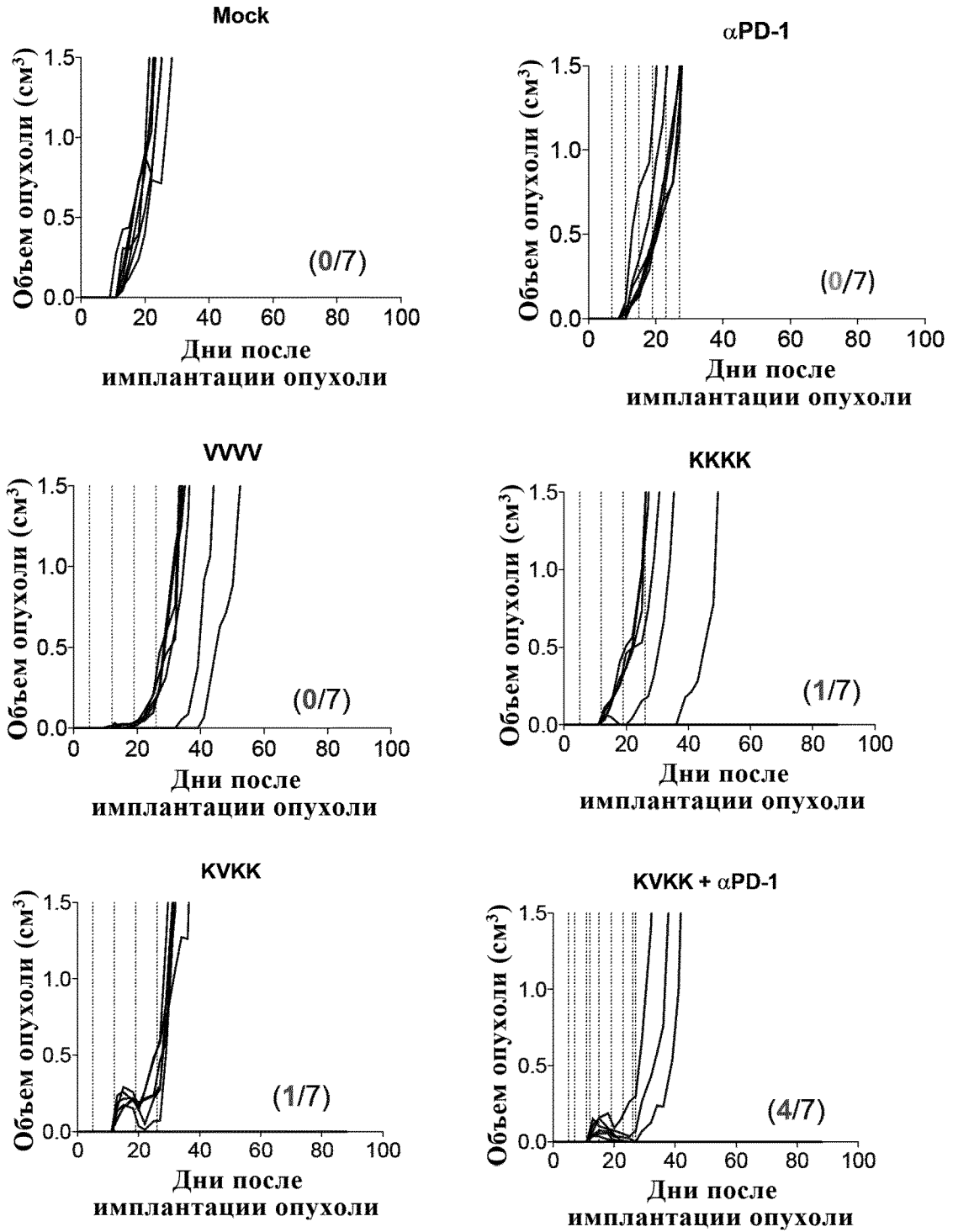


Фиг. 5

**B**

Фиг. 6

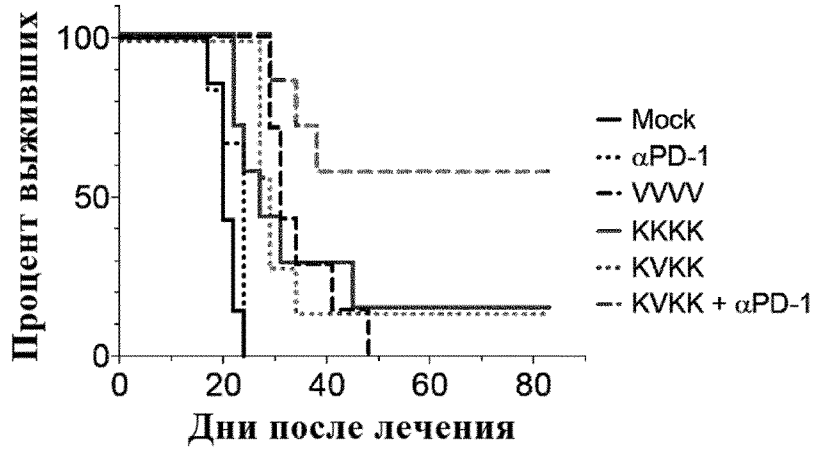
A



Фиг. 7

В

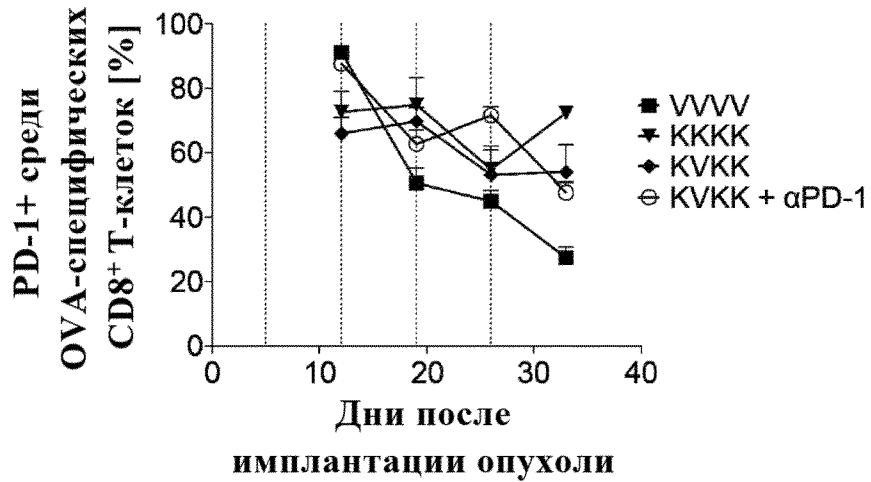
Выживание



С

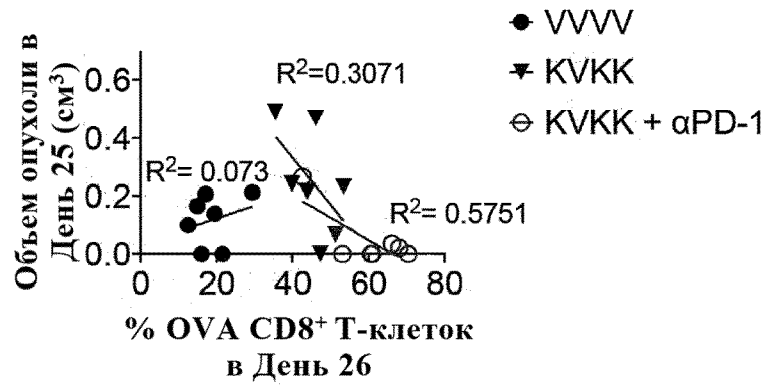


Д



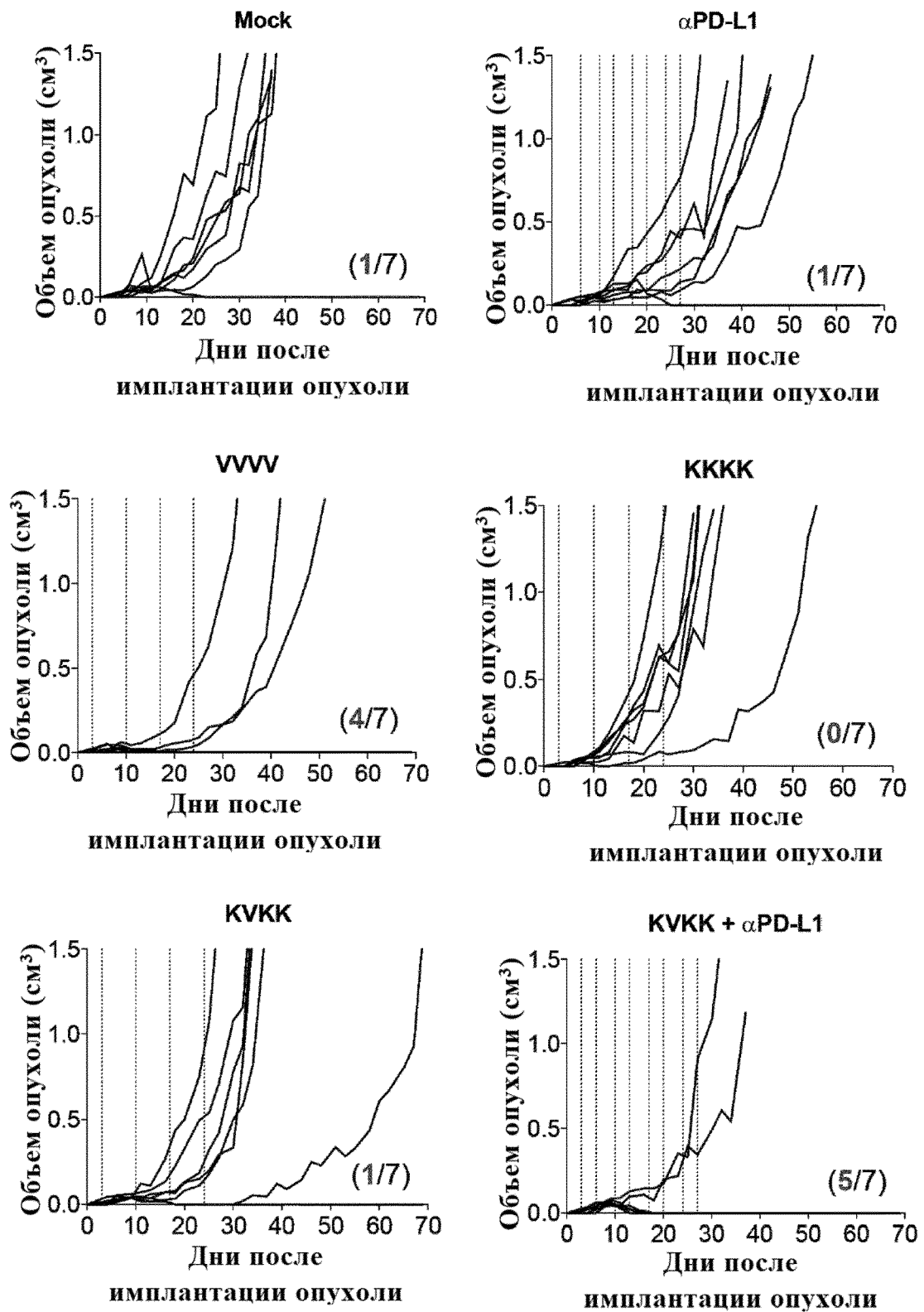
Фиг. 7 (продолжение)

