

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202393068 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.12.25

(22) Дата подачи заявки
2022.04.28

(51) Int. Cl. *A61K 35/768* (2015.01)
C07K 14/715 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C12N 7/00 (2006.01)

(54) ОНКОЛИТИЧЕСКИЕ ВИРУСЫ ДЛЯ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ЭКСПРЕССИИ МНС

(31) 63/182,243

(32) 2021.04.30

(33) US

(86) PCT/US2022/026703

(87) WO 2022/232375 2022.11.03

(71) Заявитель:

КАЛИВИР

ИММЬЮНОТЕРАПЬЮТИКС, ИНК.

(US)

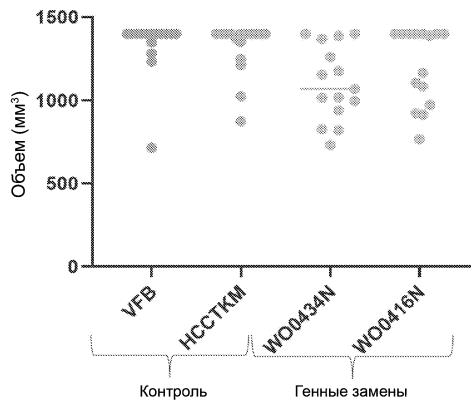
(72) Изобретатель:

Торн Стивен Говард, Чжан Минжуй
(US)

(74) Представитель:

Фелицына С.Б. (RU)

(57) В настоящем изобретении предлагается рекомбинантный онколитический вирус с делециями или вставками генов, которые приводят к отрицательной регуляции главного комплекса гистосовместимости класса I и, альтернативно или дополнительно, к положительной регуляции главного комплекса гистосовместимости класса II. Также представлены иммунологические и фармацевтические композиции, содержащие эти рекомбинантные вирусы, и способы применения этих композиций.



A1

202393068

202393068

A1

ОНКОЛИТИЧЕСКИЕ ВИРУСЫ ДЛЯ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ЭКСПРЕССИИ МНС

Перекрестные ссылки

[0001] Это заявка заявляет приоритет Предварительной заявки США № 63/182243, поданной 30 апреля 2021 г., которая полностью включена в настоящую заявку ссылкой.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0002] Онкологические заболевания являются второй по значимости причиной смертности в Соединенных Штатах. Задачи коммерчески доступных методов лечения, которые предстоит решить, связаны с селективным воздействием на клетки злокачественной опухоли, локализованной экспрессией генов, а также достижением и модификацией микроокружения опухоли (tumor microenvironment, TME). Таким образом, сохраняется потребность в улучшенных композициях и способах применения для решения этих проблем.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ

[0003] В настоящей заявке предлагаются композиции, где композиция включает: онколитический вирус, причем онколитический вирус содержит модификацию генома, причем модификация генома включает экзогенную нуклеиновую кислоту, кодирующую ингибитор МНС I. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, в которых модификация генома дополнительно включает: делецию или функциональную делецию эндогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС II; или экзогенную нуклеиновую кислоту, которая приводит к активации или усиленной активации презентации МНС II. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, в которых модификация генома дополнительно включает: делецию или функциональную делецию эндогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС II; и экзогенную нуклеиновую кислоту, которая приводит к активации или усиленной активации презентации МНС II. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, в которых делеция или функциональная делеция эндогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС II, включает делецию или функциональную делецию гена вируса осповакцины, кодирующего белок А35. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых делеция или функциональная делеция гена вируса осповакцины, кодирующего белок А35, представляет собой делецию или функциональную делецию гена WR158. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, в которых экзогенная нуклеиновая кислота, которая приводит к активации или усиленной активации презентации МНС II, кодирует белок, выбранный из: белка-

ингибитора апоптоза; белка-активатора некротической гибели клеток; белка-усилителя аутофагии; аспарагинилэндопептидазы; трансаактиватора класса II; интерферона-гамма; активатора Toll-подобного рецептора; или активатора созревания дендритных клеток. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, в которых экзогенная нуклеиновая кислота кодирует белок-усилитель аутофагии, и где белок-усилитель аутофагии представляет собой HMGB1 или его функциональный домен или его вариант. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых экзогенная нуклеиновая кислота кодирует активатор созревания дендритных клеток, причем активатор созревания дендритных клеток включает остеопонтин, TNF-альфа или его функциональный фрагмент или вариант. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых белок, кодируемый экзогенной нуклеиновой кислотой, объединен с последовательностью секреции, доменом клеточной пермеабилитации, или их комбинацией. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых онколитический вирус представляет собой поксвирус, аденоассоциированный вирус, аденовирус, вирус болезни Ньюкасла (NDV), реовирус (RV), менговирус, вирус миксомы (MYXV), вирус кори (MV), вирус простого герпеса (HSV), вирус осповакцины (VV), вирус везикулярного стоматита (VSV) и вирус полиомиелита (PV). Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых поксвирус включает Betaantomorphovirus, Yatapoxvirus, Cervidpoxvirus, Gammaantomorphovirus, Leporipoxvirus, Suipoxvirus, Molluscipoxvirus, Crocodylidpoxvirus, Alphaantomorphovirus, Capripoxvirus, Avipoxvirus или Parapoxvirus. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых поксвирус представляет собой вирус осповакцины. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых ингибитор МНС I вызывает ингибирование или частичное ингибирование презентации МНС I. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, в которых экзогенная нуклеиновая кислота, кодирующая ингибитор МНС I, содержит ген, кодирующий один или несколько белков вируса коровьей оспы. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых экзогенная нуклеиновая кислота, кодирующая ингибитор МНС I, содержит ген, кодирующий белок коровьей оспы CPXV012, или его функциональный фрагмент или вариант. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых экзогенная нуклеиновая кислота, кодирующая ингибитор МНС I, содержит ген, кодирующий белок коровьей оспы CPXV203, или его функциональный фрагмент или вариант. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, в которых вставка экзогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС I, включает ген, кодирующий по меньшей мере один из числа: белка ядерного антигена 1, кодируемого вирусом Эпштейна-Барр; белка ICP47, кодируемого вирусом

простого герпеса; белка UL49.5, кодируемого вирусом простого герпеса; белков US6, US2, US3 или US11, кодируемого цитомегаловирусом человека (HCMV); белка BNLF2a, кодируемого вируса Эпштейна-Барр; белка E3-19K, кодируемого аденовирусом; белка Nef, кодируемого вирусом иммунодефицита человека или вирусом иммунодефицита обезьян; белка kK3, vIRF3 или kK5, кодируемого герпесвирусом, ассоциированным с саркомой Капоши; или доминантно-негативной формы IRF7 или IRF3. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых ингибитор МНС I включает ингибитор TAP. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых ингибитор TAP действует полностью или преимущественно внутри инфицированных клеток. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, в которых модификация генома снижает иммунный ответ, направленный на инфицированную вирусом опухолевую клетку, и увеличивает иммунный ответ, нацеленный на клетки, окружающие инфицированную вирусом опухолевую клетку. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, дополнительно включающие делецию гена тимидинкиназы. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, дополнительно содержащие экзогенную нуклеиновую кислоту, кодирующую гиалуронидазу. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых гиалуронидаза представляет собой PH-20 или HysA. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых онколитический вирус представляет собой вирус осповакцины, а вирус осповакцины представляет собой штамм вируса осповакцины Western Reserve (ATCC VR-1354), штамм Copenhagen, штамм IND, штамм Wyeth (ATCC VR-325), штамм NYCBOH, штамм Tian Tan, штамм Lister, штамм Ankara (ATCC VR-1508 или ATTC VR1566), штамм USSR или штамм ACAM2000.

[0004] В настоящей заявке предлагаются композиции, где композиция содержит онколитический вирус, причем онколитический вирус содержит модификацию генома; при этом модификация генома включает делецию или функциональную делецию гена вируса осповакцины, кодирующего белок A35, и вставку экзогенного гена, кодирующего белок коровьей оспы CPXV012 или белок коровьей оспы CPXV203. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых онколитический вирус представляет собой поксвирус, аденоассоциированный вирус, аденовирус, вирус болезни Ньюкасла (NDV), реовирус (RV), менговирус, вирус миксомы (MYXV), вирус кори (MV), вирус простого герпеса (HSV), вирус осповакцины (VV), вирус везикулярного стоматита (VSV) и вирус полиомиелита (PV). Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых поксвирус включает Betaentomopoxvirus, Yatapoxvirus, Cervidpoxvirus, Gammaentomopoxvirus, Leporipoxvirus, Suipoxvirus, Molluscipoxvirus, Crocodylidpoxvirus, Alphaentomopoxvirus, Capripoxvirus, Avipoxvirus или Parapoxvirus. Кроме того, в данной

заявке предлагаются композиции, в которых онколитический вирус представляет собой вирус осповакцины. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых экзогенный ген, кодирующий белок коровьей оспы CPXV012, находится в локусе гена, кодирующего белок A35 вируса осповакцины. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых экзогенный ген, кодирующий белок коровьей оспы CPXV203, находится в локусе гена, кодирующего белок A35 вируса осповакцины. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, в которых модификация генома дополнительно включает по меньшей мере одно из: экзогенную нуклеиновую кислоту, которая кодирует хемокинский рецептор или его функциональный домен или вариант; или экзогенную нуклеиновую кислоту, которая кодирует цитокин или его функциональный домен или вариант. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, содержащие экзогенную нуклеиновую кислоту, которая кодирует цитокин или его функциональный домен или вариант, где цитокин содержит по меньшей мере один из числа: интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-15/интерлейкина-15Ra. (IL15/IL15Ra), интерлейкина-7 (IL-7) или их функционального домена или варианта. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, в которых модификация генома включает вставку экзогенной нуклеиновой кислоты, которая кодирует гибридный белок, содержащий цитокин и белок-модулятор метаболизма. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, содержащие экзогенную нуклеиновую кислоту, которая кодирует хемокиновый рецептор или его функциональный домен или вариант, где хемокинский рецептор содержит по меньшей мере один из числа: CXCR4, CCR2 или их функциональные домены или варианты. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, в которых хемокиновый рецептор содержит CXCR4 или его функциональный домен, или его вариант. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, в которых хемокиновый рецептор содержит CCR2 или его функциональный домен или вариант, где CCR2 включает CCR2 дикого типа или мутированный CCR2. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, в которых экзогенная нуклеиновая кислота, которая кодирует рецептор хемокина или его функциональный домен, или его вариант, содержит последовательность, оптимизированную по кодам. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, в которых экзогенная нуклеиновая кислота, которая кодирует хемокиновый рецептор или его функциональный домен или вариант, содержит последовательность, не оптимизированную по кодам. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются композиции, в которых модификация генома включает мутацию или полную или частичную делецию вирусного гена, содержащего по меньшей мере один из числа: A52R, B15R, K7R, A46R, N1L, E3L, K1L,

M2L, C16, N2R, B8R, B18R или Vh1 вируса осповакцины или его функционального домена, или фрагмента, или варианта, или любых их комбинаций. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, дополнительно включающие делецию гена тимидинкиназы. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, дополнительно содержащие экзогенную нуклеиновую кислоту, кодирующую гиалуронидазу. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых гиалуронидаза представляет собой PH-20 или HysA. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых онколитический вирус представляет собой вирус осповакцины, а вирус осповакцины представляет собой штамм вируса осповакцины Western Reserve (ATCC VR-1354), штамм Copenhagen, штамм IND, штамм Wyeth (ATCC VR-325), штамм NYCBOH, штамм Tian Tan, штамм Lister, штамм Ankara (ATCC VR-1508 или ATCC VR1566), штамм USSR или штамм ACAM2000.

[0005] В настоящей заявке предлагаются фармацевтические композиции, содержащие композицию согласно описанию в настоящей заявке и фармацевтически приемлемый эксципиент. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются фармацевтические композиции, в которых эксципиент содержит один или несколько из числа буферного агента, стабилизатора, антиоксиданта, связующего вещества, разбавителя, диспергатора, агента, регулирующего скорость, смазочного вещества, скользящего вещества, разрыхлителя, пластификатора, консерванта или любых их комбинаций. Кроме того, в данной заявке предлагаются фармацевтические композиции, где эксципиент включает дигидрат гидрофосфата натрия, дигидрат дигидрофосфата натрия, хлорид натрия, мио-инозитола, сорбитола или любых их комбинаций. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются фармацевтические композиции, где фармацевтическая композиция не содержит консервант. Кроме того, в данной заявке предлагаются фармацевтические композиции, дополнительно содержащие один или несколько из числа консерванта, разбавителя и носителя. Кроме того, в данной заявке предлагаются фармацевтические композиции, дополнительно содержащие дополнительный активный ингредиент или его соль. Кроме того, в данной заявке предлагаются фармацевтические композиции, в которых эксципиентом является стерильная вода. Кроме того, в данной заявке предлагаются фармацевтические композиции, дополнительно содержащие дополнительный активный ингредиент, причем дополнительный активный ингредиент представляет собой противоопухолевый агент или дополнительный онколитический вирус.

[0006] В настоящей заявке предлагаются способы снижения роста клетки злокачественной опухоли, причем способы включают введение в клетку злокачественной

опухоли: композиции или фармацевтической композиции, как описано в настоящей заявке.

[0007] В настоящей заявке предлагаются способы лечения злокачественной опухоли, причем способ включает: введение субъекту, страдающему онкологическим заболеванием, композиции или фармацевтической композиции, как описано в настоящей заявке. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, где введение включает внутриопухолевое введение, внутривенное введение, пероральное введение, внутривенное введение, интраназальное введение, сублингвальное введение, ректальное введение, чрескожное введение или любую их комбинацию. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, включающие введение дополнительной терапии, причем дополнительная терапия включает химиотерапию, лучевую терапию, онколитическую вирусную терапию с дополнительным вирусом, лечение иммуномодулирующими белками, клеточную терапию CAR T, противоопухолевый агент или любые их комбинации. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых дополнительная терапия включает введение иммуномодулирующего агента, содержащего анти-CD33 антитело и его вариабельную область, анти-CD11b антитело и его вариабельную область, ингибитор COX2, цитокин, хемокин, анти-CTLA4 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, анти-PD-L1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или агонист TLR.

[0008] В настоящей заявке предлагаются способы лечения, включающие введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции или фармацевтической композиции, как описано в настоящей заявке. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, где введение включает внутриопухолевое введение. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, где введение включает системное введение. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых системное введение включает по меньшей мере одно из: внутривенного введения, перорального введения, внутривенного введения, интраназального введения, сублингвального введения, ректального введения, чрескожного введения или любой их комбинации. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых субъект имеет злокачественную опухоль, и где злокачественная опухоль представляет собой по меньшей мере одну из числа: меланомы, гепатоцеллюлярной карциномы, рака молочной железы, рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, рака брюшины, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака яичников, лейкоза, лимфомы, почечно-клеточного рака, рака поджелудочной железы, эпителиальной карциномы, аденокарциномы желудка/перехода желудок-пищевод, рака шейки матки, рака толстой кишки, колоректального рака, рака

двенадцатиперстной кишки, аденокарциномы поджелудочной железы, адено-кистозной опухоли, саркомы, мезотелиомы, мультиформной глиобластомы, астроцитомы, множественной миеломы, карциномы предстательной железы, гепатоцеллюлярной карциномы, холангиокарциномы, аденокарциномы поджелудочной железы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, плоскоклеточной карциномы шейки матки, остеосаркомы, эпителиальной карциномы яичника, острой лимфобластной лимфомы, миелопролиферативного новообразования или любой их комбинации. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых композицию или фармацевтическую композицию вводят в дозе от около 10^6 БОЕ/мл до около 10^{10} БОЕ/мл онколитического вируса. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых композицию или фармацевтическую композицию вводят в дозе около 3×10^9 БОЕ/мл онколитического вируса. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых композицию или фармацевтическую композицию вводят тремя дозами, и где каждую из трех доз вводят в количестве и в течение периода введения, независимого от любой другой дозы. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых три дозы вводят в виде первой дозы, второй дозы и третьей дозы, и при этом первая доза ниже, чем вторая доза, а вторая доза ниже, чем третья доза. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых три дозы вводят в виде первой дозы, второй дозы и третьей дозы, и при этом первая доза выше, чем вторая доза, а вторая доза выше, чем третья доза. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых период введения каждой из трех доз независимо составляет около 1 дня, около 2 дней, около 3 дней, около 4 дней, около 5 дней, около 6 дней, около 1 недели, около 2 недель, около 3 недель, около 4 недель, около 6 недель, около 7 недель, около 8 недель, около 9 недель, около 10, недель, около 12 недель, около 4 месяцев, около 5 месяцев, около 6 месяцев, около 7 месяцев, около 8 месяцев, около 9 месяцев, около 10 месяцев, около 11 месяцев или около 1 года. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых композиция или фармацевтическая композиция независимо содержат жидкую лекарственную форму, которую вводят в объеме от около 1 мл до около 5 мл, от около 5 мл до 10 мл, от около 15 мл до около 20 мл, от около 25 мл до около 30 мл, от около 30 мл до около 50 мл, от около 50 мл до около 100 мл, от около 100 мл до около 150 мл, от около 150 мл до около 200 мл, от около 200 мл до около 250 мл от около 250 мл до около 300 мл, от около 300 мл до около 350 мл, от около 350 мл до около 400 мл, от около 400 мл до около 450 мл, от около 450 мл до около 500 мл, от около 500 мл до около 750 мл или около 750 мл до 1000 мл. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых композицию или фармацевтическую композицию вводят в жидкой лекарственной форме, твердой

лекарственной форме, лекарственной форме для ингаляции, интраназальной лекарственной форме, липосомальном составе, лекарственной форме, содержащей наночастицы, лекарственной форме, содержащей микрочастицы, полимерной лекарственной форме или любой их комбинации. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых композицию или фармацевтическую композицию вводят в течение около 1 дня, около 2 дней, около 3 дней, около 4 дней, около 5 дней, около 6 дней, около 1 недели, около 2 недель, около 3 недель, около 4 недель, около 6 недель, около 7 недель, около 8 недель, около 9 недель, около 10 недель, около 12 недель, около 4 месяцев, около 5 месяцев, около 6 месяцев, около 7 месяцев, около 8 месяцев, около 9 месяцев, около 10 месяцев, около 11 месяцев или около 1 года. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых композицию или фармацевтическую композицию вводят один раз в день, два раза в день, один раз в неделю, один раз в две недели или один раз в три недели. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых композицию или фармацевтическую композицию вводят в виде болюсной инъекции или медленной инфузии. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых введение композиции или фармацевтической композиции приводит к первому пику вирусной нагрузки через период от около 1 часа до около 3 дней и ко второму пику вирусной нагрузки через период от около 3 дней до около 10 дней после введения первой дозы. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, включающие введение дополнительной терапии, при этом дополнительную терапию проводят в течение около 1 дня, около 2 дней, около 3 дней, около 4 дней, около 5 дней, около 6 дней, около 1 недели, около 2 недель, около 3 недель, около 4 недель, около 6 недель, около 7 недель, около 8 недель, около 9 недель, около 10 недель или около 12 недель. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых дополнительную терапию проводят один раз в день, два раза в день, один раз в 1 день, один раз в 2 дня, один раз в 3 дня, один раз в 4 дня, один раз в 5 дней, один раз в 6 дней, один раз в 1 неделя, один раз в 2 недели, один раз в 3 недели, один раз в 4 недели, один раз в 6 недель, один раз в 7 недель, один раз в 8 недель, один раз в 9 недель, один раз в 10 недель, один раз в 12 недель, один раз каждые 4 месяца, один раз в 5 месяцев, один раз в 6 месяцев, один раз в 7 месяцев, один раз в 8 месяцев, один раз в 9 месяцев, один раз в 10 месяцев, один раз в 11 месяцев или один раз в 1 год. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых дополнительную терапию вводят в виде жидкой лекарственной формы, твердой лекарственной формы, лекарственной формы для ингаляции, интраназальной лекарственной форме, липосомального состава, дозированной формы, содержащей наночастицы, лекарственной формы, содержащей микрочастицы,

полимерной лекарственной формы или любой их комбинации. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых дополнительную терапию вводят перорально, внутривенно, посредством внутриопухолевой инъекции, внутрибрюшинной инъекции или посредством облучения. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых дополнительная терапия включает химиотерапию, лучевую терапию, онколитическую вирусную терапию с дополнительным вирусом, лечение иммуномодулирующими белками, клеточную терапию CAR T, противоопухолевый агент или любые их комбинации. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых дополнительная терапия включает введение иммуномодулирующего агента, содержащего анти-CD33 антитело и его вариабельную область, анти-CD11b антитело и его вариабельную область, ингибитор COX2, цитокин, хемокин, анти-CTLA4 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, анти-PD-L1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или агонист TLR. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых дополнительная терапия включает введение противоопухолевого агента, причем противоопухолевый агент представляет собой химиотерапевтический агент. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых субъектом является человек.