E

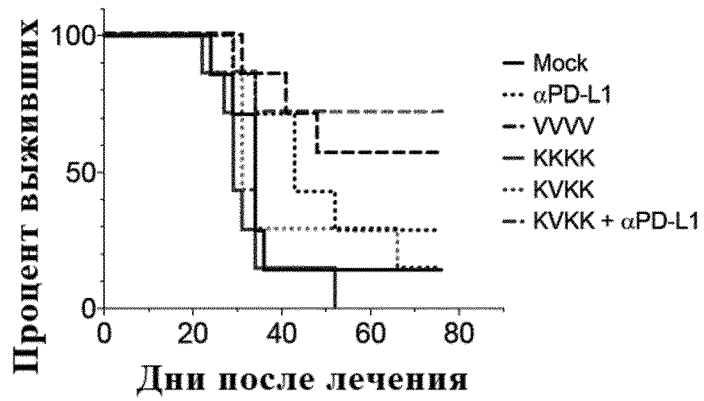
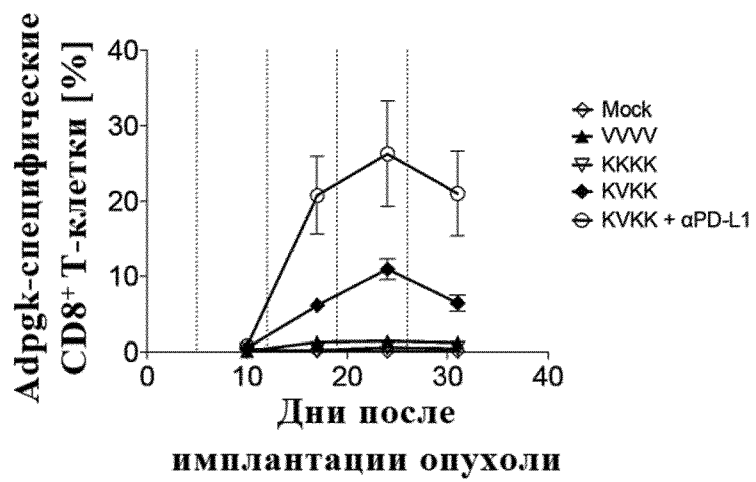


Фиг. 7 (продолжение)

A

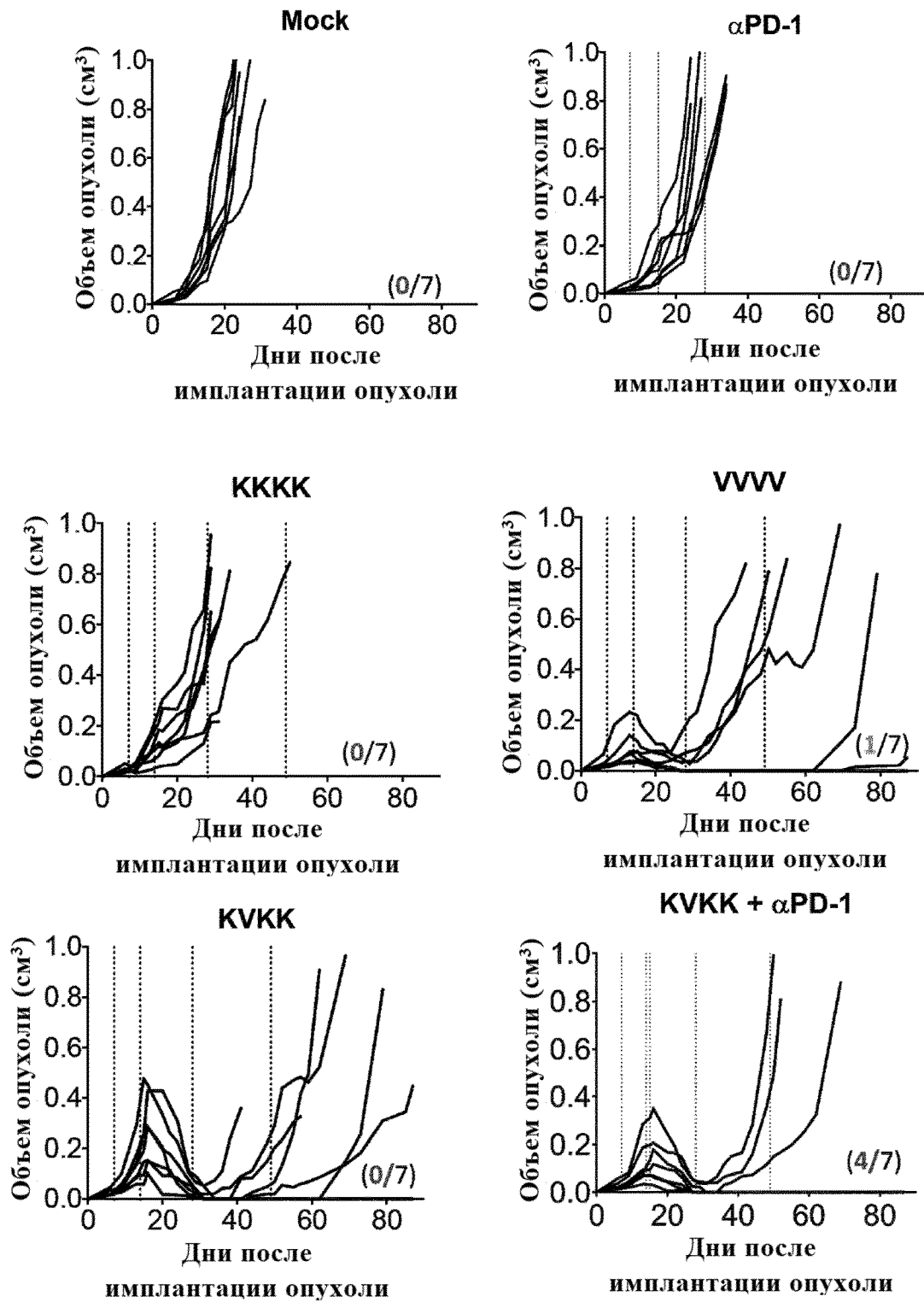


Фиг. 8

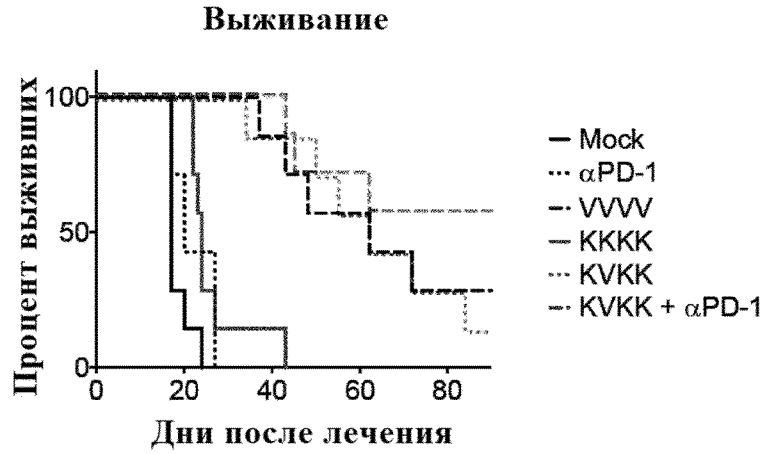
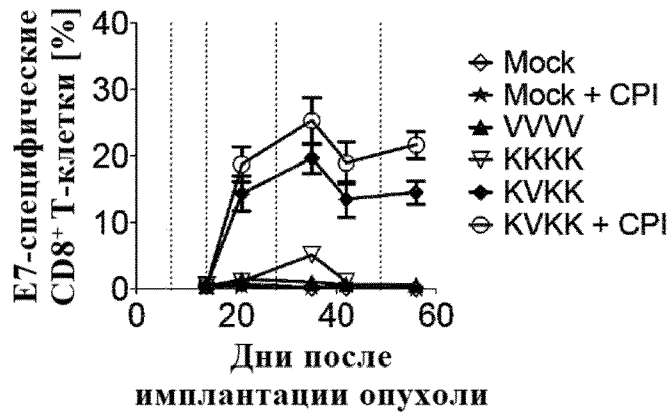
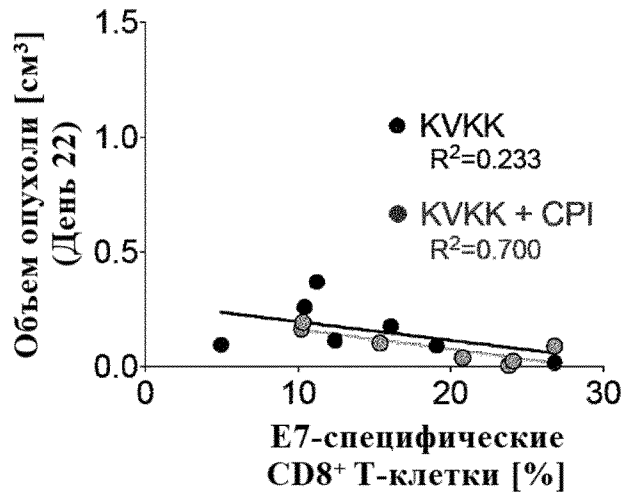
В**Выживание****С**

Фиг. 8 (продолжение)

A



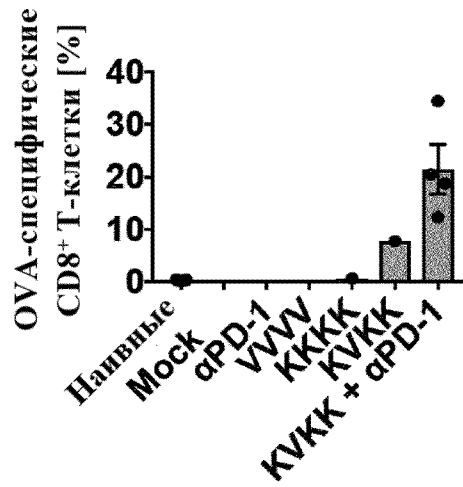
Фиг. 9

B**C****D**

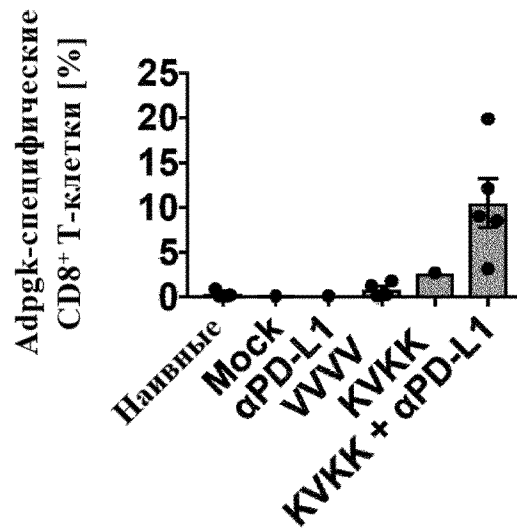
Фиг. 9 (продолжение)