[0009] Другие цели, особенности и преимущества настоящего изобретения станут очевидными из следующего подробного описания. Однако следует понимать, что подробное описание и конкретные примеры при указании предпочтительных воплощений изобретения приведены исключительно для иллюстрации, тогда как различные изменения и модификации в рамках смысла и сущности изобретения будут очевидны специалисту в данной области из данного подробного описания.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0010] Новые признаки раскрытия подробно изложены в прилагаемой формуле изобретения. Лучшее понимание признаков и преимуществ этого раскрытия будет получено при обращении к следующему подробному описанию, в котором представлены иллюстративные воплощения, в которых используются принципы этого раскрытия.

[0011] На ФИГУРЕ 1 показано изменение объема опухоли B16, показанное в кубических миллиметрах по оси у, после обработки буфером, содержащим носитель (vehicle formulated buffer, VFB), или рекомбинантным вирусом осповакцины, содержащим: делецию ТК (НССТКМ); делеции ТК и A52R и замена гена, кодирующего белок A35, геном CPXV012 коровьей оспы (WO0434N); или делеции ТК и A52R без вставки экзогенной нуклеиновой кислоты (WO416N).

[0012] На ФИГУРАХ 2А и 2В показано изменение объема опухоли Renca (Фиг. 2А)

или ЕМТ6 (Фиг. 2В), показанное в кубических миллиметрах по оси ординат, после обработки буфером, содержащим носитель (VFB), или рекомбинантным вирусом осповакцины, содержащим: (1) делецию гена ТК и вставку нуклеиновой кислоты, кодирующей белок V012 вируса осповакцины; (2) делецию гена WR158 и вставку нуклеиновой кислоты, кодирующей белок V012 вируса коровьей оспы; (3) делецию гена ТК и вставку нуклеиновой кислоты, кодирующей доминантно-негативный фактор регуляции интерферона 7 (dnIRF7); или (4) делецию гена ТК и вставку нуклеиновой кислоты, кодирующей вирусный фактор регуляции интерферона 3 (vIRF3).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ РАСКРЫТИЯ

[0013] Хотя в данном документе были показаны и описаны предпочтительные воплощения настоящего раскрытия, специалистам в данной области техники будет очевидно, что такие воплощения представлены только в качестве примера. Теперь специалистам в данной области техники будут понятны многочисленные вариации, изменения и замены, не отклоняющиеся от настоящего раскрытия. Следует понимать, что при реализации раскрытия могут быть использованы различные альтернативы воплощениям настоящего раскрытия, описанным в настоящей заявке.

[0014] В некоторых воплощениях в настоящем раскрытии предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы и способы применения указанных онколитических вирусов для лечения онкологических заболеваний. В некоторых воплощениях онколитические вирусы по настоящему раскрытию включают модификацию вирусного генома, кодирующего экзогенные нуклеиновые кислоты, для усиления онколитической иммунотерапии путем ремоделирования микроокружения опухоли и улучшенной системной доставки. Настоящее раскрытие дополнительно относится к композиции вещества, содержащей такие онколитические вирусы, а также к способу применения и наборам для лечения онкологических заболеваний.

Некоторые определения

[0015] В настоящей заявке формы единственного числа «a», «an» и «the» (в исходном тексте на английском языке) могут относиться как к единственному, так и к множественному числу, если из контекста явно не указано иное. Используемый в настоящей заявке термин «содержит» может означать «включает». Таким образом, «включающий одну или несколько модификаций вирусного генома» может означать «включающий по меньшей мере одну из модификаций вируса» без исключения других элементов. В случае противоречий преимущественную силу имеет настоящее описание, включая пояснения терминов. Кроме того, материалы, способы и примеры представлены только для иллюстрации, и не предназначены для ограничения. Термин «около» или

«приблизительно» может означать в пределах приемлемого диапазона ошибок для конкретного значения, определенного специалистом в данной области техники, что будет частично зависеть от того, как значение измеряется или определяется, например, от ограничений системы измерения. Например, «около» может означать в пределах 1 или более 1 стандартного отклонения в зависимости от практики для данного значения. Если в заявке и формуле изобретения описаны конкретные значения, если не указано иное, термин «около» следует считать означающим приемлемый диапазон погрешности для конкретного значения, например, $\pm 10\%$ значения, измененного термином «около».

[0016] Термин «рекомбинантный онколитический вирус», как он определен в настоящей заявке, включает штамм онколитического вируса, сконструированный для делеции или функционального удаления одной или нескольких эндогенных последовательностей нуклеиновой кислоты и/или вставки или частичной вставки одной или нескольких экзогенных последовательностей нуклеиновой кислоты. Этот термин также включает замену одной или нескольких эндогенных последовательностей нуклеиновой кислоты в вирусном геноме одной или несколькими экзогенными нуклеиновыми кислотами в том же или разных локусах.

[0017] Термин «эффективное количество», используемый в данном документе, может относиться к количеству агента (такого как раскрытый в данном документе рекомбинантный онколитический вирус, а также другие противоопухолевые агенты), которого достаточно для достижения полезных или искомых результатов. Эффективное количество (также называемое терапевтически эффективным количеством) может варьировать в зависимости от одного или нескольких из: субъекта и заболевания, подлежащего лечению, массы и возраста субъекта, тяжести заболевания, способа введения и и т.п., что может легко определить специалист в данной области. Полезные терапевтические эффекты могут включать, без ограничения указанным, возможность диагностических определений; улучшение заболевания, симптома, расстройства или патологического состояния; уменьшение или предотвращение возникновения заболевания, симптома, расстройства или состояния; и в целом противодействие заболеванию, симптому, расстройству или патологическому состоянию.

Краткое описание

[0018] В настоящей заявке предлагаются композиции и способы, относящиеся к ингибированию презентации главного комплекса гистосовместимости (МНС) класса I в инфицированных вирусом клетках в качестве средства (i) снижения иммунного ответа, нацеленного на вирус и инфицированные вирусом клетки, одновременно повышая иммунный ответ, нацеленный на окружающую опухоль. Кроме того, в данной заявке

предлагаются композиции и способы для рекомбинантных онколитических вирусов, сконструированных для активации представления главного комплекса гистосовместимости (МНС) класса II во всем микроокружении опухоли, а также помогающих преодолеть иммунную устойчивость к иммуноонкологической терапии (например, терапии ингибиторами иммунных контрольных точек), опосредованную опухолевой отрицательной регуляцией презентации МНС II.

[0019] В некоторых воплощениях рекомбинантный онколитический вирус представляет собой вирус осповакцины, при этом вирус осповакцины может быть модифицирован таким образом, что вирус (i) удален из природного ингибитора МНС II осповакцины; и (ii) был разработан для экспрессии ингибитора МНС I из вируса коровьей оспы. В некоторых аспектах настоящего документа показано, что замена гена WR158 вируса осповакцины, кодирующего белок A35 (номер доступа NCBI YP_233040) на последовательность ДНК, кодирующую вирусный промотор P7.5 (SEQ ID NO: 1), управляющий экспрессией белка коровьей оспы CPXV012 (номер доступа NCBI NP_619801) (SEQ ID NO: 2) или на последовательность ДНК, кодирующую белок CPXV203 коровьей оспы, может привести к большей терапевтической активности, чем тот же вирус без этой замены.

[0020] В некоторых воплощениях ингибитор МНС I может быть выбран из одного или нескольких ингибиторов TAP, таких как UL49.5; ICP47; US6, BNLF2a.

[0021] В некоторых воплощениях лучшей активации презентации МНС II можно достичь с помощью других способов, включающих или исключающих удаление природного ингибитора МНС II вируса осповакцины. Эти другие способы включают, без ограничения указанным, модификацию рекомбинантного вируса осповакцины, такую, при которой вирусный геном модифицируется путем вставки гена, кодирующего по меньшей мере один из числа белка-ингибитора апоптоза или белка-активатора некротической гибели клеток; белка-усилителя аутофагии (например, HMGB1); аспарагинилэндопептидазы; трансаktivатора класса II (СІТА); интерферона-гамма; активатора Toll-подобных рецепторов (TLR); активатора созревания дендритных клеток (ДК) (например, остеопонтина или TNF-альфа) или лиганда Fas.

[0022] В некоторых воплощениях ингибирование презентации главного комплекса гистосовместимости (МНС) класса I может быть достигнуто другими способами, включая или исключая вставку гена из вируса коровьей оспы, экспрессирующего ингибитор МНС I. Эти другие способы включают, без ограничения указанным, вставку экзогенного гена в вирусный геном из числа одного или нескольких ингибиторов МНС I, полученных из вируса герпеса, таких как ядерный антиген 1, кодируемый вирусом Эпштейна-Барр

(EBNA1) или белки BNLF2a, белки ICP47 или UL49.5, кодируемые вирусом простого герпеса, белок, кодируемый вирусом простого герпеса, белки US6, US2, US3 US11 или gp48, кодируемые цитомегаловирусом человека (HCMV), белок BNLF2a, кодируемый вирусом Эпштейна-Барр, белки kK3, vIRF3 или kK5, кодируемые герпесвирусом, ассоциированным с саркомой Капоши (KSHV) или доминантно-негативная форма IRF7.

[0023] Другие вирусные белки, которые подавляют МНС I, включают, например, белок E3-19K, кодируемый аденовирусом, белок Nef, кодируемый вирусом иммунодефицита человека 1, белок Nef, кодирующий вирус иммунодефицита человека 2, и белок Nef, кодируемый вирусом иммунодефицита обезьян 1.

Онколитические вирусы

[0024] В настоящей заявке предлагаются композиции, содержащие модифицированный онколитический вирус. Модификации включают добавление экзогенной нуклеиновой кислоты, описанной в настоящей заявке. Дополнительные модификации включают добавление геномной модификации, как описано в настоящей заявке. Типичные онколитические вирусы для включения в описанную в данном документе композицию включают, без ограничения указанным, поксвирус, аденоассоциированный вирус, аденовирус, вирус болезни Ньюкасла (NDV), реовирус (RV), менговирус, вирус миксомы (MYXV), вирус кори (MV), вирус простого герпеса (HSV), вирус осповакцины (VV), вирус везикулярного стоматита (VSV) и вирус полиомиелита (PV). Эти онколитические вирусы обладают склонностью специфически поражать клетки злокачественной опухоли и при репликации вируса вызывают значительную гибель клеток и регрессию опухоли. В некоторых воплощениях онколитические вирусы, описанные в настоящей заявке, убивают злокачественные опухолевые клетки или опухолевые клетки посредством таких механизмов, как прямой лизис указанных клеток, стимуляция иммунного ответа на указанные клетки, апоптоз, экспрессия токсичных белков, аутофагия и остановка синтеза белка, индукция противоопухолевого иммунитета или любые их комбинации. В некоторых воплощениях поксвирус включает Betaentomopoxvirus, Yatapoxvirus, Cervidpoxvirus, Gammaentomopoxvirus, Leporipoxvirus, Suipoxvirus, Molluscipoxvirus, Crocodylidpoxvirus, Alphaentomopoxvirus, Carpipoxvirus, Avipoxvirus или Parapoxvirus. В некоторых воплощениях вирус оспы включает вирус осповакцины. В некоторых воплощениях вирус оспы представляет собой вирус осповакцины.

[0025] На основе этих подходов также предлагаются композиции и способы лечения опухолей, в которых иммунный ответ, направленный на инфицированные клетки опухоли, снижается, и вместо этого лучше воздействуют на неинфицированные

опухолевые клетки (например, этот подход может снизить противовирусный иммунитет в пользу противоопухолевого иммунного ответа).

[0026] В настоящей заявке предлагаются рекомбинантные вирусы, включающие модификацию генома, включая вставки, мутации или делеции, а также вставку экзогенных генов, описанных в настоящей заявке. В некоторых воплощениях такие модификации возникают путем спонтанной рекомбинации с вектором-переносчиком. Например, вектор, который может представлять собой кольцевую плазмиду или линейный фрагмент ДНК, может содержать искомую последовательность ДНК, подлежащую добавлению к вирусному геному, за которой следует ген, кодирующий флюоресцирующий репортерный белок под сильным вирусным промотором. Такие компоненты могут быть фланкированы последовательностью ДНК длиной от 200 до 1000 оснований, гомологичной вирусной геномной ДНК, непосредственно предшествующей и сразу после искомого сайта интеграции, которые направляют сайт-специфическую интеграцию векторной полезной нагрузки плюс репортер. Очищенную векторную ДНК трансфицируют в чувствительную к вирусу адгерентную клеточную линию, например: 143В, высевая приблизительно по одному миллиону клеток в одну лунку 6-луночного планшета для культивирования клеток. Трансфицированные клетки затем заражаются вирусом, который предназначен для интеграции векторной ДНК. Рекомбинация вектора и вирусного генома происходит спонтанно во время репликации вируса. Через один-три дня после заражения рекомбинантный вирус (наряду с родительским вирусом) собирают из трансфицированных клеток путем удаления среды и лизиса клеточного монослоя. Рекомбинантный вирус очищают от родительского вируса путем селекции бляшек. Многолуночные планшеты (например, 96-луночные, обработанные для адгерентной клеточной культуры) засеивают от $1,2 \times 10^4$ до $3,0 \times 10^4$ клеток на лунку в день селекции бляшек. Лизат, содержащий смесь рекомбинантного и исходного вируса, обрабатывают ультразвуком, затем разводят в среде для культуры клеток и распределяют между лунками в верхнем ряду засеянного 96-луночного планшета. Среду из инфицированного ряда перемешивают и переносят в следующий соседний ряд клеток планшета. Процесс серийного разведения проводят для всех рядов селекционного планшета. Зараженные планшеты хранят в инкубаторе для клеточных культур в течение двух-трех дней, чтобы дать возможность бляшкам развиваться. Бляшки, образованные рекомбинантным вирусом, флюоресцируют благодаря экспрессии репортерного гена и идентифицируются с помощью флюоресцентного микроскопа. Рекомбинантные бляшки отбирают вручную с помощью одноканальной микропипетки – обычно из каждой бляшки отбирают от 0,5 до 3,0 микролитров материала. Предпочтительные бляшки имеют округлую форму, однородную

по репортерной интенсивности и расположены отдельно в лунке. Собранные бляшки замораживают, размораживают, затем разводят и используют для заражения дополнительных 96-луночных селективных планшетов. Чистая популяция (полностью GFP-положительная) рекомбинантных бляшек достигается после нескольких раундов селекции. Затем репортерный ген удаляют из вирусного генома путем трансфекции клеток вектором, который кодирует рекомбиназу *cre* под вирусным промотором. Трансфицированные клетки инфицируются репортер-положительным вирусом, что позволяет экспрессированному *Cre* удалить репортер, фланкированный *loxP*. Вирус, не содержащий репортеров, очищают путем отбора бляшек таким же образом, как описано выше, нацеливаясь на бляшки, не содержащие GFP, которые находятся одни в своих лунках.

Рекомбинантные вирусы осповакцины

[0027] В некоторых воплощениях онколитический вирус представляет собой вирус осповакцины. Используемый в данном документе взаимозаменяемо термин «рекомбинантный вирус осповакцины» или «рекомбинантный вирус осповакцины» может относиться к модифицированному вирусу осповакцины. Примеры модификаций включают, без ограничения указанным, введение мутаций вирусного каркаса для экспрессии генов/пептидов вируса осповакцины или удаление генов, где модификация, среди прочего, способствует усилению иммунного ответа. В некоторых воплощениях изобретения введение мутации вирусного каркаса включает полную или частичную делецию одного или нескольких генов вирулентности или замены одним или несколькими генами вирусной вирулентности (неограничивающие примеры включают гены, которые, как известно, ингибируют цитокины, участвующие в Th1 иммунный ответ, или в передаче врожденных иммунных сигналов, или ингибиторы других компонентов иммунного ответа, или с генами вирулентности осповакцины, замененными на более или менее мощные гены с эквивалентной функцией из других поксвирусов).

[0028] Модификации генома вируса могут находиться в одном или нескольких местах генома. В некоторых воплощениях модификации генома вируса расположены в геноме рядом. В некоторых воплощениях модификации генома вируса распределены по всему геному.

[0029] Типичные вирусы осповакцины включают, без ограничения указанным, следующие штаммы для модификации путем включения гибридной конструкции, описанной в настоящей заявке: вирус осповакцины Western Reserve (ATCC VR-1354), вирус осповакцины Ankara (ATCC VR-1508), вирус осповакцины Ankara (ATCC VR-1566), штамм вируса осповакцины Wyeth (ATCC VR-1536) или вирус осповакцины Wyeth

(ATCC VR-325). Кроме того, в некоторых воплощениях рекомбинантные вирусы осповакцины представляют собой модифицированные версии штамма вируса осповакцины дикого типа или аттенуированного штамма. Неограничивающие примеры штаммов вируса осповакцины включают штамм вируса осповакцины Western Reserve, штамм Copenhagen, штамм Wyeth (NYCBOH), штамм Tian Tan, Lister, USSR, Анкара, штамм NYVAC и рекомбинантный вирус осповакцины Ankara (MVA). Дополнительными типичными штаммами для включения в композиции, описанные в настоящей заявке, являются, без ограничения указанным, штамм вируса осповакцины Western Reserve, штамм Copenhagen, штамм IND, штамм Wyeth, штамм NYCBOH, штамм Tian Tan, штамм Lister, штамм Ankara, штамм USSR, или штамм ACAM2000. Базовый штамм вируса осповакцины, модифицированный, как изложено в настоящей заявке, сам может содержать одну или несколько мутаций относительно его родительского штамма, например, без ограничения указанным, одно или несколько из следующих: делеция в ТК (также называемая в данном документе «ТК-»); делеция в А52 (также называемая в данном документе «А52-»). Типичным вирусом осповакцины являются вирусы осповакцины Western Reserve. Любой известный вирус осповакцины или его модификации, которые соответствуют представленным в данном документе или известным специалистам в данной области, также входят в объем настоящей заявки.

Модификация, ингибирующая презентацию МНС I

[0030] Презентация пептидов на главном комплексе гистосовместимости I, или МНС I, представляет собой путь, при котором пептиды презентуются на клетках, чтобы предупредить иммунную систему об инфицированных вирусом клетках. Например, инфицированная клетка может презентовать вирусный пептид на МНС I, тем самым предупреждая цитотоксические Т-лимфоциты о необходимости уничтожить эти клетки. При инфицировании хозяина рекомбинантным онколитическим вирусом презентация пептидов на МНС I может ингибироваться.

[0031] В настоящей заявке в некоторых воплощениях настоящего раскрытия предлагаются модификации рекомбинантного онколитического вируса, которые обеспечивают ингибирование или частичное ингибирование презентации МНС I. Модификация может включать вставку или частичную вставку экзогенного ингибитора МНС I. Вставка ингибитора МНС I может быть обеспечена экзогенной нуклеиновой кислотой, которая кодирует указанный ингибитор МНС I. Экзогенная нуклеиновая кислота, кодирующая указанный ингибитор МНС I, может быть встроена в последовательность нуклеиновой кислоты онколитического вирусного генома, такого как вирус коровьей оспы. В некоторых случаях ингибитор МНС I встраивают в

некодирующую область. В других случаях ингибитор встраивают в последовательность нуклеиновой кислоты, кодирующую вирусный белок онколитического вируса. В некоторых случаях ингибитор МНС I встраивается в участок онколитического вирусного генома, который позволяет вирусу реплицироваться в опухолевых клетках. В некоторых случаях, что касается вируса коровьей оспы, ингибитор МНС I может быть введен по меньшей мере в 1, по меньшей мере в 2, по меньшей мере в 3, по меньшей мере в 4, по меньшей мере в 5, по меньшей мере в 6, по меньшей мере в 7, по меньшей мере в 8, в по меньшей мере 9 или по меньшей мере 10 генов. Ген, кодирующий белок вируса коровьей оспы, может представлять собой CPXV012, CPXV203 или любую их комбинацию. В некоторых воплощениях белок вируса коровьей оспы, включая любые комбинации замены, вставки и делеции, может привести к образованию последовательности с менее чем 100%, 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93 %, 92%, 91%, 90% или менее гомологичности последовательности с последовательностью дикого типа вирусного гена или вирусным белком, кодируемым этим геном. Презентация МНС I может быть снижена по меньшей мере на 1%, по меньшей мере на 2%, по меньшей мере на 5%, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 15%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 35 %, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 95 % или по меньшей мере на 100%.

[0032] Экзогенная нуклеиновая кислота в некоторых воплощениях может кодировать по меньшей мере один ингибитор ТАР. Экзогенная нуклеиновая кислота в некоторых воплощениях может кодировать по меньшей мере один ген, выбранный из группы, состоящей из: белка ядерного антигена 1 (EBNA1), кодируемого вирусом Эпштейна-Барр, белка ICP47, кодируемого вирусом простого герпеса, белка UL49.5, кодируемого вирусом простого герпеса, белка US6, US2, US3 или US11, кодируемого цитомегаловирусом человека (HCMV), белка BNLF2a, кодируемого вируса Эпштейна-Барр, белка E3-19K, кодируемого аденовирусом, белка gp48, кодируемого цитомегаловирусом, белка Nef, кодируемого вирусом иммунодефицита человека, белка kK3, vIRF3 или kK5, кодируемого герпесвирусом, ассоциированным с саркомой Капоши (KSHV), или доминантно-негативной формы IRF7.

Модификация, активирующая презентацию МНС класса II

[0033] В настоящей заявке в некоторых воплощениях настоящего раскрытия представлены модификации рекомбинантного онколитического вируса, приводящего к активации презентации МНС II, причем модификация может включать по меньшей мере

одно из: i) делеции или частичной делеции одного или более ингибиторов МНС II (например, природных ингибиторов МНС II); ii) введения белков-ингибиторов апоптоза или белков-активаторов некротической гибели клеток; или любой их комбинации. Модификация может представлять собой делецию гена онколитического вируса. Модификация может представлять собой делецию (полную или частичную делецию) гена, кодирующего A35. Модификация делеции гена, кодирующего A35, может представлять собой делецию или функциональную делецию вирусного гена WR158. В некоторых воплощениях ингибитор МНС II, включая любые комбинации замены, вставки и делеции, может привести к получению последовательности с менее чем 100%, 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93 %, 92%, 91%, 90% или менее гомологии последовательности с последовательностью дикого типа вирусного гена или вирусным белком, кодируемым этим геном, который является природным ингибитором МНС II вируса. Презентация МНС II может быть активирована или усилена по меньшей мере на 1%, по меньшей мере на 2%, по меньшей мере на 5%, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 15%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 25%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 35%, по меньшей мере на 40%, по меньшей мере на 45%, по меньшей мере на 50%, по меньшей мере на 55%, по меньшей мере на 65%, по меньшей мере на 70%, по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 95% или по меньшей мере на 100% по сравнению с вирусом, который не содержит модификацию, которая активирует или усиливает презентацию МНС II, но в остальном идентичен.

[0034] Модификация, вызывающая активацию или усиление презентации МНС II, может включать вставку одного или нескольких генов, выбранных из группы, состоящей из: белка-ингибитора апоптоза или белка-активатора некротической гибели клеток; белка-усилителя аутофагии; аспарагинилэндопептидазы; трансактиватора класса II (СПТА); интерферона-гамма; активатора Toll-подобных рецепторов (TLR); активатора созревания дендритных клеток (ДК) (например, остеопонтина или TNF-альфа). В некоторых случаях энхансер МНС II может быть модифицирован путем включения секреторных последовательностей и доменов клеточной проницаемости для обеспечения иммунологического эффекта «свидетеля». В некоторых случаях белок-усилитель аутофагии содержит HMGB1, PIAS3, LIGHT, ITAC, фракталкин, его функциональный домен или фрагмент или вариант или любые их комбинации. В некоторых случаях белок-усилитель аутофагии включает HMGB1. В некоторых случаях HMGB1 содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 4, или аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 5. В некоторых

случаях секреторная последовательность содержит сигнальную последовательность, происходящую из IgE. В некоторых случаях сигнальная последовательность, полученная из IgE, содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 6, или аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 7. В некоторых случаях HMGB1 модифицируется сигнальной последовательностью, полученной из IgE, причем модифицированный HMGB1 содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 8, или аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 9.

[0035] Одновременная активация МНС II (которая в идеале происходит в неинфицированных клетках, но это не является обязательным требованием) приводит к более эффективному нацеливанию на опухолевые антигены (снижение уровня МНС II является одним из распространенных механизмов резистентности опухоли, например, к анти-PD1/PDL1 антителам).

[0036] В настоящей заявке предлагаются модификации рекомбинантного онколитического вируса, которые обеспечивают ингибирование или частичное ингибирование презентации МНС I, как описано в настоящей заявке, и дополнительно обеспечивают активацию презентации МНС II, как описано в настоящей заявке. В некоторых случаях модификации находятся в разных местах генома. В некоторых случаях модификации находятся в одном и том же месте генома. В некоторых случаях модификации происходят в соседних участках генома.

Другие многочисленные модификации

[0037] В некоторых воплощениях настоящего изобретения предлагаются вакцины, содержащие рекомбинантные онколитические вирусы со вставками, мутациями или делециями в вирусном геноме (также называемом в данном документе вирусным каркасом). В случае онколитических вирусов осповакцины вирусы предпочтительно являются рекомбинантными или отобраны по низкой токсичности и способности накапливаться в ткани-мишени. В некоторых воплощениях модификации вирусного каркаса/вирусного генома представляют собой модификации, которые делают вирус осповакцины нереплицирующимся или обладающим плохой репликационной способностью. Неограничивающие примеры таких модификаций могут включать мутации в следующих вирусных генах: ТК, А1, А2, VН1, А33, I7, F13L, А36R, А34R, А46R, А49R, В8R, В14R, В15R, В18R, С12L, С4, С16, SPI-1, SPI-2, В15R, VGF, Е3L, К1L, К3L, К7R, А41L, M2L, N1L, А52R, их функциональном домене или фрагменте или варианте, или любых их комбинациях.

[0038] В некоторых воплощениях вируса осповакцины мутация вирусного каркаса

выбрана из группы, состоящей из: полной или частичной делеции гена A52R; полной или частичной делеции гена ТК; полной или частичной делеции гена F13L; полной или частичной делеции гена A36R; полной или частичной делеции гена A34R; полной или частичной делеции гена B8R; ген; полной или частичной делеции гена B18R; полной или частичной делеции гена C12L; полной или частичной делеции гена C4; полной или частичной делеции гена C16; полной или частичной делеции гена SPI-1; полной или частичной делеции гена SPI-2; полной или частичной делеции гена VGF; полной или частичной делеции гена E3L; полной или частичной делеции гена K3L; полной или частичной делеции гена A41L; ген; полной или частичной делеции гена A52R; полной или частичной делеции гена B15R; полной или частичной делеции гена K7R; полной или частичной делеции гена B14R; полной или частичной делеции гена N1L; полной или частичной делеции гена K1L; полной или частичной делеции гена M2L; полной или частичной делеции гена A49R; полной или частичной делеции гена VH1; полной или частичной делеции гена A33; полной или частичной делеции A1; полной или частичной делеции гена A2; полной или частичной делеции гена I7 и полной или частичной делеции гена A46R. В настоящей заявке ссылка на вирусный ген может быть сделана посредством ссылки на белок, кодируемый этим геном (например, ген A33 может означать ген, который кодирует белок A33).

[0039] В некоторых воплощениях мутация вирусного каркаса онколитического вируса, включая любые комбинации замены, вставки и делеции, может привести к образованию последовательности с менее чем 100%, 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 94%, 93%, 92%, 91%, 90% или меньшей гомологии последовательности с последовательностью дикого типа вирусного гена или вирусного белка, кодируемого этим геном. Вирусный ген и белок, кодируемый им, в некоторых воплощениях выбраны из группы, состоящей из: ТК, A1, A2, VH1, A33, I7, F13L, A36R, A34R, A46R, A49R, B8R, B14R, B15R, B18R, C12L, C4, C16, SPI-1, SPI-2, B15R, VGF, E3L, K1L, K3L, K7R, A41L, M2L, N1L и A52R.

[0040] В некоторых воплощениях вирусный остов может содержать 1, 2, 3, 4, 5 или более мутаций в аминокислотной последовательности вирусного белка (например, вирусного антигена). Вирусный антиген в некоторых примерах выбран из группы, состоящей из: ТК, A1, A2, VH1, A33, I7, F13L, A36R, A34R, A46R, A49R, B8R, B14R, B15R, B18R, C12L, C4, C16, SPI-1, SPI-2, B15R, VGF, E3L, K1L, K3L, K7R, A41L, M2L, N1L и A52R.

[0041] В некоторых воплощениях раскрытия предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, содержащие еще одну мутацию в геноме вируса (вирусном каркасе), так что мутация увеличивает Т-клеточное плечо иммунного ответа. Мутация

может представлять собой добавление, делецию или замену одной или нескольких нуклеиновых кислот в вирусном геноме (дикого типа или аттенуированных нативных штаммах онколитического вируса).

[0042] В неограничивающих примерах мутация может представлять собой полную или частичную делецию генов, которые, как известно, ингибируют цитокины, участвующие в иммунном ответе Th1. В качестве неограничивающих примеров мутация может представлять собой делецию нуклеиновой кислоты, кодирующей B8R (белки, связывающие интерферон гамма (IFN-g); C12L (белки, связывающие интерлейкин-18 (IL-18)).

[0043] В следующем неограничивающем примере мутация может представлять собой полную или частичную делецию генов передачи сигналов врожденного иммунитета. В качестве неограничивающих примеров мутация может представлять собой делецию нуклеиновой кислоты, кодирующей B18R (белки, связывающие интерферон I типа (IFN)); A52R (белки-ингибиторы ядерного фактора κB (NF-κB); E3L (ингибиторы протеинкиназы (PKR)); C4, C16 (ингибиторы пути STING).

[0044] В дополнительном неограничивающем примере мутация может представлять собой полную или частичную делецию генов, кодирующих белки для ингибирования других компонентов иммунного ответа. В качестве неограничивающих примеров мутация может представлять собой полную или частичную делецию нуклеиновой кислоты, кодирующей B15, K7, B14, N1, K1, M2, A49, VH1, A46 или их комбинацию. Мутация вирусного каркаса может также включать замену генов онколитической вирулентности наиболее мощными генами с эквивалентной функцией из других поксвирусов.

[0045] Варианты аминокислотной последовательности полипептидов по настоящему раскрытию могут представлять собой варианты замещения, вставки или делеции. Мутация гена, кодирующего вирусный полипептид, может затронуть 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20., 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 110, 120, 130, 140, 150, 160, 170, 180, 190, 200, 210, 220, 230, 240, 250, 275, 300, 325, 350, 375, 400, 425, 450, 475, 500 или более несмежных или смежных аминокислот полипептида по сравнению с диким типом.

[0046] В вариантах с делецией может отсутствовать один или несколько остатков нативного белка или белка дикого типа. Отдельные остатки могут быть удалены или весь или часть домена (например, каталитический или связывающий домен) могут быть

удалены. Может быть введен стоп-кодон (заменой или вставкой) в кодирующую нуклеотидную последовательность для получения укороченного белка. Мутанты со вставкой как правило включают добавление материала в неконцевой точке полипептида. Это может включать в себя вставку иммунореактивного эпитопа или просто одного или нескольких остатков. Концевые пристройки, называемые химерными белками, также могут быть получены.

[0047] Варианты замещения обычно включают замену одной аминокислоты на другую в одном или нескольких сайтах белка и могут быть предназначены для модуляции одного или нескольких свойств полипептида с потерей других функций или свойств или без нее. Замены могут быть консервативными, т.е. одна аминокислота замещается другой похожей формы или заряда. Консервативные замены могут включать, например, замену аланина на серин; аргинина на лизин; аспарагина на глутамин или гистидин; аспартата на глутамат; цистеина на серин; глутамина на аспарагин; глутамата на аспартат; глицина на пролин; гистидина на аспарагин или глутамин; изолейцина на лейцин или валин; лейцина на валин или изолейцин; лизина на аргинин; метионина на лейцин или изолейцин; фенилаланина на тирозин, лейцин или метионин; серина на треонин; треонина на серин; триптофана на тирозин; тирозина на триптофан или фенилаланин; и валина на изолейцин или лейцин. Альтернативно, замены могут быть неконсервативными, так что затрагиваются функция или активность полипептида. Неконсервативные изменения как правило включают замены остатка на остаток, который является химически отличным, например, полярная или заряженная аминокислота для неполярной или незаряженной аминокислоты, и наоборот.

[0048] Онколитические вирусы, представленные в настоящей заявке, содержат дополнительные вставки, мутации, делеции или замены в вирусном геноме. Онколитический вирус может содержать одну или несколько дополнительных вставок или частичных вставок экзогенных нуклеиновых кислот, которые кодируют одно или несколько из числа хемокинового рецептора, белка TRIF или его функционального домена, или одного или нескольких из числа лептина, интерлейкина-2 (IL2), интерлейкина-15/интерлейкина-15Ra (IL15/IL15Ra), интерлейкина-7 (IL-7), гибридного белка лептина-интерлейкина (например, гибридного белка лептина-IL2, показанного в примере 1 как L2). В некоторых случаях нуклеиновая кислота кодирует аминокислотную последовательность IL15, как указано в SEQ ID NO: 10. В некоторых случаях нуклеиновая кислота кодирует аминокислотную последовательность IL-7, как указано в любой из SEQ ID NO: 13 или 14. Модификации, такие как вставка хемокинового рецептора, представляют собой вставку дикого типа и/или мутантного типа CCL5, CXCR4, CCR2,

CCL2. В некоторых случаях нуклеиновая кислота кодирует аминокислотную последовательность CXCR4, как указано в любой из SEQ ID NO: 18-20. В некоторых случаях нуклеиновая кислота кодирует аминокислотную последовательность CXCR4, как указано в SEQ ID NO: 18. В некоторых случаях нуклеиновая кислота кодирует аминокислотную последовательность CCR2, как указано в любой из SEQ ID NO: 23-24. Онколитический вирус может дополнительно содержать одну или несколько дополнительных делеций или частичных делеций одного или нескольких генов из ТК, A1, A2, VH1, A33, I7, F13L, A36R, A34R, A46R, A49R, B8R, B14R, B15R, B18R, C12L, C4, C16, SPI-1, SPI-2, B15R, VGF, E3L, K1L, K3L, K7R, A41L, M2L, N1L, A52R, функциональный домен или его фрагмент или вариант, или любые их комбинации. В некоторых случаях онколитический вирус, представленный в настоящей заявке, может содержать полную или частичную делецию гена A52R и вставку хемокинового рецептора, такого как CCR2. В некоторых случаях онколитический вирус, представленный в настоящей заявке, может содержать полную или частичную делецию гена A52R и вставку хемокинового рецептора, такого как CCR2. В некоторых случаях онколитический вирус, представленный в настоящей заявке, может включать полную или частичную делецию по меньшей мере одного из: вирусных генов A52R или ТК и вставку экзогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей гибридный белок (например, белок-модулятор метаболизма, объединенный с цитокином, такой как гибридный белок лептин-IL2).