A

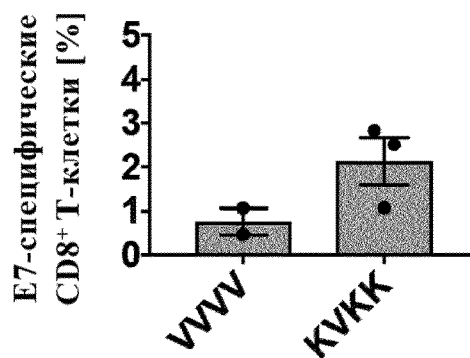
Eg-7 ремиссия День 89

**B**

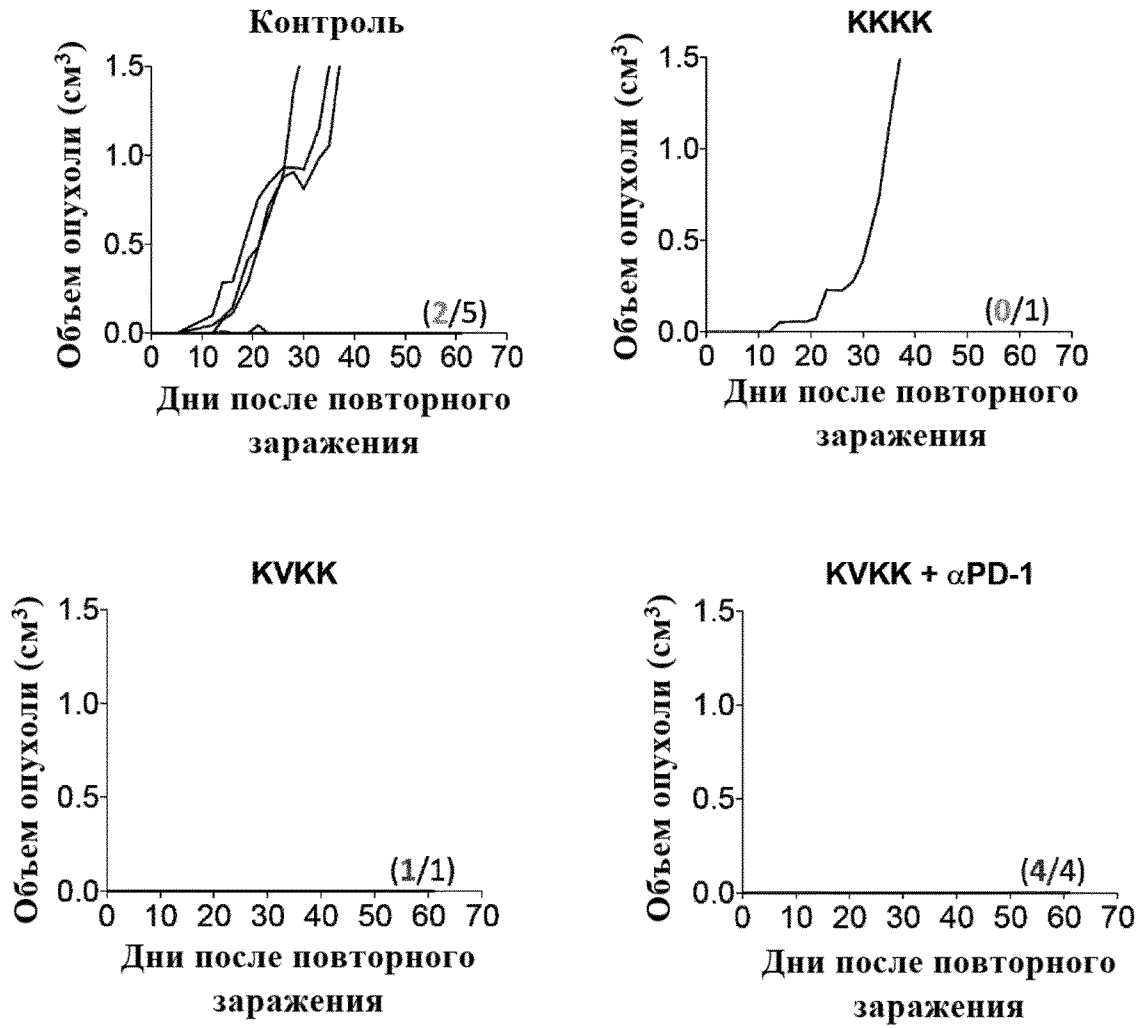
MC-38 ремиссия День 76

**C**

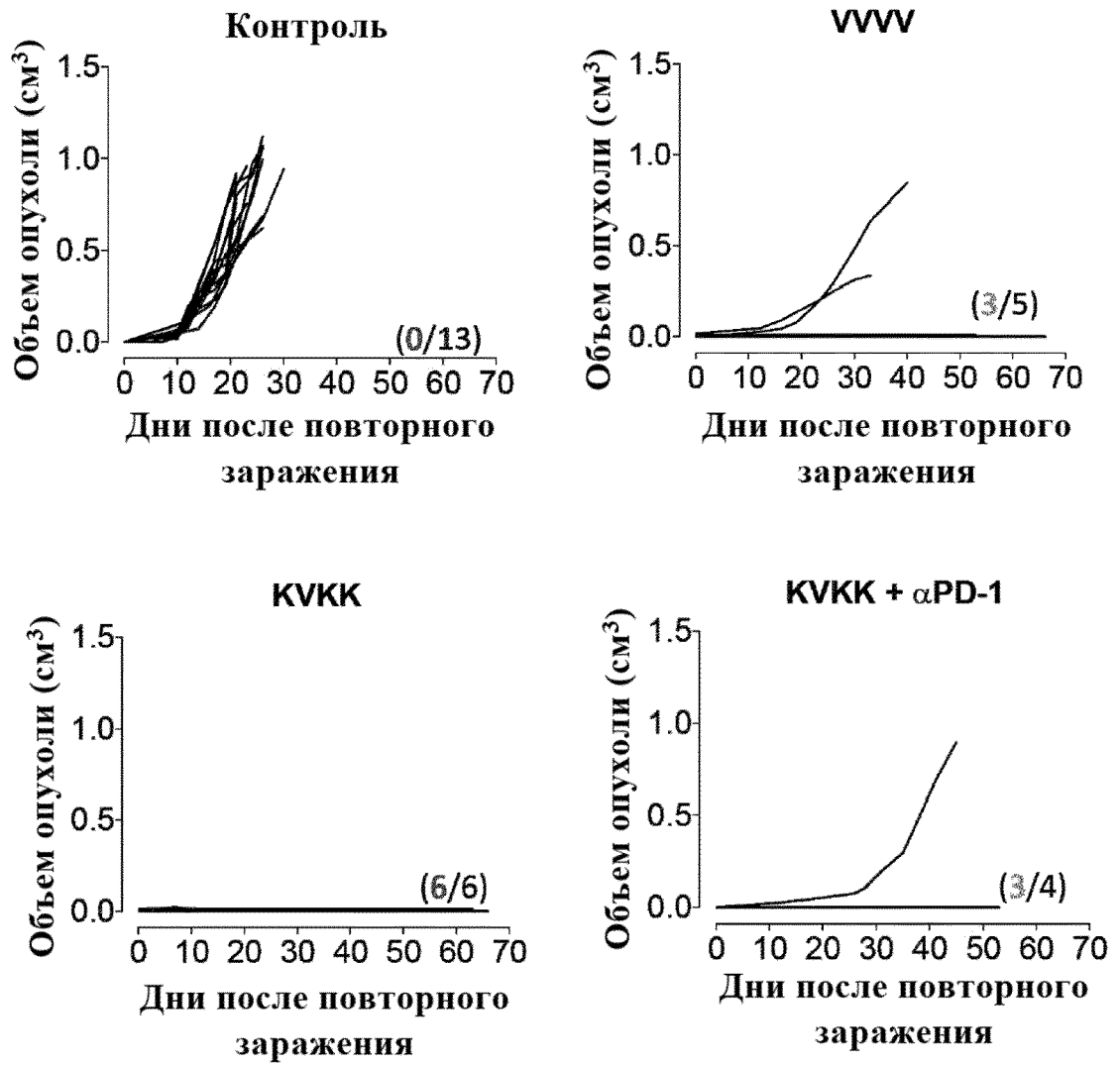
TC-1 ремиссия День 84



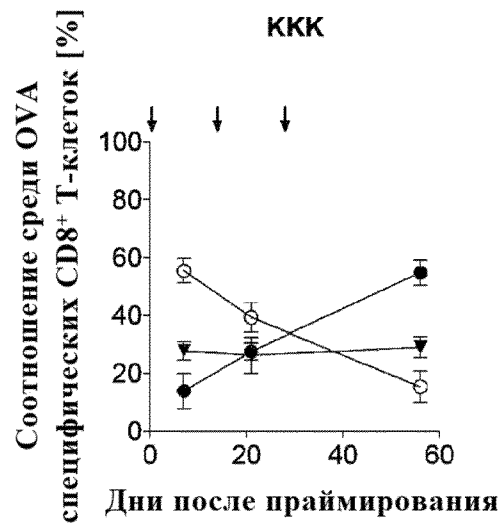
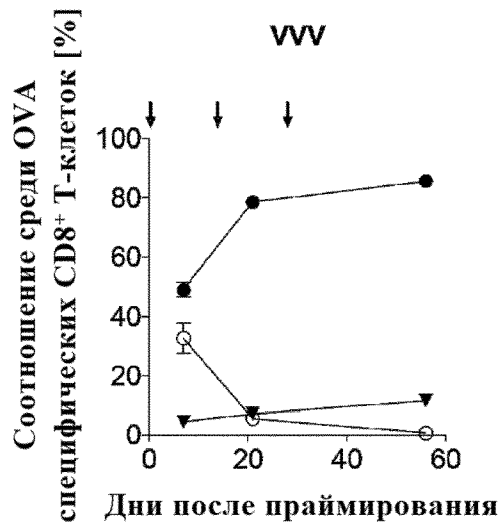
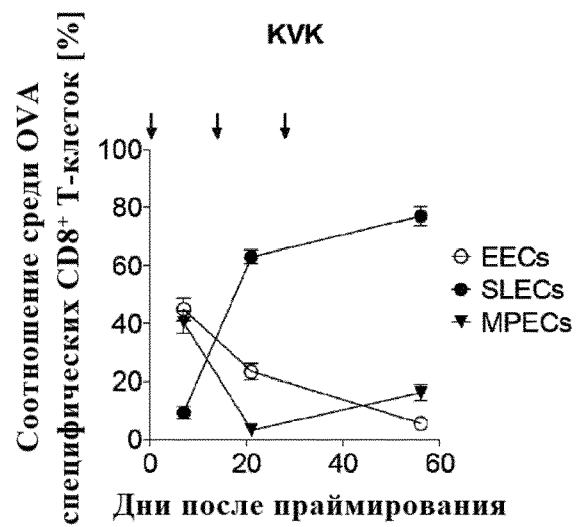
Фиг. 10

A

Фиг. 11

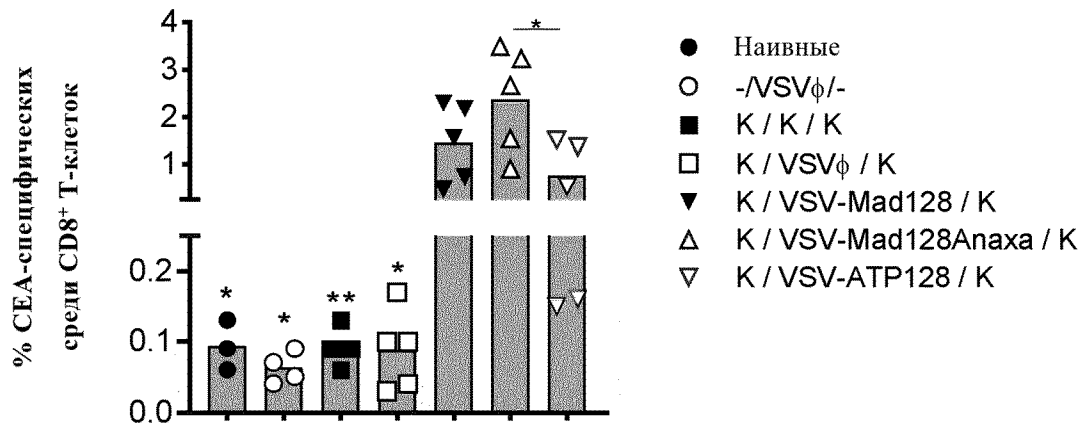
B

Фиг. 11 (продолжение)