[0049] Гиалуронан (HA) является структурным элементом ВКМ и высокомолекулярным линейным гликозаминогликаном, состоящим из повторяющихся дисахаридных звеньев. Гиалуронан может широко распределяться в соединительной, эпителиальной и нервной тканях, а уровень его экспрессии может быть значительно повышен при многих типах опухолей. Гиалуронидазы представляют собой семейство ферментов, катализирующих деградацию HA. На сегодняшний день у человека идентифицировано по меньшей мере пять функциональных гиалуронидаз: HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4 и HYAL5 (также известных как PH-20 или SPAM1), среди которых PH-20 является единственной, о которой известно, что она функциональна при относительно нейтральном pH. В некоторых случаях настоящего раскрытия сочетание гиалуронидазы с другими терапевтическими агентами, нацеленными на опухоли (такими как трансгены, также называемые в данном документе экзогенной нуклеиновой кислотой), может способствовать терапевтическому эффекту модифицированного онколитического вируса, по меньшей мере, за счет уменьшения ВКМ и усиления транспортировки терапевтического агента внутри и между опухолями.

[0050] Некоторые воплощения настоящего изобретения раскрывают

модифицированный онколитический вирус, который может содержать экзогенную нуклеиновую кислоту, кодирующую мембраносвязанный белок, способный расщеплять гиалуронан, такой как гиалуронидаза. Следует отметить, что термин «гиалуронидаза», используемый в данном документе, может относиться к любому ферменту или его фрагменту, который катализирует деградацию НА в опухоли, включая, без ограничения указанным, PH-20 и его гомологи из других видов, например а также другие сконструированные/созданные белки со схожей ферментативной функцией. В настоящей заявке гиалуронидаза может относиться к классу ферментов, разрушающих гиалуронан. В некоторых случаях PH-20 содержит аминокислотную последовательность, описанную SEQ ID NO: 26. В некоторых случаях гиалуронидаза содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 28. В некоторых случаях гиалуронидаза дополнительно содержит секреторную последовательность. В некоторых случаях секреторная последовательность содержит сигнальную последовательность, происходящую из IgE. В некоторых случаях сигнальная последовательность, полученная из IgE, содержит аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 7. В некоторых случаях гиалуронидаза с сигнальной последовательностью, полученной из IgE, содержит последовательность нуклеиновой кислоты, представленную в SEQ ID NO: 29, или аминокислотную последовательность, представленную в SEQ ID NO: 30.

Вакцины, фармацевтические композиции и доставка рекомбинантных вирусов осповакцины

[0051] В настоящем раскрытии дополнительно предлагается фармацевтическая или иммуногенная композиция для лечения онкологического заболевания. Кроме того, в некоторых воплощениях в настоящем раскрытии также предлагается фармацевтическая или иммуногенная композиция, которая может включать вакцину, содержащую рекомбинантный вирус осповакцины, как описано выше, и подходящие носители. Вакцина может быть предоставлена в виде набора, который включает вакцину на основе рекомбинантного вируса осповакцины, как описано выше, или фармацевтическую композицию вакцины на основе рекомбинантного вируса осповакцины, как описано выше. Фармацевтические композиции для доставки вакцины могут быть предназначены для парентеральной, пероральной или назальной доставки. Фармацевтические композиции можно вводить человеку по меньшей мере один раз. Фармацевтические композиции можно вводить человеку более одного раза.

[0052] В настоящей заявке также предлагаются рекомбинантные вирусы осповакцины, композиции и/или вакцины, содержащие рекомбинантный вирус осповакцины, для применения в качестве лекарственного средства или вакцины.

[0053] В некоторых воплощениях фармацевтическую композицию, содержащую вакцину, содержащую рекомбинантный вирус осповакцины, представленный в настоящей заявке, можно вводить субъекту в дозе от 10^6 до 10^9 БОЕ, в дозе от 10^6 до 5×10^8 БОЕ или от 10^7 до 10^8 БОЕ. Рекомбинантные вирусы осповакцины, представленные в настоящей заявке, также можно вводить субъекту в дозе 10^6 , 10^7 БОЕ, 10^8 или 5×10^8 БОЕ. Рекомбинантные вирусы осповакцины, предложенные в настоящей заявке, можно вводить человеку в дозе 10^7 БОЕ, 10^8 БОЕ или 5×10^8 БОЕ.

[0054] Рекомбинантный вирус осповакцины, вакцинная композиция или фармацевтическая композиция, описанные в настоящей заявке, могут быть приготовлены в виде раствора в диапазоне концентраций от 10^4 до 10^9 БОЕ/мл, от 10^5 до 5×10^8 БОЕ/мл, от 10^6 до 10^8 БОЕ/мл или от 10^7 до 10^8 БОЕ/мл. В некоторых воплощениях вакцинационная доза для человека может составлять от около 10^6 до 10^9 БОЕ, включая дозу около 10^6 БОЕ, около 10^7 БОЕ или около 10^8 БОЕ. В некоторых воплощениях доза для человека может содержать по меньшей мере около 2×10^7 БОЕ, по меньшей мере около 3×10^7 БОЕ, по меньшей мере около 5×10^7 БОЕ, по меньшей мере около 1×10^8 БОЕ, по меньшей мере около 2×10^8 БОЕ, в объеме от 0,1 до 0,5 мл.

[0055] Фармацевтические/иммуногенные композиции, предложенные в настоящей заявке, обычно могут включать один или несколько фармацевтически приемлемых и/или одобренных носителей, добавок, антибиотиков, консервантов, адъювантов, разбавителей и/или стабилизаторов. Такими вспомогательными веществами могут быть вода, физиологический раствор, глицерин, этанол, смачивающие или эмульгирующие агенты, буферные вещества для pH и т.п. Подходящими носителями обычно являются крупные, медленно метаболизируемые молекулы, такие как белки, полисахариды, полимолочные кислоты, полигликолевые кислоты, полимерные аминокислоты, сополимеры аминокислот, липидные агрегаты и т.п.

[0056] Можно использовать гомологичную схему «прайм-буст», при которой рекомбинантный вирус осповакцины, как определено в настоящей заявке, можно вводить в первой дозе. Одно или несколько последующих введений рекомбинантного вируса осповакцины, как определено в настоящей заявке, можно провести для усиления иммунного ответа, обеспечиваемого при первом введении. В некоторых воплощениях один или несколько антигенов, доставляемых рекомбинантным вирусом осповакцины, могут быть такими же или подобными антигенам из первого введения.

[0057] Фармацевтическая композиция, содержащая рекомбинантный вирус осповакцины, представленный в настоящей заявке, может быть введена субъекту в виде однократной дозы или в виде нескольких (например, 2, 3, 4 и т.д.) доз. Рекомбинантный

вирус осповакцины можно вводить при первом (праймирующем) и втором (бустерном) введении. Первая доза может содержать от около 10^6 до около 10^9 БОЕ/мл рекомбинантного вируса осповакцины, а вторая доза может содержать от около 10^6 до около 10^9 БОЕ/мл рекомбинантного вируса осповакцины. Первая и вторая доза могут содержать по меньшей мере 1000 БОЕ/мл модифицированного вакцинного вируса.

[0058] Вторую дозу вакцины или фармацевтической/иммуногенной композиции можно вводить от 24 часов до около 3 месяцев, например от около 7 дней до около 2 месяцев, после введения первой дозы. Вторая доза может быть бустерной дозой.

[0059] Рекомбинантный вирус осповакцины или фармацевтическую/иммуногенную композицию, содержащую рекомбинантный вирус осповакцины, можно вводить внутрибрюшинно системно, местно, парентерально, подкожно, внутривенно, внутримышечно или интраназально. Вакцину можно вводить с адьювантом, таким как описанный в данном документе адьювант.

[0060] Другой аспект данного раскрытия относится к способу воздействия на иммунный ответ у субъекта, включающему введение субъекту рекомбинантного вируса осповакцины, как описано в настоящей заявке, вакцины, содержащей его, или фармацевтической/иммуногенной композиции, содержащей рекомбинантный вирус осповакцины или вакцинные композиции, как описано в данном документе.

[0061] Протокол иммунизации может включать иммунизацию более чем одним антигеном вместе в одной дозе вакцины, несколькими дозами и несколькими дозами разных антигенов в каждой дозе. В некоторых воплощениях протокол иммунизации может включать иммунизацию антигеном и адьювантом. Адьюванты в настоящем контексте могут включать цитокины и другие иммуномодулирующие молекулы, такие как агонисты TLR (toll-подобных рецепторов) и их производные, которые стимулируют иммунный ответ.

[0062] В настоящей заявке также предлагается способ лечения заболевания, расстройства или состояния путем введения рекомбинантного вируса осповакцины, как описано в настоящей заявке. В некоторых воплощениях количество рекомбинантного вируса осповакцины по настоящему раскрытию, вводимого субъекту, может составлять от около 10^3 до 10^{12} инфекционных вирусных частиц или бляшкообразующих единиц (БОЕ), или от около 10^5 до 10^{10} БОЕ, или от около 10^5 до 10^8 БОЕ или от около 10^8 до 10^{10} БОЕ. В некоторых воплощениях количество рекомбинантного вируса осповакцины по настоящему раскрытию, вводимого субъекту, может составлять от около 10^3 до 10^{12} вирусных частиц или бляшкообразующих единиц (БОЕ), или от около 10^5 до 10^{10} БОЕ, или от около 10^5 до 10^8 БОЕ или от около 10^8 до 10^{10} БОЕ. В некоторых воплощениях

которая может составлять 3×10^9 БОЕ/дозу. В некоторых воплощениях модифицированный онколитический вирус осповакцины по настоящему раскрытию можно вводить в дозе, которая может составлять вплоть до 5×10^9 БОЕ/дозу.

[0063] В некоторых воплощениях рекомбинантный вирус осповакцины по настоящему раскрытию можно вводить в дозе, которая может включать от около 10^3 вирусных частиц/дозу до около 10^4 вирусных частиц/дозу, от около 10^4 вирусных частиц/дозу до около 10^5 вирусных частиц/дозу, около от 10^5 вирусных частиц/дозу до около 10^6 вирусных частиц/дозу, от около 10^7 вирусных частиц/дозу до около 10^8 вирусных частиц/дозу, от около 10^9 вирусных частиц/дозу до около 10^{10} вирусных частиц/дозу, от около 10^{10} вирусных частиц/дозу до около 10^{11} вирусных частиц/дозу, от около 10^{11} вирусных частиц/дозу до около 10^{12} вирусных частиц/дозу, от около 10^{12} вирусных частиц/дозу до около 10^{13} вирусных частиц/дозу, от около 10^{13} вирусных частиц/дозу до около 10^{14} вирусных частиц/дозу или от около 10^{14} вирусных частиц/дозу до около 10^{15} вирусных частиц/дозу.

[0064] В некоторых воплощениях рекомбинантный вирус осповакцины по настоящему раскрытию можно вводить в дозе, которая может составлять от около 10^3 БОЕ/кг до около 10^4 БОЕ/кг, от около 10^4 БОЕ/кг до около 10^5 БОЕ/кг, от около 10^5 БОЕ/кг до от около 10^6 БОЕ/кг, от около 10^7 БОЕ/кг до около 10^8 БОЕ/кг, от около 10^9 БОЕ/кг до около 10^{10} БОЕ/кг, от около 10^{10} БОЕ/кг до около 10^{11} БОЕ/кг, от около 10^{11} БОЕ/кг до около 10^{12} БОЕ/кг, от около 10^{12} БОЕ/кг до около 10^{13} БОЕ/кг, от около 10^{13} БОЕ/кг до около 10^{14} БОЕ/кг или от около 10^{14} БОЕ/кг до около 10^{15} БОЕ/кг. В некоторых воплощениях модифицированный онколитический вирус осповакцины по настоящему раскрытию можно вводить в дозе, которая может составлять около 2×10^3 БОЕ/кг, 3×10^3 БОЕ/кг, 4×10^3 БОЕ/кг, 5×10^3 БОЕ/кг, 6×10^3 БОЕ/кг, 7×10^3 БОЕ/кг, 8×10^3 БОЕ/кг, 9×10^3 БОЕ/кг, около 10^4 БОЕ/кг, около 2×10^4 БОЕ/кг, около 3×10^4 БОЕ/кг, около 4×10^4 БОЕ/кг, около 5×10^4 БОЕ/кг, около 6×10^4 БОЕ/кг, около 7×10^4 БОЕ/кг, около 8×10^4 БОЕ/кг, около 9×10^4 БОЕ/кг, около 10^5 БОЕ/кг, 2×10^5 БОЕ/кг, 3×10^5 БОЕ/кг, 4×10^5 БОЕ/кг, 5×10^5 БОЕ/кг, 6×10^5 БОЕ/кг, 7×10^5 БОЕ/кг, 8×10^5 БОЕ/кг /кг, 9×10^5 БОЕ/кг, около 10^6 БОЕ/кг, около 2×10^6 БОЕ/кг, около 3×10^6 БОЕ/кг, около 4×10^6 БОЕ/кг, около 5×10^6 БОЕ/кг, около 6×10^6 БОЕ/кг, около 7×10^6 БОЕ/кг, около 8×10^6 БОЕ/кг, около 9×10^6 БОЕ/кг, около 10^7 БОЕ/кг, около 2×10^7 БОЕ/кг, около 3×10^7 БОЕ/кг кг, около 4×10^7 БОЕ/кг, около 5×10^7 БОЕ/кг, около 6×10^7 БОЕ/кг, около 7×10^7 БОЕ/кг, около 8×10^7 БОЕ/кг, около 9×10^7 БОЕ/кг, около 10^8 БОЕ/кг, около 2×10^8 БОЕ/кг, около 3×10^8 БОЕ/кг, около 4×10^8 БОЕ/кг, около 5×10^8 БОЕ/кг, около 6×10^8 БОЕ/кг, около 7×10^8 БОЕ/кг, около 8×10^8 БОЕ/кг, около 9×10^8 БОЕ/кг, около 10^9 БОЕ/кг, около 2×10^9

БОЕ/кг, около 3×10^9 БОЕ/кг, около 4×10^9 БОЕ/кг, около 5×10^9 БОЕ/кг, около 6×10^9 БОЕ/кг, около 7×10^9 БОЕ/кг, около 8×10^9 БОЕ/кг, около 9×10^9 БОЕ/кг, около 10^{10} БОЕ/кг, около 2×10^{10} БОЕ/кг, около 3×10^{10} БОЕ/кг, около 4×10^{10} БОЕ/кг, около 5×10^{10} БОЕ/кг, около 6×10^{10} БОЕ/кг, около 7×10^{10} БОЕ/кг, около 8×10^{10} БОЕ/кг кг, около 9×10^{10} БОЕ/кг, около 10^{10} БОЕ/кг, около 2×10^{10} БОЕ/кг, около 3×10^{10} БОЕ/кг, около 4×10^{10} БОЕ/кг, около 5×10^{10} БОЕ/кг, около 6×10^{10} БОЕ/кг, около 7×10^{10} БОЕ/кг, около 8×10^{10} БОЕ/кг, около 9×10^{10} БОЕ/кг, около 10^{11} БОЕ/кг, около 2×10^{11} БОЕ/кг, около 3×10^{11} БОЕ/кг кг, около 4×10^{11} БОЕ/кг, около 5×10^{11} БОЕ/кг, около 6×10^{11} БОЕ/кг, около 7×10^{11} БОЕ/кг, около 8×10^{11} БОЕ/кг, около 9×10^{11} БОЕ/кг, или от около 10^{12} БОЕ/кг, от около 10^{12} БОЕ/кг до около 10^{13} БОЕ/кг, от около 10^{13} БОЕ/кг до около 10^{14} БОЕ/кг или от около 10^{14} БОЕ/кг до около 10^{15} БОЕ/кг. В некоторых воплощениях рекомбинантный вирус осповакцины по настоящему раскрытию можно вводить в дозе, которая может составлять 3×10^9 БОЕ/кг. В некоторых воплощениях рекомбинантный вирус осповакцины по настоящему раскрытию можно вводить в дозе, которая может составлять вплоть до 5×10^9 БОЕ/кг.

[0065] В некоторых воплощениях рекомбинантный вирус осповакцины по настоящему раскрытию можно вводить в дозе, которая может содержать от около 10^3 вирусных частиц/кг до около 10^4 вирусных частиц/кг, от около 10^4 вирусных частиц/кг до около 10^5 вирусных частиц/кг, около 10^5 от около 10^7 вирусных частиц/кг до около 10^6 вирусных частиц/кг, от около 10^7 вирусных частиц/кг до около 10^8 вирусных частиц/кг, от около 10^9 вирусных частиц/кг до около 10^{10} вирусных частиц/кг, от около 10^{10} вирусных частиц/кг до около 10^{11} вирусных частиц/кг, от около 10^{11} вирусных частиц/кг до около 10^{12} вирусных частиц/кг, от около 10^{12} вирусных частиц/кг до около 10^{13} вирусных частиц/кг, от около 10^{13} вирусных частиц/кг до около 10^{14} вирусных частиц/кг или от около 10^{14} вирусных частиц/кг до около 10^{15} вирусных частиц/кг.