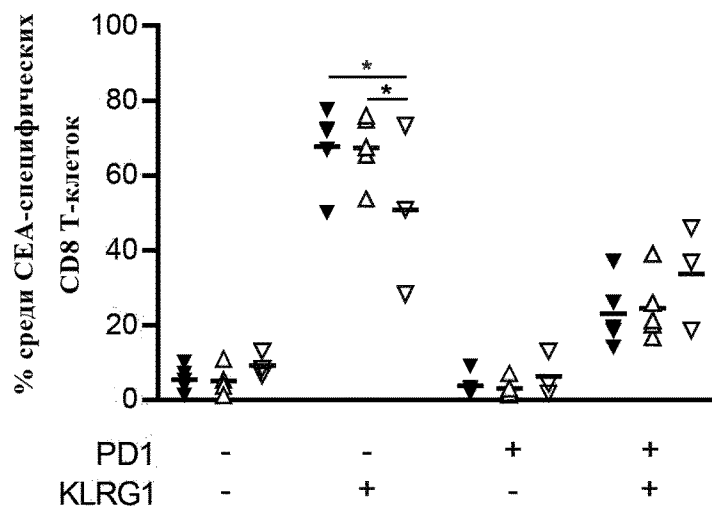
A**В****С**

Фиг. 12

A

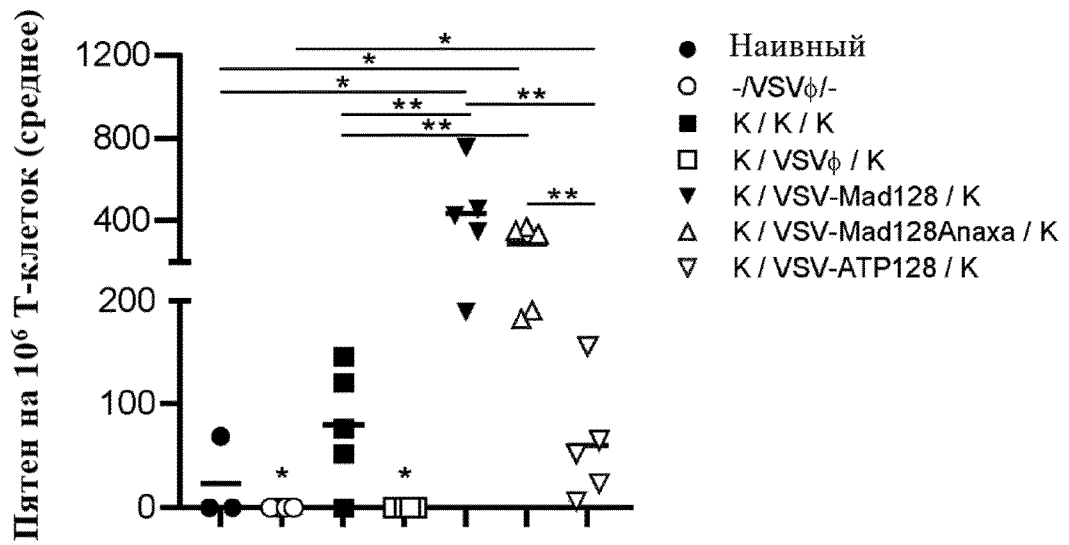


B

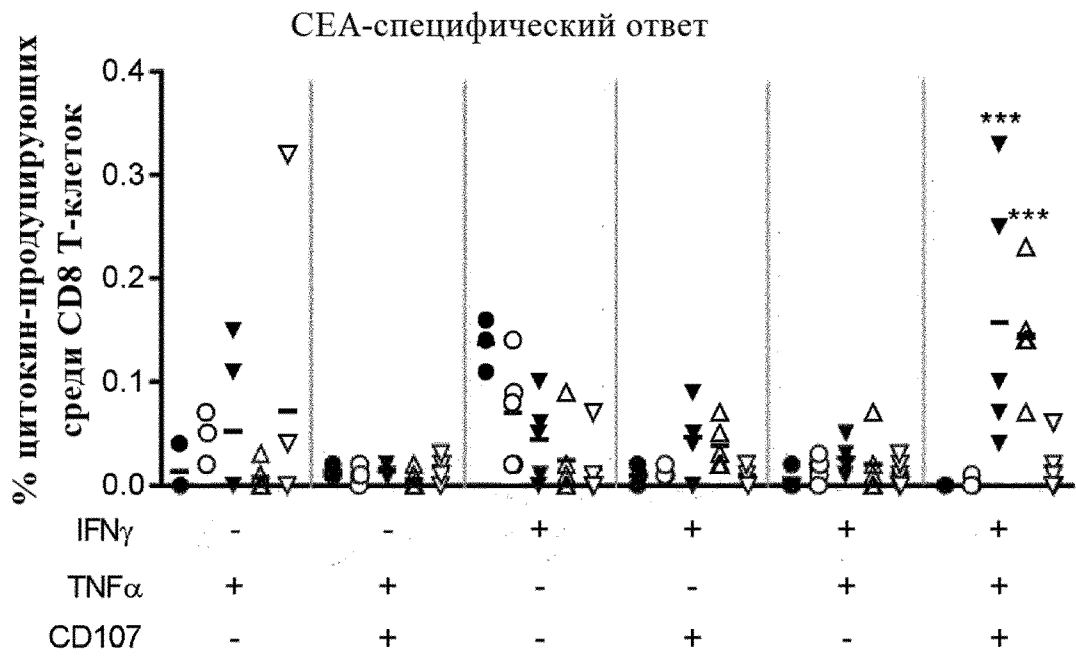


Фиг. 13

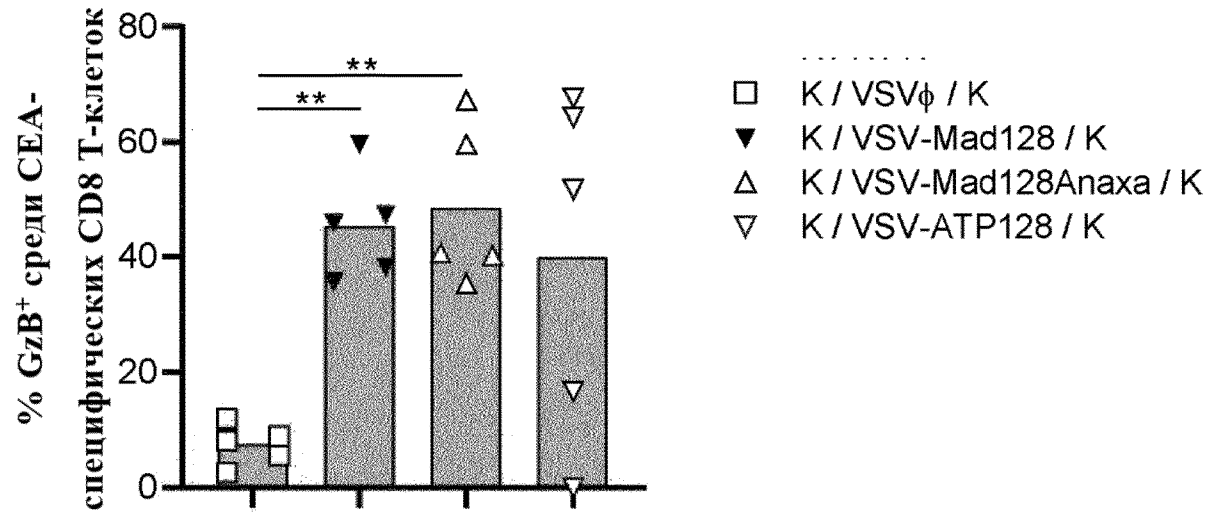
A



B

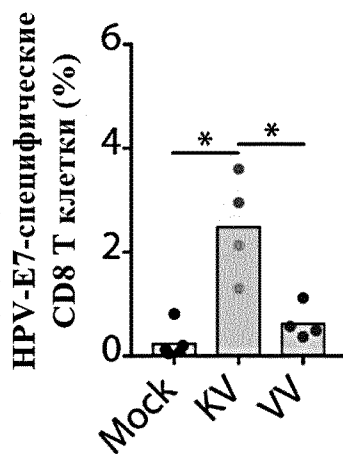


Фиг. 14

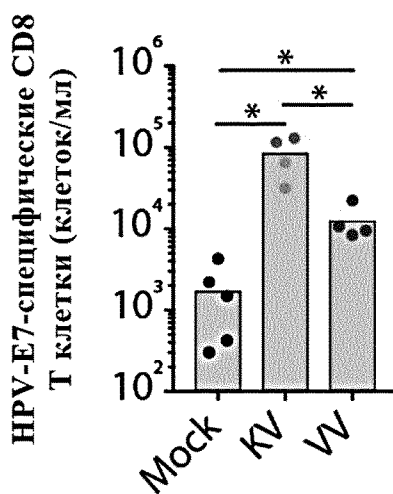


Фиг. 15

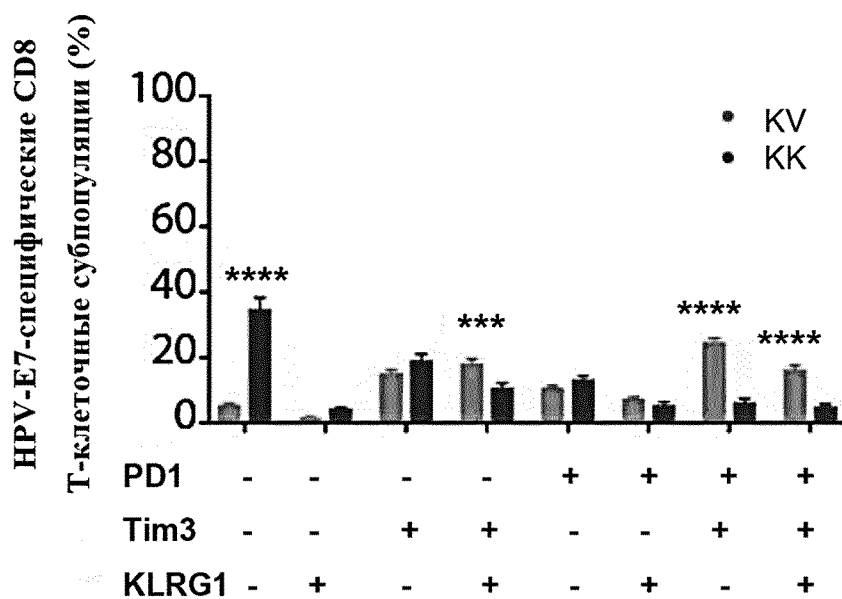
A



B

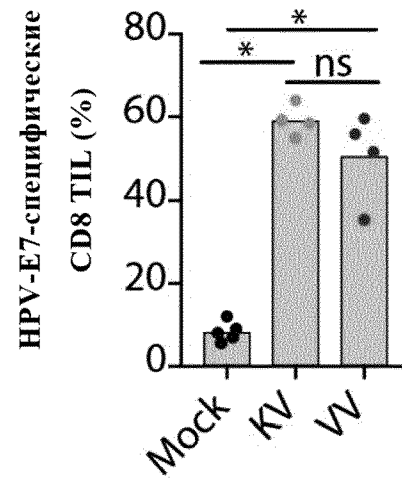