[0066] Жидкая лекарственная форма рекомбинантного вируса осповакцины, описанная в настоящей заявке, может содержать, в некоторых воплощениях, вирусную дозу от около 10^3 БОЕ/мл до около 10^4 БОЕ/мл, от около 10^4 БОЕ/мл до около 10^5 БОЕ/мл, около 10^5 БОЕ/мл. /мл до около 10^6 БОЕ/мл, от около 10^7 БОЕ/мл до около 10^8 БОЕ/мл, от около 10^9 БОЕ/мл до около 10^{10} БОЕ/мл, от около 10^{10} БОЕ/мл до около 10^{11} БОЕ/мл, около 10^{11} БОЕ/мл от около 10^{12} БОЕ/мл, от около 10^{12} БОЕ/мл до около 10^{13} БОЕ/мл, от около 10^{13} БОЕ/мл до около 10^{14} БОЕ/мл или от около 10^{14} БОЕ/мл до около 10^{15} БОЕ/мл. В некоторых воплощениях рекомбинантный вирус осповакцины по настоящему раскрытию можно вводить в дозе, которая может составлять около 2×10^3 БОЕ/мл, 3×10^3 БОЕ/мл, 4×10^3 БОЕ/мл, 5×10^3 БОЕ/мл, 6×10^3 БОЕ/мл, 7×10^3 БОЕ/мл, 8×10^3 БОЕ/мл, $9 \times$

10^3 БОЕ/мл, около 10^4 БОЕ/мл, около 2×10^4 БОЕ/мл, около 3×10^4 БОЕ/мл, около 4×10^4 БОЕ/мл, около 5×10^4 БОЕ/мл, около 6×10^4 БОЕ/мл, около 7×10^4 БОЕ/мл, около 8×10^4 БОЕ/мл, около 9×10^4 БОЕ/мл, около 10^5 БОЕ/мл, около 2×10^5 БОЕ/мл, около 3×10^5 БОЕ/мл, около 4×10^5 БОЕ/мл, около 5×10^5 БОЕ/мл, около 6×10^5 БОЕ/мл, около 7×10^5 БОЕ/мл, около 8×10^5 БОЕ/мл, около 9×10^5 БОЕ/мл, около 10^6 БОЕ/мл, около 2×10^6 БОЕ/мл, около 3×10^6 БОЕ/мл, около 4×10^6 БОЕ/мл, около 5×10^6 БОЕ/мл, около 6×10^6 БОЕ/мл, около 7×10^6 БОЕ/мл, около 8×10^6 БОЕ/мл, около 9×10^6 БОЕ/мл, около 10^7 БОЕ/мл, около 2×10^7 БОЕ/мл, около 3×10^7 БОЕ/мл, около 4×10^7 БОЕ/мл, около 5×10^7 БОЕ/мл, около 6×10^7 БОЕ/мл, около 7×10^7 БОЕ/мл, около 8×10^7 БОЕ/мл, около 9×10^7 БОЕ/мл, около 10^8 БОЕ/мл, около 2×10^8 БОЕ/мл, около 3×10^8 БОЕ/мл, около 4×10^8 БОЕ/мл, около 5×10^8 БОЕ/мл, около 6×10^8 БОЕ/мл, около 7×10^8 БОЕ/мл, около 8×10^8 БОЕ/мл, около 9×10^8 БОЕ/мл, около 10^9 БОЕ/мл, около 2×10^9 БОЕ/мл, около 3×10^9 БОЕ/мл, около 4×10^9 БОЕ/мл, около 5×10^9 БОЕ/мл, около 6×10^9 БОЕ/мл, около 7×10^9 БОЕ/мл, около 8×10^9 БОЕ/мл, около 9×10^9 БОЕ/мл, около 10^{10} БОЕ/мл, около 2×10^{10} БОЕ/мл, около 3×10^{10} БОЕ/мл, около 4×10^{10} БОЕ/мл, около 5×10^{10} БОЕ/мл, около 6×10^{10} БОЕ/мл, около 7×10^{10} БОЕ/мл, около 8×10^{10} БОЕ/мл, около 9×10^{10} БОЕ/мл, около 10^{11} БОЕ/мл, около 2×10^{11} БОЕ/мл, около 3×10^{11} БОЕ/мл, около 4×10^{11} БОЕ/мл, около 5×10^{11} БОЕ/мл, около 6×10^{11} БОЕ/мл, около 7×10^{11} БОЕ/мл, около 8×10^{11} БОЕ/мл, около 9×10^{11} БОЕ/мл или около 10^{12} БОЕ/мл, от около 10^{12} БОЕ/мл до около 10^{13} БОЕ/мл, от около 10^{13} БОЕ/мл до около 10^{14} БОЕ/мл или от около 10^{14} БОЕ/мл до около 10^{15} БОЕ/мл. В некоторых воплощениях рекомбинантный вирус осповакцины по настоящему раскрытию можно вводить в дозе, которая может составлять 5×10^9 БОЕ/мл. В некоторых воплощениях рекомбинантный вирус осповакцины по настоящему раскрытию можно вводить в дозе, которая может составлять вплоть до 5×10^9 БОЕ/мл.

[0067] В некоторых случаях, когда рекомбинантный вирус осповакцины можно вводить посредством инъекции, доза может включать около 10^3 вирусных частиц на инъекцию, 10^4 вирусных частиц на инъекцию, 10^5 вирусных частиц на инъекцию, 10^6 вирусных частиц на инъекцию, 10^7 вирусных частиц на инъекцию, 10^8 вирусных частиц на инъекцию, 10^9 вирусных частиц на инъекцию, 10^{10} вирусных частиц на инъекцию, 10^{11} вирусных частиц на инъекцию, 10^{12} вирусных частиц на инъекцию, 2×10^{12} вирусных частиц на инъекцию, 10^{13} вирусных частиц на инъекцию, 10^{14} вирусных частиц на инъекцию или 10^{15} вирусных частиц на инъекцию. В дополнительных случаях, когда рекомбинантный вирус осповакцины вводят путем инъекции, доза может включать около

10^3 инфекционных вирусных частиц на инъекцию, 10^4 инфекционных вирусных частиц на инъекцию, 10^5 инфекционных вирусных частиц на инъекцию, 10^6 инфекционных вирусных частиц на инъекцию, 10^7 инфекционных вирусных частиц на инъекцию, 10^8 инфекционных вирусных частиц на инъекцию, 10^9 инфекционных вирусных частиц на инъекцию, 10^{10} инфекционных вирусных частиц на инъекцию, 10^{11} инфекционных вирусных частиц на инъекцию, 10^{12} инфекционных вирусных частиц на инъекцию, 2×10^{12} инфекционных вирусных частиц на инъекцию, 10^{13} инфекционных вирусных частиц на инъекцию, 10^{14} инфекционных вирусных частиц на инъекцию или 10^{15} инфекционных вирусных частиц на инъекцию. В дополнительных воплощениях рекомбинантный вирус осповакцины по настоящему раскрытию можно вводить в дозе, которая может составлять около 10^3 50% дозы ингибитора тканевой культуры (БОЕ)/кг, 10^4 БОЕ/кг, 10^4 БОЕ/кг, 10^4 БОЕ/кг, 10^4 БОЕ/кг, 10^4 БОЕ/кг, 10^4 БОЕ/кг, 10^4 БОЕ/кг, 10^4 БОЕ/кг, 10^4 БОЕ/кг, 10^4 БОЕ/кг, 10^4 БОЕ/кг, 10^4 БОЕ/кг, 3×10^8 БОЕ/кг, 4×10^8 БОЕ/кг, 5×10^8 БОЕ/кг, 3×10^9 БОЕ/кг, 4×10^9 БОЕ/кг, 5×10^9 БОЕ/кг, 3×10^{10} БОЕ/кг, 4×10^{10} БОЕ/кг или 4×10^{10} БОЕ/кг. Обратите внимание, что в данном документе $10x$ альтернативно выражается как 1 eX . В некоторых воплощениях рекомбинантный вирус осповакцины можно вводить в одной или нескольких дозах. В некоторых воплощениях вирус можно вводить в количестве, достаточном для индукции онколиза по меньшей мере в около 20% клеток опухоли, по меньшей мере в около 30% клеток опухоли, по меньшей мере в около 40% клеток опухоли, по меньшей мере в около 50% клеток опухоли, по меньшей мере в около 60% клеток опухоли, по меньшей мере в около 70% клеток опухоли, по меньшей мере в около 80% клеток опухоли, или по меньшей мере в около 90% клеток опухоли.

[0068] В некоторых воплощениях разовая доза рекомбинантного вируса может относиться к количеству, введенному субъекту или опухоли в течение 1, 2, 5, 10, 15, 20 или 24-часового периода. В некоторых воплощениях дозу можно распределять во времени или путем отдельной инъекции. В некоторых воплощениях субъекту можно вводить несколько доз (например, 2, 3, 4, 5, 6 или более доз) вируса осповакцины, например, когда второе лечение может проводиться в течение 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 дней или недель после первого лечения. В некоторых воплощениях субъекту можно вводить несколько доз модифицированного онколитического вируса в течение периода 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или более дней или недель. В некоторых воплощениях рекомбинантный вирус осповакцины или фармацевтическую композицию, описанную в настоящей заявке, можно вводить в течение периода от около 1 недели до около 2 недель, от около 2 недель до около 3 недель, от около 3 недель до около 4 недель, от около 4 недель до около 4 недель. от около 5 недель, от около 6 недель до около 7 недель, от около 7 недель до около 8 недель, от около 8

недель до около 9 недель, от около 9 недель до около 10 недель, от около 10 недель до около 11 недель, от около 11 недель до около 12 недель, от около 12 недель до около 24 недель, от около 24 недель до около 48 недель, от около 48 недель или около 52 недель или дольше. Частота введения рекомбинантного вируса или фармацевтической композиции, описанной в настоящей заявке, в некоторых случаях может составлять один раз в день, два раза в день, один раз в неделю, один раз в три недели, один раз в четыре недели (или один раз в месяц), один раз в 8 недель (или один раз в 2 месяца), раз в 12 недель (или один раз в 3 месяца) или раз в 24 недели (один раз в 6 месяцев). В некоторых воплощениях способов, раскрытых в настоящей заявке, рекомбинантный вирус осповакцины или фармацевтическую композицию можно вводить независимо в начальной дозе в течение первого периода времени, промежуточной дозе в течение второго периода времени и высокой дозе в третьего периода времени. В некоторых воплощениях начальная доза может быть ниже, чем промежуточная доза, а промежуточная доза может быть ниже, чем высокая доза. В некоторых воплощениях способов, раскрытых в настоящей заявке, рекомбинантный вирус осповакцины или фармацевтическую композицию можно вводить независимо в высокой дозе в течение первого периода времени, промежуточной дозе в течение второго периода времени и низкой дозе в течение третьего периода времени. В некоторых воплощениях начальная доза может быть выше, чем промежуточная доза, а промежуточная доза может быть выше, чем низкая доза. В некоторых воплощениях первый, второй и третий периоды времени могут независимо составлять от около 1 недели до около 2 недель, от около 2 недель до около 3 недель, от около 3 недель до около 4 недель, от около 4 недель до около 5 недель, от около 6 недель до около 7 недель, от около 7 недель до около 8 недель, от около 8 недель до около 9 недель, от около 9 недель до около 10 недель, от около 10 недель до около 11 недель, от около 11 недель до около 12 недель, от около 12 недель до около 24 недель, от около 24 недель до около 48 недель, около 48 недель или около 52 недель или дольше. В некоторых воплощениях рекомбинантный онколитический вирус осповакцины, описанный в настоящей заявке, можно вводить с использованием схемы «прайм-буст».

[0069] В некоторых примерах субъект может быть переведен на диету с пониженным содержанием углеводов, например, кетогенную диету до, одновременно и после введения модифицированного онколитического вируса осповакцины или содержащей его фармацевтической композиции, как описано в настоящей заявке, в соответствии с любым из способов лечения, описанных в настоящей заявке. В некоторых воплощениях субъекта можно посадить на диету, которая может включать потребление менее 500 граммов углеводов в день, менее 450 граммов углеводов в день, менее 450

граммов углеводов в день, менее 400 граммов углеводов в день. в день, менее 350 граммов углеводов в день, менее 300 граммов углеводов в день, менее 250 граммов углеводов в день, менее 200 граммов углеводов в день, менее 150 граммов углеводов в день, менее 100 граммов углеводов в день, менее 90 граммов углеводов в день, менее 80 граммов углеводов в день, менее 70 граммов углеводов в день, менее 60 граммов углеводов в день, менее 50 граммов углеводов в день, менее 40 граммов углеводов в день, менее 30 граммов углеводов в день, менее 20 граммов углеводов в день, менее чем 10 граммов углеводов в день. Типичный способ доставки рекомбинантного вируса осповакцины по настоящему раскрытию или фармацевтической композиции, содержащей его, к злокачественным опухолевым или опухолевым клеткам может осуществляться посредством внутриопухолевой инъекции. Однако также можно использовать альтернативные способы введения, например внутривенный, посредством инфузии, парентеральный, внутривенный, внутрикожный, внутримышечный, чрескожный, ректальный, внутриуретральный, интравагинальный, интраназальный, интратекальный или внутрибрюшинный. Пути введения могут варьировать в зависимости от локализации и характера опухоли. В некоторых воплощениях путь введения может быть интрадентальным, чрескожным, парентеральным, внутривенным, внутримышечным, интраназальным, подкожным, региональным (например, вблизи опухоли, особенно с сосудистой сетью или прилегающей сосудистой сетью опухоли), чрескожным, интратекальным, внутритрахеальным, внутрибрюшинным, внутриартериальным, интравезикальным, внутриопухолевым, ингаляционным, перфузионным, путем промывания или пероральным. Инъекционную дозу рекомбинантного вируса осповакцины можно вводить в виде болюсной инъекции или в виде медленной инфузии. В некоторых воплощениях модифицированный онколитический вирус осповакцины можно вводить пациенту из источника, имплантированного пациенту. В некоторых воплощениях введение модифицированного онколитического вируса осповакцины может происходить путем непрерывной инфузии в течение выбранного периода времени. В некоторых случаях рекомбинантный вирус осповакцины, описанный в настоящей заявке, или фармацевтическую композицию, содержащую его, можно вводить в терапевтически эффективной дозе путем инфузии в течение периода около 15 минут, около 30 минут, около 45 минут, около 50 минут, около 55 минут, около 60 минут, около 75 минут, около 90 минут, около 100 минут или около 120 минут или дольше. Рекомбинантный вирус осповакцины или фармацевтическую композицию по настоящему раскрытию можно вводить в виде жидкой дозы, при этом общий объем введения составляет от около 1 мл до около 5 мл, от около 5 мл до около 10 мл, от около 15 мл до около 20 мл, от около 25 мл

до около 30 мл, от около 30 мл до около 50 мл, от около 50 мл до около 100 мл, от около 100 мл до около 150 мл, от около 150 мл до около 200 мл, от около 200 мл до около 250 мл, около 250 мл до около 300 мл, от около 300 до около 350 мл, от около 350 до около 400 мл, от около 400 до около 450 мл, от около 450 до 500 мл, от около 500 до 750 мл или от около 750 до 1000 мл.

Способ применения рекомбинантного онколитического вируса

[0070] Описанные в данном документе рекомбинантные онколитические вирусы или фармацевтическая композиция или вакцина, содержащая их, как описано выше, можно использовать для злокачественной опухоли, при иммунотерапии злокачественной опухоли и лечении опухолей. Опухоли могут представлять собой солидные и жидкие опухоли, включая, без ограничения указанным, меланому, гепатоцеллюлярную карциному, рак молочной железы, рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, рак брюшины, рак предстательной железы, рак мочевого пузыря, рак яичников, лейкоз, лимфому, почечно-клеточный рак, рак поджелудочной железы, эпителиальную карциному, аденокарциному желудка/перехода желудок-пищевод, рак шейки матки, карциному ободочной кишки, колоректальный рак, рак двенадцатиперстной кишки, аденокарциному поджелудочной железы, аденоидно-кистозная болезнь, саркому, мезотелиому, мультиформную глиобластому, астроцитому, множественную миелому, рак предстательной железы, гепатоцеллюлярную карциному, холангиокарциному, аденокарциному поджелудочной железы, плоскоклеточную карциному головы и шеи, плоскоклеточную карциному шейки матки, остеосаркому, эпителиальную карциному яичников, острую лимфобластную лимфому или миелолипролиферативные новообразования. По существу, некоторые воплощения настоящего раскрытия предлагают способ лечения злокачественной опухоли, опухоли, иммунотерапию рака путем введения рекомбинантного онколитического вируса, как описано в настоящей заявке, или фармацевтической или иммуногенной композиции, содержащей его.

[0071] Описанный в данном документе рекомбинантный вирус осповакцины или фармацевтическая композиция или вакцина, содержащая его, как описано выше, можно использовать для лечения злокачественной опухоли, в иммунотерапии злокачественной опухоли и лечении опухолей. Опухоли могут представлять собой солидные и жидкие опухоли, включая, без ограничения указанным, меланому, гепатоцеллюлярную карциному, рак молочной железы, рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, рак брюшины, рак предстательной железы, рак мочевого пузыря, рак яичников, лейкоз, лимфому, почечно-клеточный рак, рак поджелудочной железы, эпителиальную карциному, аденокарциному желудка/перехода желудок-пищевод, рак шейки матки,

карциному ободочной кишки, колоректальный рак, рак двенадцатиперстной кишки, аденокарциному поджелудочной железы, аденоидно-кистозная болезнь, саркому, мезотелиому, мультиформную глиобластому, астроцитому, множественную миелому, рак предстательной железы, гепатоцеллюлярную карциному, холангиокарциному, аденокарциному поджелудочной железы, плоскоклеточную карциному головы и шеи, плоскоклеточную карциному шейки матки, остеосаркому, эпителиальную карциному яичников, острую лимфобластную лимфому или миелопролиферативные новообразования. По существу, в некоторых воплощениях настоящего раскрытия предлагается способ лечения злокачественной опухоли, опухоли, иммунотерапии злокачественной опухоли путем введения рекомбинантного вируса осповакцины, как описано в настоящей заявке, или фармацевтической или иммуногенной композиции, содержащей его.

[0072] Клетки злокачественной опухоли, которые можно лечить способами по настоящему раскрытию, включают клетки мочевого пузыря, крови, костей, костного мозга, головного мозга, молочной железы, ободочной кишки, пищевода, желудочно-кишечного тракта, десен, головы, почек, печени, легких, носоглотки, шеи, яичников, предстательной железы, кожи, желудка, яичек, языка или матки. Кроме того, злокачественная опухоль может относиться к следующему гистологическому типу, без ограничения указанным: новообразование, злокачественное; карцинома; карцинома недифференцированная; гигантоклеточная и веретенноклеточная карцинома; мелкоклеточная карцинома; папиллярная карцинома; плоскоклеточная карцинома; лимфоэпителиальная карцинома; базально-клеточная карцинома; пилломатриксная карцинома; переходно-клеточная карцинома; папиллярная переходно-клеточная карцинома; аденокарцинома; гастринома, злокачественная; холангиокарцинома; гепатоцеллюлярная карцинома; комбинированная гепатоцеллюлярная карцинома и холангиокарцинома; трабекулярная аденокарцинома; аденоидно-кистозная карцинома; аденокарцинома в аденоматозном полипе; аденокарцинома, семейный коли-полипоз; солидная карцинома; карциноидная опухоль, злокачественная; бронхиоло-альвеолярная аденокарцинома; папиллярная аденокарцинома; хромофобная карцинома; ацидофильная карцинома; оксифильная аденокарцинома; базофильная карцинома; светлоклеточная аденокарцинома; гранулярно-клеточная карцинома; фолликулярная аденокарцинома; папиллярная и фолликулярная аденокарцинома; неинкапсулирующая склерозирующая карцинома; карцинома коры надпочечников; эндометриодная карцинома; карцинома придатков кожи; апокринная аденокарцинома; сальная аденокарцинома; церуминозная аденокарцинома; мукоэпидермоидная карцинома; цистаденокарцинома; папиллярная

цистаденокарцинома; папиллярная серозная цистаденокарцинома; муцинозная цистаденокарцинома; муцинозная аденокарцинома; перстневидно-клеточная карцинома; инфильтрирующая протоковая карцинома; медуллярная карцинома; дольковая карцинома; воспалительная карцинома; болезнь Педжета молочной железы; ацинарно-клеточная карцинома; аденосквамозная карцинома; аденокарцинома с плоскоклеточной метаплазией; тимома злокачественная; стромальная опухоль яичника, злокачественная; текома злокачественная; гранулезоклеточная опухоль, злокачественная; андробластома злокачественная; карцинома клеток Сертоли; опухоль из клеток Лейдига, злокачественная; липидно-клеточная опухоль, злокачественная; параганглиома злокачественная; экстрамаммарная параганглиома, злокачественная; феохромоцитомы; гломангиосаркома; злокачественная меланома; амеланотическая меланома; поверхностно распространяющаяся меланома; злокачественная меланома при гигантских пигментных невусах; эпителиоидноклеточная меланома; голубой невус, злокачественный; саркома; фибросаркома; фиброзная гистиоцитомы, злокачественная; миксосаркома; липосаркома; лейомиосаркома; рабдомиосаркома; эмбриональная рабдомиосаркома; альвеолярная рабдомиосаркома; стромальная саркома; смешанная опухоль, злокачественная; мюллерова смешанная опухоль; нефробластома; гепатобластома; карциносаркома; мезенхимомы злокачественная; опухоль Бреннера злокачественная; листовидная опухоль, злокачественная; синовиальная саркома; мезотелиома злокачественная; дисгерминома; эмбриональная карцинома; тератома злокачественная; струма яичника, злокачественная; хориокарцинома; мезонефрома злокачественная; гемангиосаркома; гемангиоэндотелиома злокачественная; саркома Капоши; гемангиоперицитомы злокачественная; лимфангиосаркома; остеосаркома; юстакортикальная остеосаркома; хондросаркома; хондробластома злокачественная; мезенхимальная хондросаркома; гигантоклеточная опухоль кости; саркома Юинга; одонтогенная опухоль злокачественная; амелобластическая одонтосаркома; амелобластома злокачественная; амелобластическая фибросаркома; пинелома злокачественная; хордома; глиома злокачественная; эпендимомы; астроцитомы; протоплазматическая астроцитомы; фибриллярная астроцитомы; астробластома; глиобластома; олигодендроглиомы; олигодендробластома; примитивная нейроэктодермальная; саркома мозжечка; ганглионейробластома; нейробластома; ретинобластома; обонятельная нейрогенная опухоль; менингиома злокачественная; нейрофибросаркома; нейролеммома злокачественная; зернистоклеточная опухоль, злокачественная; злокачественная лимфома; болезнь Ходжкина; Ходжкина; парагранулема; злокачественная лимфома, мелколимфоцитарная; злокачественная лимфома, крупноклеточная, диффузная; злокачественная лимфома, фолликулярная;

грибовидный микоз; другие уточненные неходжкинские лимфомы; злокачественный гистиоцитоз; множественная миелома; тучноклеточная саркома; иммунопролиферативные заболевания тонкого кишечника; лейкоз; лимфоидный лейкоз; плазмноклеточный лейкоз; эритролейкоз; лимфосаркомно-клеточный лейкоз; миелоидный лейкоз; базофильный лейкоз; эозинофильный лейкоз; моноцитарный лейкоз; тучноклеточный лейкоз; мегакариобластный лейкоз; миелоидная саркома; и волосатоклеточный лейкоз. В некоторых случаях солидные злокачественные опухоли, которые являются метастатическими, можно лечить с использованием рекомбинантных онколитических вирусов по настоящему раскрытию, таких как рекомбинантный онколитический вирус осповакцины, который выгоден для системной доставки. В некоторых случаях солидные злокачественные опухоли, которые недоступны или труднодоступны, например, с целью внутриопухолевой доставки терапевтических агентов, можно лечить с использованием рекомбинантных онколитических вирусов по настоящему раскрытию, таких как рекомбинантный онколитический вирус, который выгоден для системной доставки. Злокачественные опухоли, связанные с повышенной экспрессией свободных жирных кислот, в некоторых примерах можно лечить с использованием рекомбинантных онколитических вирусов по настоящему раскрытию, таких как рекомбинантный онколитический вирус осповакцины, который выгоден для системной доставки и образует повышенные количества EEV.

Комбинированные Терапии

[0073] Способы по настоящему раскрытию включают, в некоторых аспектах, введение рекомбинантного онколитического вируса, как описано в настоящей заявке, или фармацевтической или иммуногенной композиции, содержащей его, с последующей, предшествующей или в сочетании с одной или несколькими дополнительными видами терапии. Примеры дополнительной терапии могут включать, без ограничения указанным, химиотерапию, лучевую терапию, онколитическую вирусную терапию с использованием дополнительного вируса, лечение иммуномодулирующими белками, противоопухолевым агентом или любые их комбинации. Дальнейшую терапию можно проводить одновременно или последовательно с введением модифицированного вируса, такого как онколитический вирус осповакцины. В некоторых воплощениях способы по настоящему раскрытию могут включать введение модифицированного онколитического вируса, как описано в настоящей заявке, с последующими, предшествующими или в сочетании с одним или несколькими противоопухолевыми агентами или методами лечения злокачественной опухоли. Противоопухолевые агенты могут включать, без ограничения указанным, химиотерапевтические агенты, радиотерапевтические агенты, цитокины,

ингибиторы иммунных контрольных точек, антиангиогенные агенты, агенты, индуцирующие апоптоз, противоопухолевые антитела и/или антициклин-зависимые киназные агенты. В некоторых воплощениях методы лечения рака могут включать химиотерапию, биологическую терапию, лучевую терапию, иммунотерапию, гормональную терапию, противососудистую терапию, криотерапию, токсинотерапию и/или хирургическое вмешательство или их комбинации. В некоторых воплощениях способы по настоящему раскрытию могут включать введение рекомбинантного вируса, раскрытого в настоящей заявке, с последующим, перед или в сочетании с введением модифицированного онколитического вируса по настоящему раскрытию.

[0074] В некоторых воплощениях лечение с использованием рекомбинантного онколитического вируса можно применять отдельно или в сочетании с одним или несколькими иммуномодулирующими агентами. Иммуномодулирующий агент может включать любое соединение, молекулу или вещество, способное подавлять противовирусный иммунитет, связанный с опухолью или злокачественной опухолью. В некоторых воплощениях иммуномодулирующий агент может быть способен подавлять врожденный иммунитет или адаптивный иммунитет к модифицированному вирусу. Неограничивающие примеры иммуномодулирующих агентов включают анти-CD33 антитело или его вариабельную область, анти-CD11b антитело или его вариабельную область, ингибитор COX2, например, целекоксиб, цитокины, такие как IL-12, GM-CSF, IL-2 (имеющие аминокислотную последовательность, как указано в SEQ ID NO: 33 или 34), IFN β и IFN-g, а также хемокины, такие как MIP-1, MCP-1 и IL-8. В некоторых воплощениях иммуномодулирующий агент может включать модуляторы иммунных контрольных точек, такие как, без ограничения указанным, анти-CTLA4, анти-PD-1 и анти-PD-L1 и агонисты TLR (например, Поли I:C). В некоторых примерах иммуномодулирующий агент может включать ингибитор иммунной контрольной точки, такой как антагонист PD-1 (например, антитело-антагонист, которое связывается с PD-1), антагонист PD-L1 (например, антитело-антагонист, которое связывается с PD-L1), антагонист CTLA-4 (например, антитело-антагонист, которое связывается с CTLA-4), антагонист A2AR (например, антитело-антагонист, которое связывается с A2AR), антагонист B7-H3 (например, антитело-антагонист, которое связывается с B7-H3), антагонист B7-H4 (например, антитело-антагонист, которое связывается с B7-H4), антагонист BTLA (например, антитело-антагонист, которое связывается с BTLA), антагонист IDO (например, антитело-антагонист, которое связывается с IDO), антагонист KIR (например, антитело-антагонист, которое связывается с KIR), антагонист LAG3 (например, антитело-антагонист, которое связывается с LAG3), антагонист TIM-3

(например, антитело-антагонист, связывающееся с TIM3). В некоторых воплощениях дополнительная терапия может включать введение регулятора иммунных контрольных точек. В одном примере регулятором иммунной контрольной точки может быть TGN1412. В одном примере регулятором иммунной контрольной точки может быть NKTR-214. В одном примере регулятором иммунной контрольной точки может быть MEDI0562. В одном примере регулятором иммунной контрольной точки может быть MEDI6469. В одном примере регулятором иммунной контрольной точки может быть MEDI6383. В одном примере регулятором иммунной контрольной точки может быть JTX-2011. В одном примере регулятором иммунных контрольных точек может быть пембролизумаб. В одном примере регулятором иммунных контрольных точек может быть ниволумаб. В одном примере регулятором иммунных контрольных точек может быть ипилимумаб. В одном примере регулятором иммунных контрольных точек может быть тремелиумаб. В одном примере регулятором иммунных контрольных точек может быть атезолизумаб. В одном примере регулятором иммунной контрольной точки может быть MGA271. В одном примере регулятором иммунных контрольных точек может быть индоксимод. В одном примере регулятором иммунных контрольных точек может быть эпакадостат. В одном примере регулятором иммунных контрольных точек может быть лирилумаб. В одном примере регулятором иммунной контрольной точки может быть BMS-986016. В одном примере регулятором иммунной контрольной точки может быть MPDL3280A. В одном примере регулятором иммунных контрольных точек может быть авелумаб. В одном примере регулятором иммунных контрольных точек может быть дурвалумаб. В одном примере регулятором иммунной контрольной точки может быть MEDI4736. В одном примере регулятором иммунной контрольной точки может быть MEDI4737. В одном примере регулятором иммунной контрольной точки может быть TRX518. В одном примере регулятором иммунной контрольной точки может быть МК-4166. В одном примере регулятором иммунной контрольной точки может быть урелумаб (BMS-663513). В одном примере регулятором иммунной контрольной точки может быть PF-05082566 (PF-2566).

[0075] В некоторых примерах, когда дальнейшая терапия представляет собой облучение, примерные дозы могут составлять от 5000 рад (50 Гр) до 100 000 рад (1000 Гр) или 50 000 рад (500 Гр) или другие подходящие дозы в указанных диапазонах. Альтернативно, доза облучения может составлять от около 30 до 60 Гр, от около 40 до около 50 Гр, от около 40 до 48 Гр или около 44 Гр или других подходящих доз в указанных диапазонах, причем доза определяется, например, с помощью дозиметрического исследования, как описано выше. Используемый в данном документе

термин «Гр» может относиться к единице удельной поглощенной дозы радиации, равной 100 рад. Гр — это сокращение от «Грэй».

[0076] В некоторых примерах, когда дополнительной терапией является химиотерапия, типичные химиотерапевтические агенты могут включать, без ограничения указанным, алкилирующие агенты (например, производные азотистого иприта, этиленимины, алкилсульфонаты, гидразины и триазины, нитрозомочевины и соли металлов), растительные алкалоиды (например, алкалоиды барвинка, таксаны, подофиллотоксины и аналоги камптотекана), противоопухолевые антибиотики (например, антрациклины, хромомицины и т.п.), антиметаболиты (например, антагонисты фолиевой кислоты, антагонисты пиримидина, антагонисты пурина и ингибиторы аденозиндезаминазы), ингибиторы топоизомеразы I, ингибиторы топоизомеразы II и различные противоопухолевые средства (например, ингибиторы рибонуклеотидредуктазы, ингибиторы адренокортикальных стероидов, ферменты, антимикротрубочковые агенты и ретиноиды). Типичные химиотерапевтические агенты могут включать, без ограничения указанным, анастрозол, бикалутамид, блеомицин сульфат, бусульфан, инъекцию бусульфана, капецитабин, N4-пентоксикарбонил-5-дезоксидеозид-5-фторцитидин, карбоплатин, кармустин, хлорамбуцил, цисплатин, кладрибин, циклофосфамид, цитарабин, цитозин, арабинозид, липосомы для инъекций цитарабина, дакарбазин, дактиномицин, гидрохлорид даунорубицина, липосомы для инъекций даунорубицина цитрата, дексаметазон, доцетаксел, гидрохлорид доксорубицина, этопозид, флударабина фосфат, 5-фторурацил, флутамид, тезацитибин, гемцитабин (дифтордезоксидцитидин), гидроксимочевина, Идарубицин, ифосфамид, иринотекан, L-аспарагиназа, лейковорин кальция, мелфалан, 6-меркаптопурин, метотрексат, митоксантрон, милотарг, паклитаксел, феникс, пентостатин, полифепросан 20 с имплантатом кармустина, цитрат тамоксифена, тенипозид, 6-тиогуанин, тиотепа, тирапазамин, топотекан гидрохлорид для инъекций, винбластин, винкристин и винорелбин, ибрутиниб, иделалисиб и брентуксимаб ведотин.

[0077] Типичные алкилирующие агенты могут включать, без ограничения указанным, азотистые иприты, производные этиленимины, алкилсульфонаты, нитрозомочевины и триазины, такие как: урациловый иприт, хлорметин, циклофосфамид, ифосфамид, мелфалан, хлорамбуцил, пипоброман, триэтиленмеламин, триэтилтиофосфорамин, темозоломид, тиотепа, бусульфан и дакарбазин. Дополнительные примеры алкилирующих агентов включают, без ограничения указанным, оксалиплатин, темозоломид, дактиномицин, L-ПАМ, L-сарколизин, гексаметилмеламин, кармустин, бендамустин, бусульфан; карбоплатин, ломустин, цисплатин, хлорамбуцил,

циклофосфамид, дакарбазин, альтретамин, ифосфамид, преднумустин, прокарбазин, мехлоретамин, стрептозоцин, тиотепа, циклофосфамид; и бендамустин HCl.

[0078] Типичные антрациклины могут включать, без ограничения указанным, например, доксорубицин, блеомицин, даунорубицин, дауномицин, гидрохлорид рубидомицина, митоксантрон, эпирубицин, идарубицин, митомицин C, гелданамицин, гербимицин, равомицин и дезацетилравомицин.

[0079] Типичные алкалоиды барвинка могут включать, без ограничения указанным, винорелбина тартрат, винкристин, виндезин, винбластин; и винорелбин.

[0080] Типичными ингибиторами протеасом могут быть, без ограничения указанным, бортезомиб; карфилзомиб (PX-171-007, (S)-4-Метил-N-((S)-1-(((S)-4-метил-1-((R)-2-метилоксиран-2-ил) -1-оксопентан-2-ил)амино)-1-оксо-3-фенилпропан-2-ил)-2-((S)-2-(2-морфолиноак-этамидо)-4-фенилбутанамидо)-пентанамид), маризомиб (NPI-0052), цитрат иксазомиба, деланзомиб и О-метил-N-[(2-метил-5-тиазолил)карбонил]-L-серил-О-метил-N-[(1S)-2-[(2R)-2-метил-2-оксиранил]-2-оксо-1-(фенилметил)этил]-L-серинамид.

[0081] «В сочетании с», при использовании в настоящей заявке, может означать, что рекомбинантный вирус, такой как онколитический вирус осповакцины, как описано в настоящей заявке, или фармацевтическая композиция, содержащая его, и дополнительная терапия, такая как дополнительная терапия, включающая один или несколько агентов, вводят субъекту как часть схемы или плана лечения. В некоторых воплощениях при применении в сочетании может не потребоваться, чтобы рекомбинантный вирус и один или несколько агентов были физически объединены перед введением или чтобы они вводились в течение одного и того же периода времени. Например, но не в качестве ограничения, рекомбинантный вирус и один или несколько агентов можно вводить субъекту, подвергающемуся лечению, одновременно или последовательно, в любом порядке или в разные моменты времени.

[0082] Дополнительную терапию можно проводить в различных воплощениях в жидкой лекарственной форме, твердой лекарственной форме, суппозитории, ингаляционной лекарственной форме, интраназальной лекарственной форме, в липосомальном составе, лекарственной форме, содержащей наночастицы, лекарственной форме, содержащей микрочастицы, полимерной лекарственной форме или любых их комбинациях. В некоторых воплощениях дополнительную терапию проводят в течение периода от около 1 недели до около 2 недель, от около 2 недель до около 3 недель, от около 3 недель до около 4 недель, от около 4 недель до около 5 недель, от около 6 недель до около 4 недель, 7 недель, от около 7 недель до около 8 недель, от около 8 недель до около 9 недель, от около 9 недель до около 10 недель, от около 10 недель до около 11

недель, от около 11 недель до около 12 недель, от около 12 недель до около 24 недель от около 24 недель до около 48 недель, около 48 недель или около 52 недель или дольше. Частота введения дополнительной терапии в некоторых случаях может составлять один раз в день, два раза в день, один раз в неделю, один раз в три недели, один раз в четыре недели (или один раз в месяц), один раз в 8 недель (или один раз в 2 месяца), один раз в 12 недель (или раз в 3 месяца) или раз в 24 недели (раз в 6 месяцев). В некоторых воплощениях способ лечения субъекта, имеющего злокачественную опухоль, может включать введение субъекту эффективного количества рекомбинантного вируса, например, рекомбинантного вируса осповакцины по настоящему раскрытию. В некоторых воплощениях способы по настоящему раскрытию могут дополнительно включать введение субъекту эффективного количества одного или более агентов. Например, без ограничения указанным, агент может представлять собой противоопухолевый агент, иммуномодулирующий агент или любую их комбинацию, как описано выше. «Противоопухолевый агент», используемый в настоящей заявке, может представлять собой любую молекулу, соединение, химическое вещество или композицию, которая оказывает противоопухолевый эффект. Противоопухолевые агенты включают, без ограничения указанным, химиотерапевтические агенты, радиотерапевтические агенты, цитокины, ингибиторы иммунных контрольных точек, антиангиогенные агенты, индуцирующие апоптоз агенты, противоопухолевые антитела и/или антициклин-зависимые киназные агенты.