C

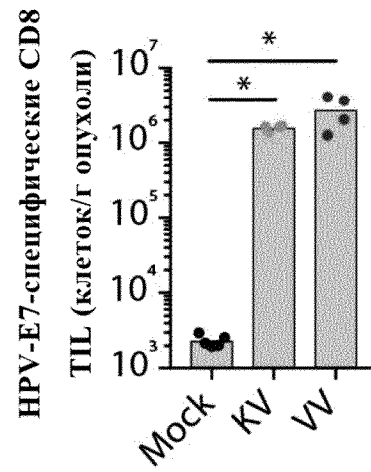


Фиг. 16

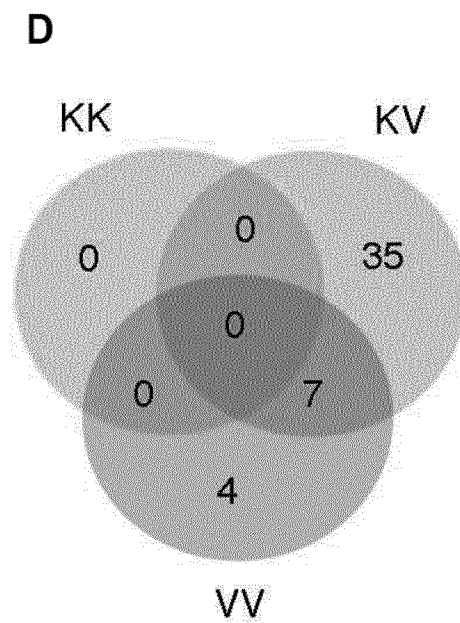
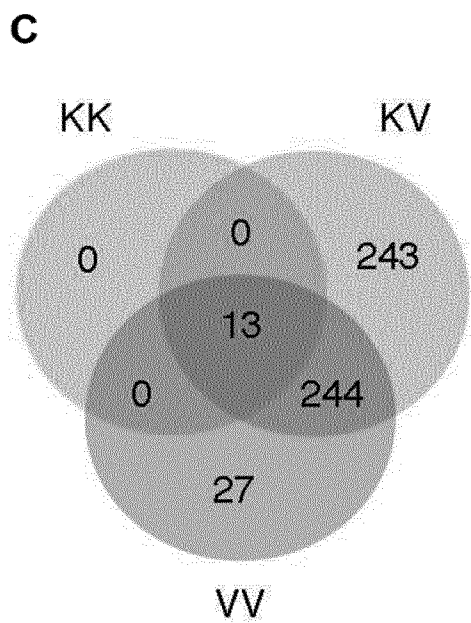
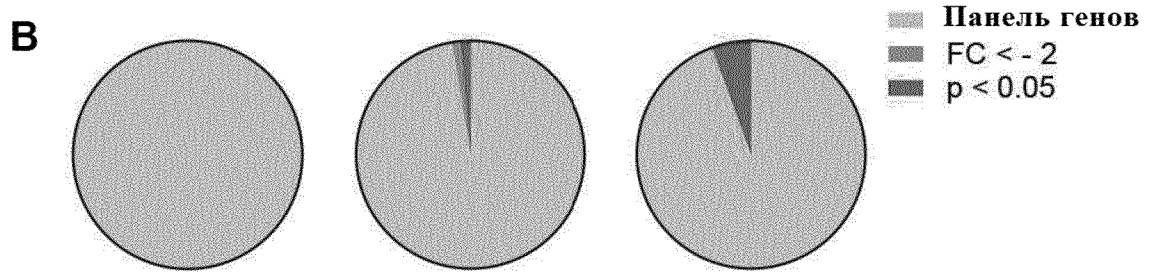
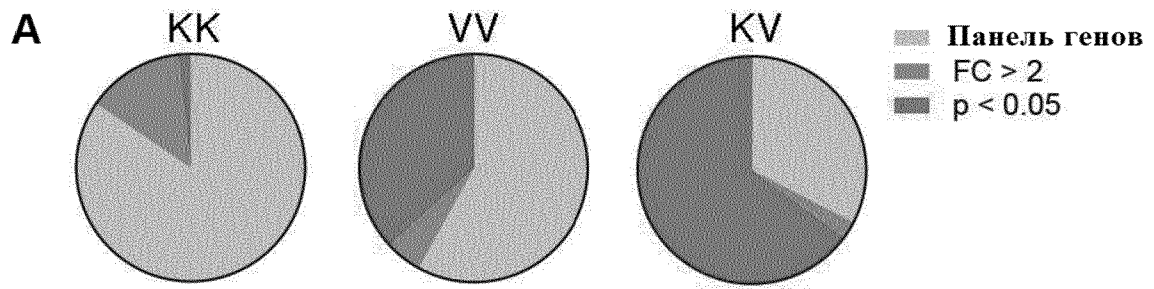
A



B

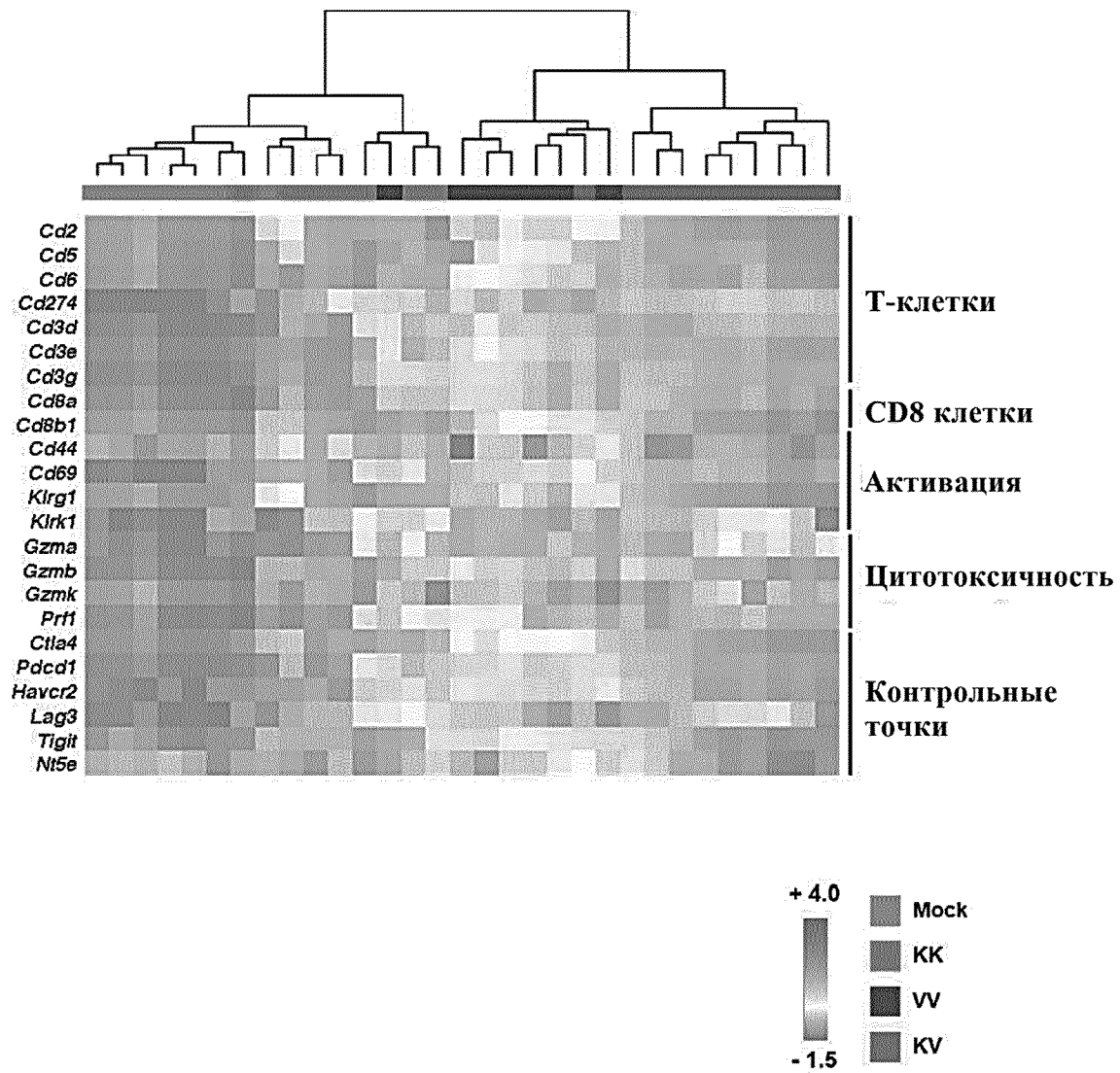


Фиг. 17



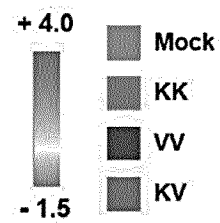
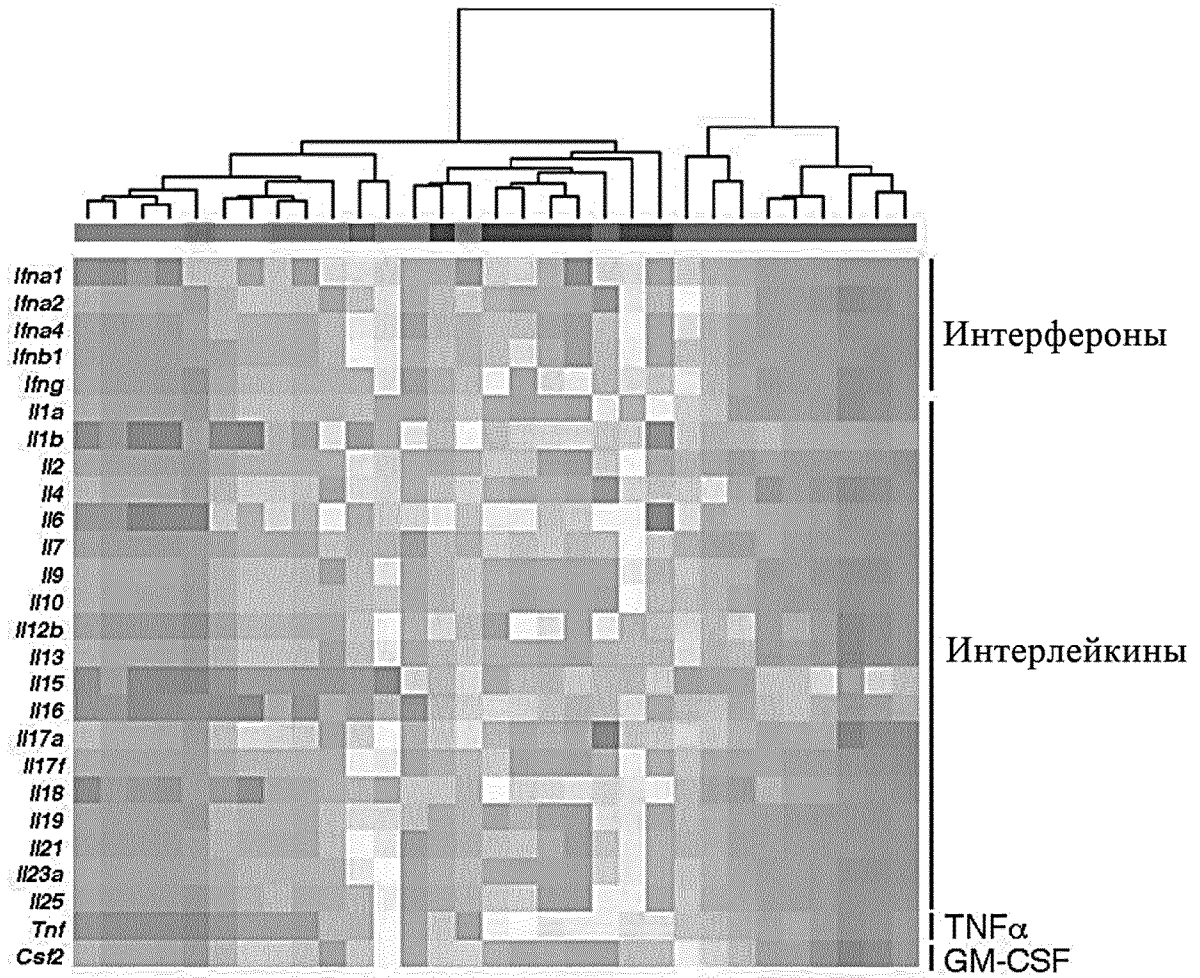
Фиг. 18