Дополнительные воплощения

[0083] В настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, содержащие модификацию вирусного генома, причем указанная модификация включает по меньшей мере одно из: делеции или функциональной делеции эндогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС класса II; вставку экзогенной нуклеиновой кислоты, которая приводит к активации или усиленной активации презентации МНС класса II; и вставку экзогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС класса I, который действует полностью или преимущественно внутри инфицированной клетки. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, содержащие делецию или функциональную делецию эндогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС класса II, причем делеция или функциональная делеция приводит к усилению презентации МНС класса II, и где онколитический вирус представляет собой вирус осповакцины. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, содержащие делецию или функциональную делецию эндогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС класса II,

причем делеция или функциональная делеция эндогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС класса II, включает делецию гена, кодирующего белок A35 вируса осповакцины. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых делеция или функциональная делеция гена, кодирующего белок A35 вируса осповакцины, представляет собой делецию или функциональную делецию гена WR158. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, модификация которых включает вставку экзогенной нуклеиновой кислоты, что приводит к активации или усиленной активации презентации МНС класса II, и где экзогенная нуклеиновая кислота кодирует: белок-ингибитор апоптоза или белок-активатор некротической гибели клеток; белок-усилитель аутофагии; аспарагинилэндопептидазу; трансактиватор класса II; интерферон-гамма; активатор Toll-подобного рецептора; или активатор созревания дендритных клеток. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, содержащие белок-усилитель аутофагии, где белок-усилитель аутофагии представляет собой HMGB1 или его функциональный домен или его вариант. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, содержащие активатор созревания дендритных клеток, причем активатор созревания дендритных клеток содержит остеопонтин, или TNF-альфа, или их функциональные фрагменты или варианты. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых кодируемый белок, повышающий регуляцию МНС II, объединен с последовательностью секреции, доменом клеточной пермеабилитации, или их комбинацией, для достижения положительной регуляции МНС II по всей опухоли. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, модификация которых включает вставку экзогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС класса I, и где вставка приводит к ингибированию или частичному ингибированию презентации МНС класса I. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых вставка экзогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС класса I, включает вставку гена, кодирующего один или несколько белков вируса коровьей оспы. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых вставка экзогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС класса I, включает вставку гена, кодирующего белок коровьей оспы CPXV012, или его функциональный фрагмент или вариант. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых вставка экзогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС класса I, включает вставку гена, кодирующего белок коровьей оспы CPXV203, или

его функциональный фрагмент или вариант. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых вставка экзогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС класса I, включает вставку гена, кодирующего по меньшей мере один из числа: белка ядерного антигена 1, кодируемого вирусом Эпштейна-Барр; белка ICP47, кодируемого вирусом простого герпеса; белка UL49.5, кодируемого вирусом простого герпеса; белков US6, US2, US3 или US11, кодируемого цитомегаловирусом человека (HCMV); белка BNLF2a, кодируемого вируса Эпштейна-Барр; белка E3-19K, кодируемого аденовирусом; белка Nef, кодируемого вирусом иммунодефицита человека или вирусом иммунодефицита обезьян; белка kK3, vIRF3 или kK5, кодируемого герпесвирусом, ассоциированным с саркомой Капоши; или доминантно-негативной формы IRF7 или IRF3. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых ингибитор МНС класса I содержит ингибитор TAP. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых ингибитор TAP действует полностью или преимущественно внутри инфицированных клеток. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых модификация вирусного генома снижает иммунный ответ, направленный на инфицированную вирусом опухолевую клетку, и увеличивает иммунный ответ, нацеленный на клетки, окружающие инфицированную вирусом опухолевую клетку. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых из вирусного генома удален ген тимидинкиназы. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, дополнительно содержащие экзогенную нуклеиновую кислоту, кодирующую гиалуронидазу. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых гиалуронидаза представляет собой PH-20 или HysA. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых онколитический вирус представляет собой вирус осповакцины, а вирус осповакцины представляет собой штамм вируса осповакцины Western Reserve (ATCC VR-1354), штамм Copenhagen, штамм IND, штамм Wyeth (ATCC VR-325), штамм NYCBON, штамм Tian Tan, штамм Lister, штамм Ankara (ATCC VR-1508 или ATCC VR1566), штамм USSR или штамм ACAM2000.

[0084] В настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, включающие модификацию вирусного генома, причем модификация включает делецию или функциональную делецию гена вируса осповакцины, кодирующего белок A35, и вставку экзогенного гена, кодирующего белок коровьей оспы CPXV012 или белок коровьей оспы CPXV203, при этом модификация такова, что вставка экзогенного гена,

кодирующего белок CPXV012 коровьей оспы, находится в локусе гена, кодирующего белок A35 вируса осповакцины, модификация которых такова, что вставка экзогенного гена, кодирующего белок CPXV203 коровьей оспы, находится в локусе гена, кодирующего белок A35 вируса осповакцины. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, дополнительно включающие дополнительную модификацию вирусного генома. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, дополнительная модификация которых включает по меньшей мере одно из числа: вставки экзогенной нуклеиновой кислоты, которая кодирует хемокиновый рецептор или функциональный домен, или его вариант; или вставки экзогенной нуклеиновой кислоты, которая кодирует цитокин или его функциональный домен или вариант. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, содержащие экзогенную нуклеиновую кислоту, которая кодирует цитокин или его функциональный домен или вариант, причем цитокин содержит по меньшей мере один из числа: интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-15/интерлейкина-15Ra (IL15/IL15Ra), интерлейкина-7 (IL-7) или их функционального домена или его варианта. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, дополнительная модификация которых включает вставку экзогенной нуклеиновой кислоты, которая кодирует гибридный белок, содержащий цитокин и белок-модулятор метаболизма. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, содержащие экзогенную нуклеиновую кислоту, которая кодирует хемокиновый рецептор или его функциональный домен или его вариант, причем хемокиновый рецептор содержит по меньшей мере один из числа: CXCR4, CCR2 или их функциональные домены или варианты. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых хемокиновый рецептор содержит CXCR4 или его функциональный домен, или его вариант. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых хемокиновый рецептор содержит CCR2 или его функциональный домен или вариант, где CCR2 содержит CCR2 дикого типа или мутированный CCR2. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых экзогенная нуклеиновая кислота, которая кодирует хемокиновый рецептор или его функциональный домен, или его вариант, содержит последовательность, оптимизированную по кодонам. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых экзогенная нуклеиновая кислота, которая кодирует хемокиновый рецептор или его функциональный домен или его вариант, содержит последовательность, не оптимизированную по кодонам. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются

рекомбинантные онколитические вирусы, дополнительная модификация которых включает мутацию или полную или частичную делецию вирусного гена, содержащего по меньшей мере один из числа: A52R, B15R, K7R, A46R, N1L, E3L, K1L, M2L, C16, N2R, B8R, B18R, Vh1 вируса осповакцины или их функционального домена или фрагмента или варианта, или любых их комбинаций. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых из вирусного генома удален ген тимидинкиназы. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, дополнительно содержащие экзогенную нуклеиновую кислоту, кодирующую гиалуронидазу. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются рекомбинантные онколитические вирусы, в которых гиалуронидаза представляет собой PH-20 или HysA. Кроме того, в данной заявке предлагаются композиции, в которых онколитический вирус представляет собой вирус осповакцины, а вирус осповакцины представляет собой штамм вируса осповакцины Western Reserve (ATCC VR-1354), штамм Copenhagen, штамм INH, штамм Wyeth (ATCC VR-325), штамм NYCBOH, штамм Tian Tan, штамм Lister, штамм Ankara (ATCC VR-1508 или ATCC VR1566), штамм USSR или штамм ACAM2000.

[0085] В настоящей заявке предлагаются иммуногенные композиции, содержащие рекомбинантный онколитический вирус согласно любым воплощениям, описанным в настоящей заявке.

[0086] В настоящей заявке предлагаются фармацевтические композиции, содержащие рекомбинантный онколитический вирус или иммуногенную композицию в соответствии с любыми воплощениями, описанными в настоящей заявке, и по меньшей мере одно из числа: солюбилизующего агента, эксципиента или фармацевтически приемлемого носителя. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются фармацевтические композиции, в которых эксципиент содержит один или несколько из числа буферного агента, стабилизатора, антиоксиданта, связующего вещества, разбавителя, диспергатора, агента, регулирующего скорость, смазочного вещества, скользящего вещества, разрыхлителя, пластификатора, консерванта или любых их комбинаций. Кроме того, в данной заявке предлагаются фармацевтические композиции, где эксципиент включает дигидрат гидрофосфата натрия, дигидрат дигидрофосфата натрия, хлорид натрия, миоинозитола, сорбитола или любых их комбинаций. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются фармацевтические композиции, где фармацевтическая композиция не содержит консервант. Кроме того, в данной заявке предлагаются фармацевтические композиции, дополнительно содержащие один или несколько из числа консерванта, разбавителя и носителя. Кроме того, в данной заявке предлагаются фармацевтические

композиции, дополнительно содержащие дополнительный активный ингредиент или его соль. Кроме того, в данной заявке предлагаются фармацевтические композиции, в которых солюбилизующий агент представляет собой стерильную воду. Кроме того, в данной заявке предлагаются фармацевтические композиции, дополнительно содержащие дополнительный активный ингредиент, причем дополнительный активный ингредиент представляет собой противоопухолевый агент или дополнительный онколитический вирус.

[0087] В настоящей заявке предлагаются способы снижения роста клетки злокачественной опухоли, иллюстративные способы, включающие введение в клетку злокачественной опухоли эффективного количества рекомбинантного онколитического вируса, иммуногенной композиции или фармацевтической композиции в соответствии с любыми воплощениями, описанными в настоящей заявке.

[0088] В настоящей заявке предлагаются способы регресса роста опухоли, иллюстративные способы включают введение в опухоль эффективного количества рекомбинантного онколитического вируса, иммуногенной композиции или фармацевтической композиции в соответствии с любыми воплощениями, описанными в настоящей заявке. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых опухоль находится у субъекта, и введение включает введение субъекту. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, включающие введение дополнительной терапии, причем дополнительная терапия включает химиотерапию, лучевую терапию, онколитическую вирусную терапию с дополнительным вирусом, лечение иммуномодулирующими белками, клеточную терапию CAR T, противоопухолевый агент или любые их комбинации. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых дополнительная терапия включает введение иммуномодулирующего агента, содержащего анти-CD33 антитело и его вариабельную область, анти-CD11b антитело и его вариабельную область, ингибитор COX2, цитокин, хемокин, анти-CTLA4 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, анти-PD-L1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или агонист TLR.

[0089] Способ лечения, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, эффективного количества рекомбинантного онколитического вируса, иммуногенной композиции или фармацевтической композиции в соответствии с любыми воплощениями, описанными в настоящей заявке. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, где введение включает внутриопухолевое введение. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, где введение включает системное введение. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых системное введение включает по

меньшей мере одно из: внутрибрюшинного введения, перорального введения, внутривенного введения, интраназального введения, сублингвального введения, ректального введения, чрескожного введения или любой их комбинации. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых субъект имеет злокачественную опухоль, и где злокачественная опухоль представляет собой по меньшей мере одну из числа: меланомы, гепатоцеллюлярной карциномы, рака молочной железы, рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, рака брюшины, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака яичников, лейкоза, лимфомы, почечно-клеточного рака, рака поджелудочной железы, эпителиальной карциномы, аденокарциномы желудка/перехода желудок-пищевод, рака шейки матки, рака толстой кишки, колоректального рака, рака двенадцатиперстной кишки, аденокарциномы поджелудочной железы, адено-кистозной опухоли, саркомы, мезотелиомы, мультиформной глиобластомы, астроцитомы, множественной миеломы, карциномы предстательной железы, гепатоцеллюлярной карциномы, холангиокарциномы, аденокарциномы поджелудочной железы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, плоскоклеточной карциномы шейки матки, остеосаркомы, эпителиальной карциномы яичника, острой лимфобластной лимфомы, миелопролиферативного новообразования или любой их комбинации. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых рекомбинантный онколитический вирус, иммуногенную композицию или фармацевтическую композицию вводят в дозе, которая составляет от около 10^6 БОЕ/мл до около 10^{10} БОЕ/мл рекомбинантного вируса осповакцины. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых рекомбинантный онколитический вирус или фармацевтическую композицию вводят в дозе, которая составляет около 3×10^9 БОЕ/мл рекомбинантного вируса осповакцины. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых рекомбинантный онколитический вирус, иммуногенную композицию или фармацевтическую композицию вводят независимо в начальной дозе в течение первого периода времени, промежуточной дозе в течение второго периода времени и высокой дозе в течение третьего периода времени. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, включающие введение начальной, промежуточной и высокой дозы независимо, при этом начальная доза ниже, чем промежуточная доза, а промежуточная доза ниже, чем высокая доза. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых рекомбинантный онколитический вирус, иммуногенную композицию или фармацевтическую композицию вводят независимо в высокой дозе в течение первого периода времени, промежуточной дозе в течение второго периода времени и низкой дозе в течение третьего периода времени. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, включающие введение начальной,

промежуточной и низкой дозы независимо, при этом начальная доза выше, чем промежуточная доза, а промежуточная доза выше, чем низкая доза. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых первый, второй и третий периоды времени каждый составляют около 1 дня, около 2 дней, около 3 дней, около 4 дней, около 5 дней, около 6 дней, около 1 недели, около 2 недель, около 3 недель, около 4 недель, около 6 недель, около 7 недель, около 8 недель, около 9 недель, около 10, недель, около 12 недель, около 4 месяцев, около 5 месяцев, около 6 месяцев, около 7 месяцев, около 8 месяцев, около 9 месяцев, около 10 месяцев, около 11 месяцев или около 1 года. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых рекомбинантный онколитический вирус, иммуногенная композиция или фармацевтическая композиция независимо включают жидкую лекарственную форму, которую вводят в объеме от около 1 мл до около 5 мл, от около 5 мл до около 15 мл, от около 20 мл до около 20 мл, от около 25 мл до около 30 мл, от около 30 мл до около 50 мл, от около 50 мл до около 100 мл, от около 100 мл до около 150 мл, от около 150 мл до около 200 мл, от около 200 мл до около 250 мл, от около 250 до около 300 мл, от около 300 до около 350 мл, от около 350 до около 400 мл, от около 400 до около 450 мл, от около 450 до около 500 мл, от около 500 до около 750 мл, или от около 750 мл до 1000 мл. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых рекомбинантный онколитический вирус, иммуногенную композицию или фармацевтическую композицию вводят в жидкой лекарственной форме, твердой лекарственной форме, ингаляционной лекарственной форме, интраназальной лекарственной форме, липосомальном составе, лекарственной форме, содержащей наночастицы, лекарственной форме, содержащей микрочастицы, полимерной лекарственной форме или любой их комбинации. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых рекомбинантный онколитический вирус, иммуногенную композицию или фармацевтическую композицию вводят в течение около 1 дня, около 2 дней, около 3 дней, около 4 дней, около 5 дней, около 6 дней, около 1 недели, около 2 недель, около 3 недель, около 4 недель, около 6 недель, около 7 недель, около 8 недель, около 9 недель, около 10 недель, около 12 недель, около 4 месяцев, около 5 месяцев, около 6 месяцев, около 7 месяцев, около 8 месяцев, около 9 месяцев, около 10 месяцев, около 11 месяцев или около 1 года. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых рекомбинантный онколитический вирус, иммуногенную композицию или фармацевтическую композицию вводят один раз в день, два раза в день, один раз в неделю, один раз в две недели или один раз в три недели. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых рекомбинантный онколитический вирус, иммуногенную композицию или фармацевтическую композицию вводят в виде болюсной

инъекции или медленной инфузии. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых введение рекомбинантного онколитического вируса, иммуногенной композиции или фармацевтической композиции приводит к первому пику вирусной нагрузки через период от около 1 часа до около 3 дней и ко второму пику вирусной нагрузки через период от около 3 дней до около 10 дней после введения первой дозы. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, включающие введение дополнительной терапии, при этом дополнительную терапию проводят в течение около 1 дня, около 2 дней, около 3 дней, около 4 дней, около 5 дней, около 6 дней, около 1 недели, около 2 недель, около 3 недель, около 4 недель, около 6 недель, около 7 недель, около 8 недель, около 9 недель, около 10 недель или около 12 недель. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых дополнительную терапию проводят один раз в день, два раза в день, один раз в 1 день, один раз в 2 дня, один раз в 3 дня, один раз в 4 дня, один раз в 5 дней, один раз в 6 дней, один раз в 1 неделя, один раз в 2 недели, один раз в 3 недели, один раз в 4 недели, один раз в 6 недель, один раз в 7 недель, один раз в 8 недель, один раз в 9 недель, один раз в 10 недель, один раз в 12 недель, один раз каждые 4 месяца, один раз в 5 месяцев, один раз в 6 месяцев, один раз в 7 месяцев, один раз в 8 месяцев, один раз в 9 месяцев, один раз в 10 месяцев, один раз в 11 месяцев или один раз в 1 год. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых дополнительную терапию вводят в виде жидкой лекарственной формы, твердой лекарственной формы, лекарственной формы для ингаляции, интраназальной лекарственной форме, липосомального состава, дозированной формы, содержащей наночастицы, лекарственной формы, содержащей микрочастицы, полимерной лекарственной формы или любой их комбинации. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых дополнительную терапию проводят в жидкой лекарственной форме, твердой лекарственной форме, лекарственной форме для ингаляции, интраназальной лекарственной форме, липосомальном составе, лекарственной форме, содержащей наночастицы, лекарственной форме, содержащей микрочастицы, полимерной лекарственной форме или любой их комбинации. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых дополнительную терапию вводят перорально, внутривенно, посредством внутриопухолевой инъекции, внутрибрюшинной инъекции или посредством облучения. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых дополнительная терапия включает химиотерапию, лучевую терапию, онколитическую вирусную терапию с дополнительным вирусом, лечение иммуномодулирующими белками, клеточную терапию CAR T, противоопухолевый агент или любые их комбинации. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в

которых дополнительная терапия включает введение иммуномодулирующего агента, содержащего анти-CD33 антитело и его вариабельную область, анти-CD11b антитело и его вариабельную область, ингибитор COX2, цитокин, хемокин, анти-CTLA4 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, анти-PD-L1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или агонист TLR. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых дополнительная терапия включает введение противоопухолевого агента, причем противоопухолевый агент представляет собой химиотерапевтический агент. Кроме того, в настоящей заявке предлагаются способы, в которых субъектом является человек.

ПРИМЕРЫ

[0090] Приведенные ниже примеры дополнительно иллюстрируют описанные воплощения, не ограничивая объем данного раскрытия.

Пример 1: Модель опухоли

[0091] Рекомбинантный вирус осповакцины анализировали по сравнению с тем же штаммом вируса без модификации, как описано в данном документе, в системе модели опухоли. В таблице ниже перечислены вирусы для тестирования и модификации их вирусного генома:

Таблица 1

МОДЕЛЬ	Уникальный идентификатор UID	ОПИСАНИЕ
Модель опухоли B16	WO0416N	A52R- mut CXCR4 ТК-
	WO0434N	A52R- mut CXCR4 ТК- 158- сpx012+
	HCCTKM	WR.ТК-
	VFB	Буфер, содержащий носитель

[0092] В таблице 1 выше показано, что в исследовании использовали рекомбинантный вирус осповакцины WO0434N (обозначенный как A52R-mutCXCR4 ТК-158-сpx012+) и референсный вирус осповакцины WO0416N (A52R-mutCXCR4 ТК-). Модификация WO0434N заключалась в удалении гена ТК и замене гена A52 мутантом CXCR4, управляемым P7.5, и замене гена A35 (WR158) геном CPXV012 вируса коровьей оспы. Референсный вирус осповакцины WO0416N имел делецию гена ТК и замену гена A52 мутантным CXCR4, управляемым P7.5. Контролем служил штамм вируса осповакцины Western Reserve, отрицательный по тимидинкиназе (WR.ТК-) (HCCTKM) и буфер, содержащий носитель (VFB). Нуклеотидная последовательность промотора P7.5 определяется SEQ ID NO: 1. Нуклеотидная последовательность мутантного гена CXCR4 определяется SEQ ID NO: 15. Нуклеотидная последовательность CPXV012 определяется SEQ ID NO: 2. Исследование проведено на модели опухоли B16. Объемы опухолей

измеряли через 17 дней после введения вируса для каждой группы и контроля. Результаты, как показано на Фиг. 1 демонстрируют усиление терапевтической активности вируса WO0434N по сравнению с референсным вирусом WO0416N или контрольными НССТКМ и VFB.