E



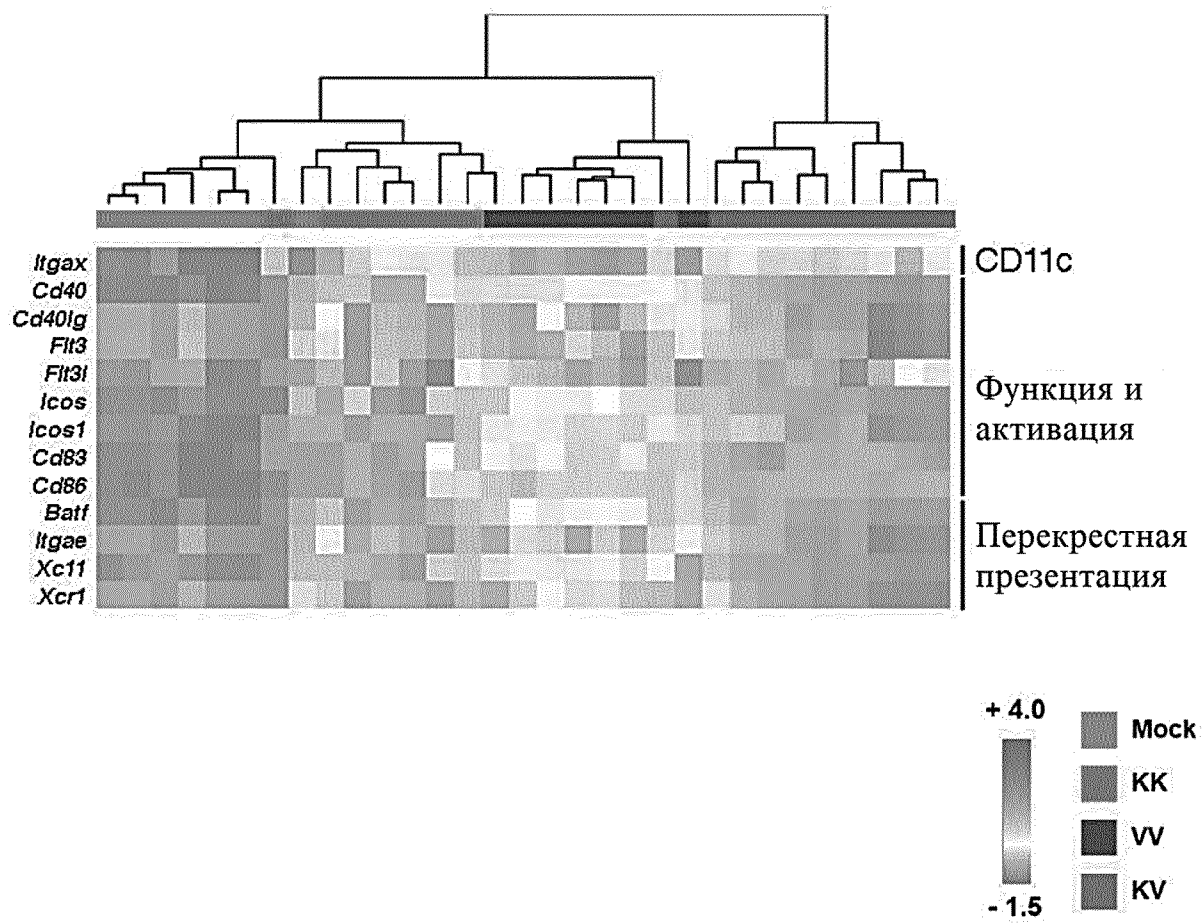
Фиг. 18 продолжение

F



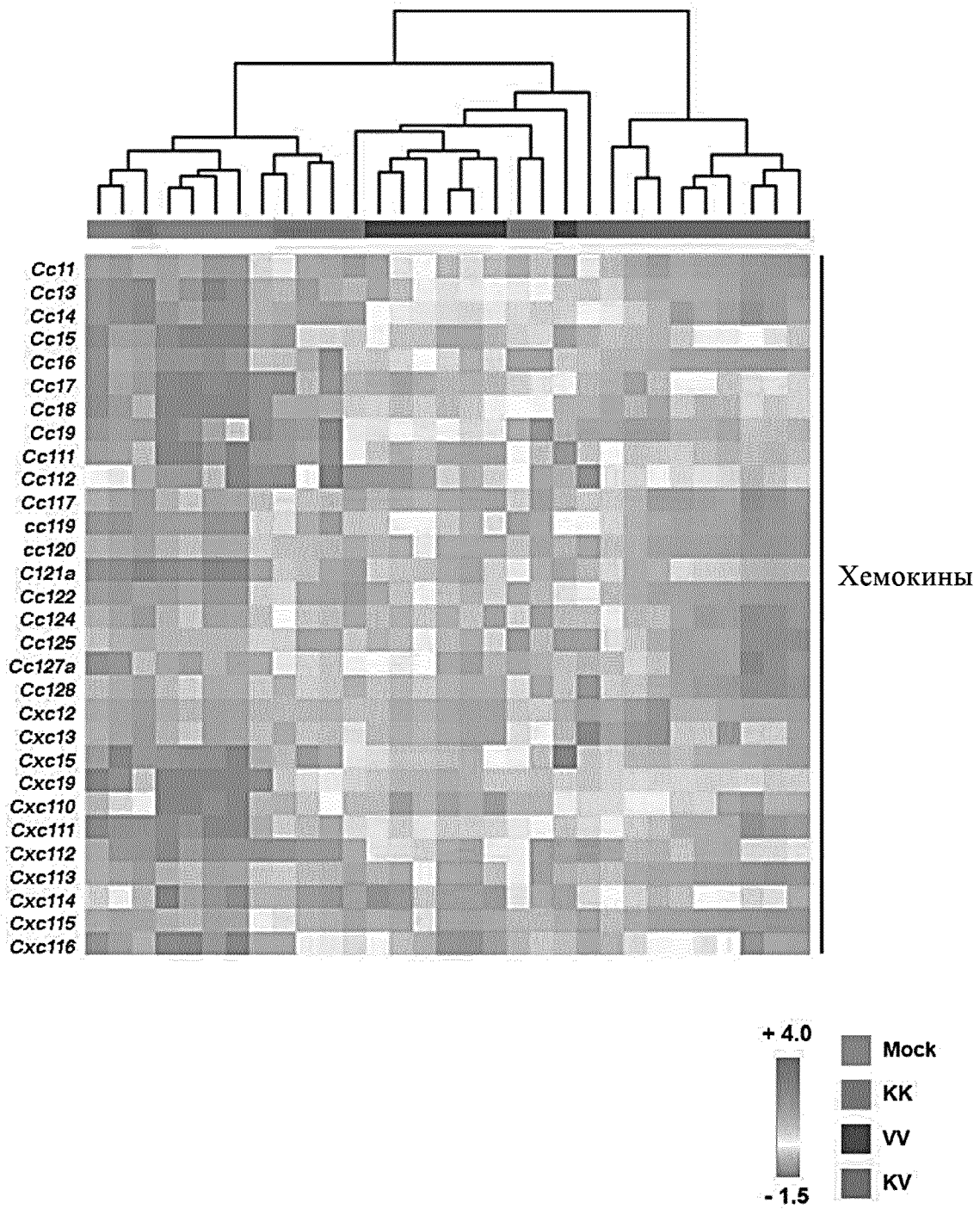
Фиг. 18 продолжение

G

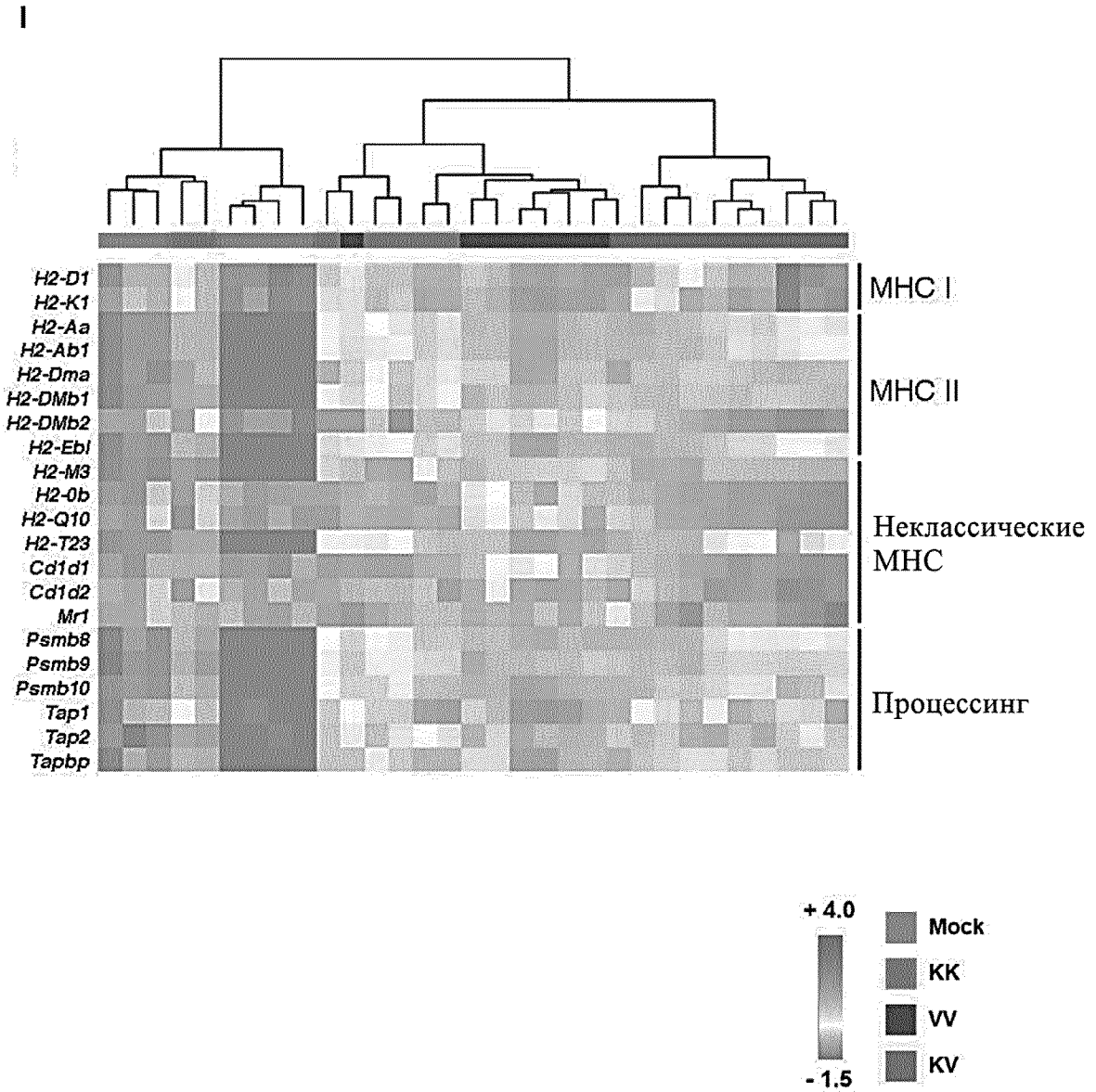


Фиг. 18 продолжение

H



Фиг. 18 продолжение



Фиг. 18 продолжение

Гены с уникальной ап-регуляцией после вакцинации KV					
Ген	Кратность изменения	Ген	Кратность изменения	Ген	Кратность изменения
<i>Cd36</i>	57.35	<i>Timd4</i>	23.26	<i>Cr2</i>	11.74
<i>Ifna1</i>	55.69	<i>Il5ra</i>	22.94	<i>Lyve1</i>	11.47
<i>Il21</i>	50.03	<i>Cxcl2</i>	22.63	<i>Il13</i>	11.45
<i>Cxcl1</i>	49.91	<i>Cxcr2</i>	22.48	<i>Tnfrsf4</i>	11.38
<i>Gbp2b</i>	47.13	<i>C8a</i>	21.92	<i>Itgb3</i>	11.31
<i>Lamp3</i>	46.09	<i>Klra1</i>	21.81	<i>Cd5</i>	11.15
<i>Il25</i>	43.57	<i>Cd59b</i>	21.47	<i>A2m</i>	11.14
<i>Klra7</i>	42.96	<i>Cd96</i>	21.32	<i>Lcn2</i>	11.04
<i>Ccl22</i>	42.69	<i>Ifna4</i>	21.22	<i>Epcam</i>	11.03
<i>Fcer1a</i>	42.53	<i>Ccl20</i>	20.98	<i>Ifng</i>	10.96
<i>C8b</i>	42.13	<i>Lta</i>	20.67	<i>Tnfrsf13c</i>	10.93
<i>Defb1</i>	42.11	<i>Mbl2</i>	20.62	<i>Gata3</i>	10.78
<i>H2-Ob</i>	41.66	<i>Tnfsf15</i>	20.61	<i>Cd1d2</i>	10.63
<i>Il19</i>	41.36	<i>Irf4</i>	20.49	<i>C7</i>	10.6
<i>Klra3</i>	39.83	<i>C6</i>	19.88	<i>S100b</i>	10.53
<i>C9</i>	38.99	<i>Ccr9</i>	19.14	<i>Itgae</i>	10.47
<i>Il2</i>	38.71	<i>Ccr3</i>	17.82	<i>Ifna2</i>	10.38
<i>CD209e</i>	37.28	<i>Ticam2</i>	17.07	<i>Raet1</i>	10.37
<i>Chil3</i>	37.24	<i>Arg2</i>	16.66	<i>Il22ra1</i>	10.3
<i>Tdo2</i>	35.57	<i>Xcr1</i>	16.57	<i>Cxcr1</i>	10.21
<i>Eomes</i>	35.02	<i>Elk1</i>	16.32	<i>Trem2</i>	10.12
<i>Cxcl5</i>	34.91	<i>Il9</i>	16.23	<i>Cd40lg</i>	9.68
<i>Prg2</i>	34.6	<i>Rorc</i>	15.55	<i>Il6</i>	9.22
<i>Pin1</i>	33.94	<i>Tnfsf13</i>	15.43	<i>Ifnl2</i>	9.04
<i>Ifnb1</i>	32.6	<i>Nos2</i>	14.59	<i>Trem1</i>	8.96
<i>Klrb1c</i>	32.36	<i>Ccr6</i>	14.46	<i>Lif</i>	8.84
<i>Mnx1</i>	32.22	<i>Saa1</i>	13.86	<i>Ccr4</i>	8.79
<i>Ccl1</i>	32.09	<i>Aicda</i>	13.66	<i>Mpo</i>	8.61
<i>Slamf1</i>	31.17	<i>Cd1d1</i>	13.63	<i>Adora2a</i>	8.47
<i>Tal1</i>	30.87	<i>Klra6</i>	13.62	<i>Cd207</i>	8.46
<i>Ifi44l</i>	30.47	<i>Sele</i>	13.6	<i>Fcer2a</i>	8.37
<i>Il17f</i>	29.85	<i>Cxcl13</i>	13.58	<i>Hras</i>	8.37
<i>Crp</i>	28.82	<i>Tnfrsf17</i>	13.44	<i>Ctsq</i>	8.09
<i>Tnfsf18</i>	28.67	<i>Ambp</i>	13.04	<i>Tnfrsf13b</i>	8
<i>Ppbp</i>	28.13	<i>Tnfsf8</i>	12.99	<i>Ccl17</i>	7.77
<i>Il23r</i>	27.74	<i>St6gal1</i>	12.86	<i>Serpib2</i>	7.73
<i>Klrg1</i>	26.13	<i>Cfi</i>	12.51	<i>Cdh1</i>	7.64
<i>Mme</i>	26.12	<i>Ms4a1</i>	12.45	<i>Masp2</i>	7.64
<i>H2-Q10</i>	26.01	<i>Ltf</i>	12.42	<i>Mst1r</i>	7.63
<i>Il23a</i>	25.97	<i>Hamp</i>	12.31	<i>Smpd3</i>	7.55
<i>Igll1</i>	25.87	<i>Il1rapl2</i>	12.22	<i>Slc7a11</i>	7.39
<i>Pou2af1</i>	25.38	<i>Il17rb</i>	12.19	<i>Blk</i>	7.38

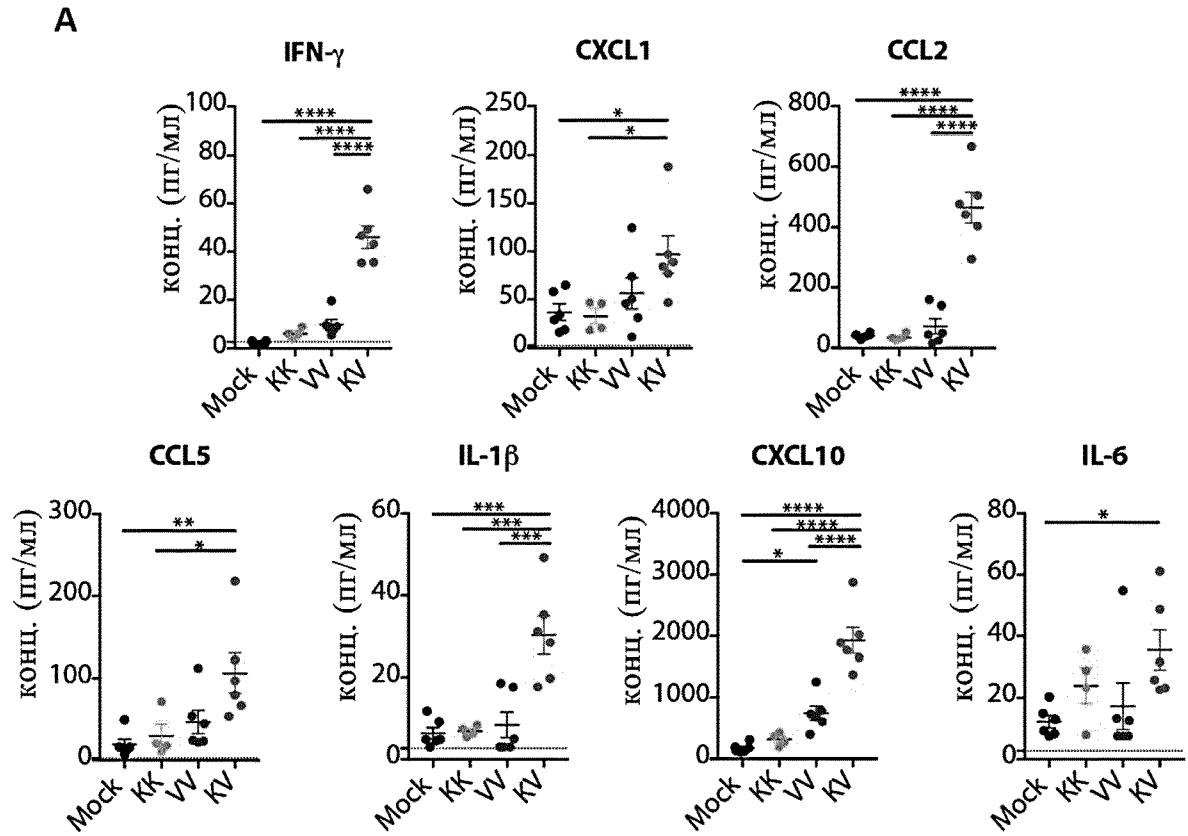
Фиг. 19

<i>Cd22</i>	25.25	<i>Pax5</i>	12.15	<i>Cd79a</i>	7.33
<i>Cd160</i>	25.08	<i>Il10</i>	12.07	<i>Ccl28</i>	7.27
<i>Cd8b1</i>	25	<i>Il1a</i>	12.02	<i>Ccr1</i>	7.19
<i>Ido1</i>	24.85	<i>Cdk1</i>	12.01	<i>Il12b</i>	7.05
<i>Cxcl15</i>	24.5	<i>Pmch</i>	11.91	<i>Ceacam1</i>	7.02
<i>Tnfsf4</i>	24.14	<i>Cd163</i>	11.8	<i>Il4</i>	7.01

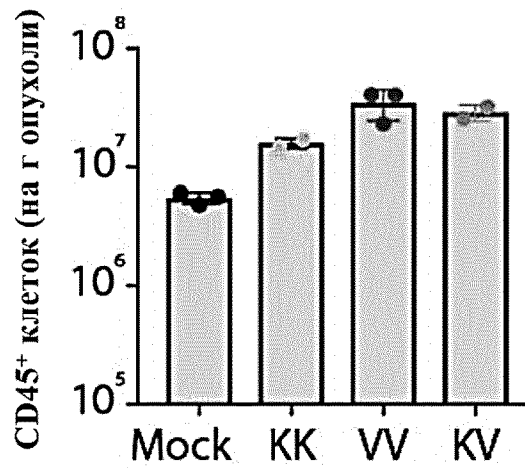
Гены с уникальной ап-регуляцией после вакцинации KV (продолж.)

Ген	Кратность изменения	Ген	Кратность изменения	Ген	Кратность изменения
<i>Cd33</i>	6.96	<i>Gfi1</i>	4.62	<i>Ly96</i>	2.75
<i>Cxcl3</i>	6.93	<i>Bmi1</i>	4.6	<i>Prkcd</i>	2.71
<i>C5ar1</i>	6.87	<i>Arg1</i>	4.55	<i>Fcgr2b</i>	2.64
<i>Tpsab1</i>	6.86	<i>Tnfaip3</i>	4.5	<i>Il17ra</i>	2.58
<i>Csf2</i>	6.8	<i>Il17a</i>	4.43	<i>Tank</i>	2.58
<i>Klrb1</i>	6.73	<i>Tnfrsf11b</i>	4.15	<i>Itch</i>	2.57
<i>Osm</i>	6.57	<i>Kit</i>	4.1	<i>Mertk</i>	2.55
<i>Ltk</i>	6.53	<i>Atg5</i>	3.99	<i>Tbk1</i>	2.55
<i>Ccl24</i>	6.42	<i>Tbx21</i>	3.91	<i>Ifnar2</i>	2.54
<i>Pnma1</i>	6.19	<i>Mef2c</i>	3.9	<i>Creb5</i>	2.52
<i>F13a1</i>	6.05	<i>Tlr4</i>	3.89	<i>Tnfsf12</i>	2.51
<i>Flt3</i>	6.05	<i>Cd3eap</i>	3.81	<i>Tirap</i>	2.5
<i>Cd68</i>	6	<i>Nt5e</i>	3.7	<i>Irf2</i>	2.45
<i>Chit1</i>	5.96	<i>Vwf</i>	3.7	<i>Prkce</i>	2.43
<i>Mrc1</i>	5.96	<i>Ticam1</i>	3.64	<i>Smad3</i>	2.42
<i>Csf3</i>	5.88	<i>Creb1</i>	3.55	<i>Ifnar1</i>	2.38
<i>Fadd</i>	5.88	<i>Angpt2</i>	3.51	<i>Cd14</i>	2.35
<i>Angpt1</i>	5.85	<i>Card9</i>	3.5	<i>Bcl2</i>	2.33
<i>Gpr44</i>	5.85	<i>Ripk2</i>	3.42	<i>Hsd11b1</i>	2.33
<i>Itga2b</i>	5.77	<i>Ccnd3</i>	3.32	<i>Mcam</i>	2.31
<i>Ccl25</i>	5.58	<i>Irak4</i>	3.15	<i>Tnfrsf10b</i>	2.26
<i>F12</i>	5.52	<i>Traf3</i>	3.09	<i>Stat6</i>	2.23
<i>Rag1</i>	5.23	<i>Ythdf2</i>	3.04	<i>Itga2</i>	2.22
<i>Cxcr5</i>	5.22	<i>Atg12</i>	3.01	<i>Casp8</i>	2.21
<i>Icam4</i>	5.16	<i>Ikbkg</i>	2.99	<i>Il6ra</i>	2.21
<i>Tlr5</i>	5.1	<i>Fut7</i>	2.97	<i>Cd276</i>	2.16
<i>Mr1</i>	5.08	<i>Abca1</i>	2.95	<i>Trp53</i>	2.15
<i>Bid</i>	4.89	<i>Ikbkb</i>	2.89	<i>Tubb5</i>	2.14
<i>Ccl27a</i>	4.81	<i>Irak2</i>	2.87	<i>Ep300</i>	2.12
<i>Atm</i>	4.78	<i>Mavs</i>	2.87	<i>Jak2</i>	2.1
<i>Cd44</i>	4.76	<i>Rel</i>	2.85	<i>Plaur</i>	2.09
<i>Rps6</i>	4.69	<i>Il12rb1</i>	2.81	<i>ErbB2</i>	2.05
<i>Atg10</i>	4.62	<i>Dll4</i>	2.76	<i>Cdh5</i>	2.02

Фиг. 19 (продолжение)

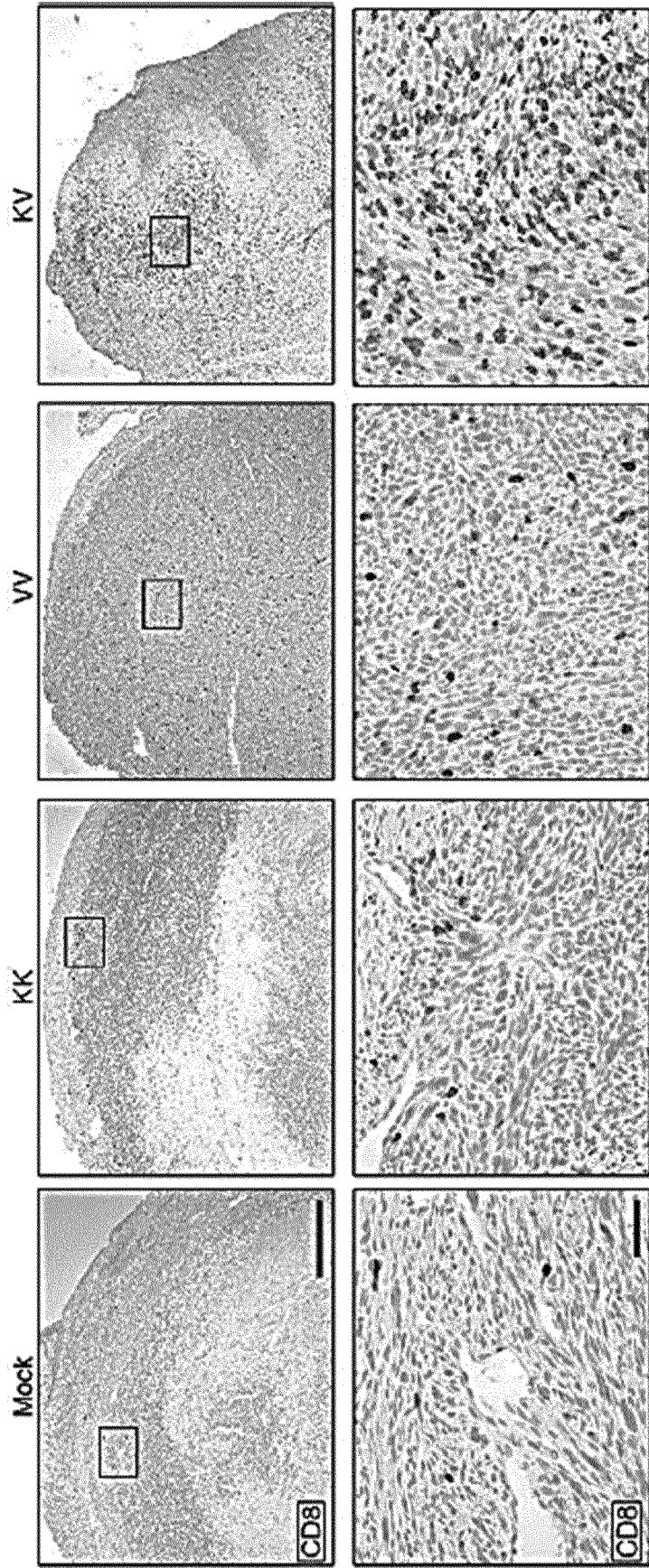


B

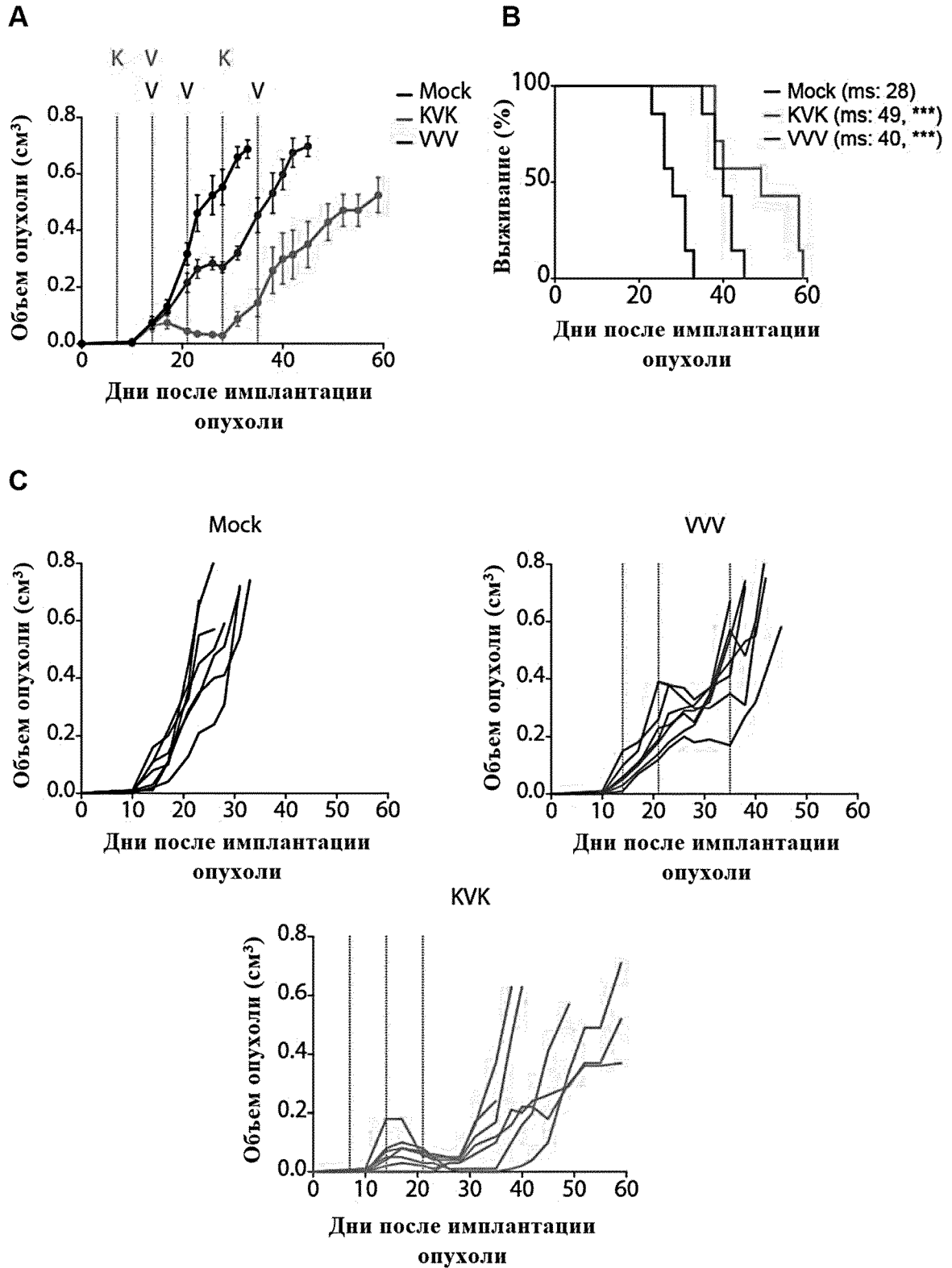


Фиг. 20

C



Фиг. 20 (продолжение)



Фиг. 21