Пример 2: Характеризация штамма

[0093] Чтобы оценить, является ли данный вирус репликационно-компетентным или репликационно-дефектным в определенном типе клеток, способность к репликации рекомбинантного вируса осповакцины оценивали с помощью ПЦР-анализа с использованием сыворотки млекопитающего или грызуна, инфицированного рекомбинантным вирусом, анализа вирусных бляшек или любых их комбинаций. Для анализа вирусных бляшек конфлуентные монослои чувствительных клеток во флаконах для тканевых культур инфицировали вирусом осповакцины. После инкубации наблюдали цитопатические эффекты (ЦПЭ), которые визуализируются через образование ореола или кругового просветления клеточного монослоя. Среду для культивирования клеток заменяли раствором, повышающим вязкость. Заменяемый раствор включает желатин или карбоксиметилцеллюлозу. Анализы вирусных бляшек визуализировали путем окрашивания агентом, который увеличивает контрастность клеток на глаз или с помощью микроскопии. Инкубация после заражения может длиться от 4 до 48 часов, прежде чем можно будет увидеть бляшки. Краситель – Crystal Violet. Для анализов на основе ПЦР, содержание вируса осповакцины количественно определяли с использованием подходов, основанных на кПЦР.

Пример 3: Ингибирование роста опухоли

[0094] Анализы на животных проводили на мышинных моделях злокачественной опухоли для оценки влияния описанных в данном документе композиций на рост опухоли. Вкратце, модифицированные вирусы осповакцины вводили внутриопухолево (ВО) мышам с опухолями Rensa и EMT6.

[0095] Модифицированные вирусы осповакцины оценивали по сравнению с буфером, составленным на основе носителя (VFB). Группу 1 обрабатывали модифицированным вирусом осповакцины, содержащим делецию гена ТК, вставку нуклеиновой кислоты, кодирующей белок V012 вируса коровьей оспы (CPXV012) (SEQ ID NO: 2), промотор P7.5 (SEQ ID NO: 1) и последовательность loxP (SEQ ID NO: 35). Группу 2 обрабатывали модифицированным вирусом осповакцины, содержащим делецию гена WR158, вставку нуклеиновой кислоты, кодирующей белок CPXV012 (SEQ ID NO: 2), промотор P7.5 (SEQ ID NO: 1) и последовательность loxP (SEQ ID NO: 35). Группу 3 обрабатывали вирусом осповакцины, содержащим делецию гена ТК и вставку

нуклеиновой кислоты, кодирующей доминантно-негативный фактор регуляции интерферона 7 (dnIRF7, SEQ ID NO: 36). Группу 4 обрабатывали модифицированным вирусом осповакцины, содержащим делецию гена ТК и вставку нуклеиновой кислоты, кодирующей фактор 3 вирусного регулятора интерферона (vIRF3, SEQ ID NO: 38).

[0096] Мышам Balb/c подкожно имплантировали опухоли из клеток RENCA или клеток ЕМТ6. Мышей разделили на группы по 10. В опухоли вводили однократную дозу 1×10^7 БОЕ модифицированного вируса осповакцины или контрольного носителя.

[0097] Объемы опухолей у мышей с опухолями Rensa измеряли через 23 дня, как показано на Фиг. 2А. Группы, обработанные вирусом, экспрессирующим V012 и vIRF3 вируса коровьей оспы, показали наиболее эффективное уменьшение объема опухоли Rensa.

[0098] Объемы опухолей у мышей с опухолями ЕМТ6 измеряли через 27 дней, как показано на Фиг. 2В. Группы, обработанные вирусом, экспрессирующим V012 и dnIRF7 вируса коровьей оспы, показали наиболее эффективное уменьшение объема опухоли ЕМТ6.

[0099] Хотя предпочтительные воплощения настоящего изобретения были показаны и описаны в данном документе, специалисту в данной области будет очевидно, что такие воплощения представлены только в качестве примера. Множество вариаций, изменений и замен в настоящее время могут внесены этими специалистами без отхода от изобретения. Следует понимать, что различные альтернативы воплощений изобретения, описанных в данном документе, могут применяться при практическом осуществлении изобретения. Подразумевается, что представленная ниже формула изобретения определяет рамки изобретения, и что способы и структуры в рамках данной формулы изобретения и их эквиваленты будут охвачены посредством этого.

Таблица 2: Последовательности

SEQ ID NO:	НАЗВАНИЕ БЕЛКА/НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ
1	Промотор P7.5 (ДНК)	TCACTAATTCCAAACCCACCCGCTTTTTATAGTAAGTTTTTCACC CATAAATAATAAATACAATAATTAATTTCTCGTAAAAGTAGAA AATATATTCTAATTTATTGCACGGTAAGGAAGTAGATCATAA
2	CPXV012 (ДНК)	ATGTTTCATCATGCGCGAGAGCATTACCGCGTGATGATTGTCAT TTTGATTTGAGCTTGATTTCTTCGTTTTTGGTTATCTGCTSTATG GAGCACGGCTACTTCCAGGAGGGCATCAGCCGCTTCAAGATTT GTCCSTATCATTTGGTATAAACAACACATGAGTTTATTGTTTCGT CGTACTATCACAAGCTGGATAGTATCATCTAG
3	CPXV012 (полипептид)	MFIMRESIYRVMIVILYLSLISSFLVICSMENGYFQEGISRFKICPYH WYKQHMSLLFRRYYHKLDSII

SEQ ID NO:	НАЗВАНИЕ БЕЛКА/НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ
4	HMGB1 (человек, мутант, ДНК)	GGCAAAGGAGATCCTAAGAAGCCGAGAGGCCAAAATGTCATCATATGCATTCTTCGTGCAAACCTTGTCCGGGAGGAGCATAAGAAGAAGCACCCAGATGCTGCAGTCAACTTCGCTGAGTTTGCAAAGAAGTGCCTGAGAGGTGGAAGACCATGGCAGCTAAAGAGAAAGGAAAAATTTGAAGATATGGCAAAAAGCGGACAAGGCCCGTTATGAAAGAGAAATGAAAACCTATATCCCTCCCAAAGGGGAGACAAAAAGAA GTTCAAGGACCCCAATGCACCCAAGAGGCCTCCTTCGGCCTTCTT CCTCTTCTGCTCTGAGTATCGCCCAAAAATCAAAGGAGAACATC CTGGCCTGTCCATTGGTGTATGTTGCGAAGAACTGGGAGAGATG TGAATAAACTGCTGCAGATGACAAGCAGCCTTATGAAAAGAA GGCTGCGAAGCTGAAGGAAAAATATGAAAAGGATATTGCTGCAT ATCGAGCTAAAGGAAAGCCTGATGCAGCAAAAAGGGAGTTGT CAAGGCTGAAAAGCGAAGAAAAAGGAAGGAAGAGGAGGAAGA TGAGGAAGATGAAGAGGATGAGGAGGAGGAGGAAGATGAAGA AGATGAAGATGAAGAAGAAGATGATGATGATGAATAA
5	HMGB1 (человек, мутант, белок)	GKGDPKKPRGKMSSYAFFVQTCREHNKKKHPDAAVNFAEFAKKCA ERWKTMAAKEKGFEDMAKADKARYEREMKTYIPPKGETKKKFK DPNAPKRPPSAFFLFCSEYRPKIKGEHPGLSIGDVAKKLGEMWNNT AADDKQPYEKKA AKLKEKYEKDIAAYRAKGPDAAKKGVVKA EKAKKKKEEEDEEEDDEEEDEEEDEEEDDDDE
6	Сигнальная последовательность из IgE (ДНК)	ATGGACTGGACATGGATTCTCTTTCTAGTGGCCGCAGCCACAAG GTCCACTCC
7	Сигнальная последовательность из IgE (полипептид)	MDWTWILFLVAAATRVHS
8	HMGB1 с сигнальной последовательностью из IgE (человек, мутант, ДНК)	ATGGACTGGACATGGATTCTCTTTCTAGTGGCCGCAGCCACAAG GTTCCACTCCGGCAAAGGAGATCCTAAGAAGCCGAGAGGCCAAA ATGTCATCATATGCATTCTTCGTGCAAACCTTGTCCGGGAGGAGCAT AAGAAGAAGCACCCAGATGCTGCAGTCAACTTCGCTGAGTTTGC AAAGAAGTGCCTGAGAGGTGGAAGACCATGGCAGCTAAAGAG AAAGGAAAATTTGAAGATATGGCAAAAAGCGGACAAGGCCCGTT ATGAAAGAGAAAATGAAAACCTATATCCCTCCCAAAGGGGAGAC AAAAAAGAAGTTCAAGGACCCCAATGCACCCAAGAGGCCTCCTT CGGCCTTCTTCTTCTGCTCTGAGTATCGCCCAAAAATCAAAG GAGAACATCCTGGCCTGTCCATTGGTGTATGTTGCGAAGAACTG GGAGAGATGTGGAATAAACTGCTGCAGATGACAAGCAGCCTTA TGAAGAAGGCTGCGAAGCTGAAGGAAAAATATGAAAAGGAT ATTGCTGCATATCGAGCTAAAGGAAAGCCTGATGCAGCAAAAAA GGGAGTTGTCAAGGCTGAAAAGCGAAGAAAAAGGAAGGAAGAG GAGGAAGATGAGGAAGATGAAGAGGATGAGGAGGAGGAGGAA GATGAAGAAGATGAAGATGAAGAAGAAGATGATGATGATGAAT AA
9	HMGB1 с сигнальной последовательностью из IgE (человек, мутант, полипептид)	MDWTWILFLVAAATRVHSGKGDPPKPRGKMSSYAFFVQTCREHN KKKHPDAAVNFAEFAKKCAERWKTMAAKEKGFEDMAKADKAR YEREMKTYIPPKGETKKKFKDPNAPKRPPSAFFLFCSEYRPKIKGEH PGLSIGDVAKKLGEMWNNTAADDKQPYEKKA AKLKEKYEKDIAA YRAKGPDAAKKGVVKA EKAKKKKEEEDEEEDDEEEDEEEDEE DEEEDDDDE
10	IL15 (человек, полипептид)	MRISKPHLRSISIQCYLCLLNHSHFLTEAGIHVFILGCFSAAGLPKTEAN WVNVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVTAMKCFLELQ VISLESGDASIHDTVENLIILANNSLSSNGNVTESGCKECELEEKNK

SEQ ID NO:	НАЗВАНИЕ БЕЛКА/НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ
		EFLQSFVHIVQMFINTS
11	IL-7 (мышь, ДНК)	ATGTTCCATGTTTCTTTTAGATATATCTTTGGAATTCCTCCACTGATCCTTGTCTGCTGCCTGTACATCATCTGAGTGCCACATTAAGACAAAGAAGGTAAGCATATGAGAGTGTACTGATGATCAGCATC GATGAATTGGACAAAATGACAGGAAGTATAGTAATTGCCCGAA TAATGAACCAAATTTTTTAGAAAAACATGTATGTGATGATACAA AGGAAGCTGCTTTTCTAAATCGTGCTGCTCGCAAGTTGAAGCAA TTTCTTAAAATGAATATCAGTGAAGAATTCATGTCCACTTACTA ACAGTATCACAAGGCACACAAACACTGGTGAAGTGCACAAGTAA GGAAGAAAAAACGTAAAGGAACAGAAAAAGAAATGATGCATGT TTCTTAAAGAGACTACTGAGAGAAATAAAAACCTTGTGGAATAA AATTTTGAAGGGCAGTATATAA
12	IL-7 (человек, ДНК)	ATGTTCCATGTTTCTTTTAGGTATATCTTTGGACTTCCTCCCCTGA TCCTTGTCTGTTGCCAGTAGCATCATCTGATTGTGATATTGAAG GTAAAGATGGCAAACAATATGAGAGTGTCTAATGGTCAGCATC GATCAATTATTGGACAGCATGAAAGAAATTGGTAGCAATTGCCT GAATAATGAATTTAACTTTTTTAAAAGACATATCTGTGATGCTAA TAAGGAAGGTATGTTTTTATTCCGTGCTGCTCGCAAGTTGAGGCA ATTTCTTAAAATGAATAGCACTGGTGATTTTGATCTCCACTTATT AAAAGTTTCAGAAGGCACAACAATACTGTTGAACTGCACTGGCC AGGTTAAAGGAAGAAAACCAGCTGCCCTGGGTGAAGCCCAACC AACAAAGAGTTTGGGAAGAAAATAAATCTTTAAAGGAACAGAAA AAAGTGAATGACTTGTGTTTCTTAAAGAGACTATTACAAGAGAT AAAAATTTGTTGGAATAAAATTTTGATGGGCACTAAAGAACA CT GA
13	IL-7 (мышь, белок)	MFHVSFRYIFGIPPLILVLLPVTSSSECHIKDKEGKAYESVLMISIDELD KMTGTDSNCPNNEPNFRKHVCDTKEA AFLNRAARKLKQFLKMN ISEEFNVHLLTVSQTQLVNCTSKEEKNVKEQKKNDACFLKRLLR EIKTCWNKILKGS
14	IL-7 (человек, белок)	MFHVSFRYIFGLPPLILVLLPVASSDCDIEGKDGKQYESVLMVSIQDL LDSMKEIGSNCLNNEFNFRKHIC DANKEGMFLFRAARKLRQFLKMN NSTGDFDLHLLKVSEGTILLNCTGQVKGRKPAALGEAQPTKSLEE NKSLKEQKLNLDL CFLKRLLEIKTCWNKILMGTKEH
15	CXCR4 (Y157A, человек, ДНК)	ATGGAGGGGATCAGTATATACACTTCAGATAACTACACCGAGGA AATGGGCTCAGGGACTATGACTCCATGAAGGAACCCTGTTTCC GTGAAGAAAATGCTAATTTCAATAAAATCTTCTGCCCACCATCT ACTCCATCATCTTCTTAACTGGCATTGTGGGCAATGGATTGGTCA TCCTGGTCATGGGTTACCAGAAGAACTGAGAAGCATGACGGAC AAGTACAGGCTGCACCTGTCAGTGGCCGACCTCCTCTTTGTCATC ACGCTTCCCTTCTGGGCAGTTGATGCCGTGGCAAACCTGGTACTTT GGAACCTTCTATGCAAGGCAGTCCATGTCATCTACACAGTCAA CCTCTACAGCAGTGTCTCATCCTGGCCTTATCAGTCTGGACCG CTACCTGGCCATCGTCCACGCCACCAACAGTCAGAGGCCAAGGA AGCTGTTGGCTGAAAAGGTGGTCGCTGTTGGCGTCTGGATCCCT GCCCTCCTGCTGACTATTCCCGACTTCATCTTTGCCAACGTCAGT GAGGCAGATGACAGATATATCTGTGACCGCTTCTACCCCAATGA CTTGTGGGTGGTTGTGTTCCAGTTTTCAGCACATCATGGTTGGCT TATCCTGCCTGGTATTGTATCCTGTCCTGCTATTGCATTATCATC TCCAAGCTGTCACACTCCAAGGGCCACCAGAAGCGCAAGGCCCT CAAGACCACAGTATCCTCATCCTGGCTTTCTTCGCTGTTGGCT GCCTTACTACATTGGGATCAGCATGACTCCTTATCCTCCTGGA AATCATCAAGCAAGGGTGTGAGTTTGAGAACAACACTGTGCACAAGT GGATTTCCATCACCGAGGCCCTAGCTTTCTTCCACTGTTGTCTGA ACCCATCCTCTATGCTTCTTGGAGCCAAATTTAAAACCTCTG

SEQ ID NO:	НАЗВАНИЕ БЕЛКА/НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ
		CCCAGCACGCACTCACCTCTGTGAGCAGAGGGTCCAGCCTCAAGATCCTCTCCAAAGGAAAGCGAGGTGGACATTTCATCTGTTTCCACTGAGTCTGAGTCTTCAAGTTTTCACTCCAGCTAA
16	СХСR4 (Y159A, мышь, ДНК)	ATGGAACCGATCAGTGTGAGTATATACACTTCTGATAACTACTCTGAAGAAGTGGGTTCTGGAGACTATGACTCCAACAAGGAACCCTGCTTCCGGGATGAAAACGTCCATTTCAATAGGATCTTCTGCCACCATCTACTTTCATCATCTTCTTGACTGGCATAAGTTCGGCAATGGATTGGTGATCCTGGTCATGGGTTACCAGAAGAAGCTAAGGAGCATGACGGACAAGTACCGGCTGCACCTGTGAGTGGCTGACCTCCTCTTTGTCATCACACTCCCCTTCTGGGCAGTTGATGCCATGGCTGACTGGTACTTTGGGAAATTTTTGTGTAAGGCTGTCCATATCATCTACACTGTCAACCTCTACAGCAGCGTTCTCATCCTGGCCTTCATCAGCCTGGACCGATACCTCGTATTGTCCACGCCACCAACAGTCAGAGGCCAAGGAACTGCTGGCTGAAAAGGCAGTCGCTGTGGGCGTCTGGATCCCAGCCCTCCTCCTGACTATACCTGACTTCATCTTTGCCGACGTGAGCCAGGGGGACATCAGTCAGGGGGATGACAGGTACATCTGTGACCGCCTTTACCCCGATAGCCTGTGGATGGTGGTGTTCATTCAGCATATAATGGTGGTCTCGTCTGCCCGGCATCGTCATCCTCTCCTGTTACTGCATCATCATCTCTAAGCTGTCACTCCAAGGGCCACCAGAAGCGCAAGGCCCTCAAGACGACAGTCATCCTCATCCTAGCTTTCTTTGCCTGCTGGCTGCCATATTATGTGGGGATCAGCATCGACTCCTTCATCCTTTTGGGGTTCATCAAGCAAGGATGTGACTTCGAGAGCATCGTGACAAGTGGATCTCCATCACAGAGGCCCTCGCCTTCTTCCACTGTTGCCTGAACCCCATCCTCTATGCCTTCTCGGGGCCAAGTTCAAAGCTCTGCCAGCATGCACTCAACTCCATGAGCAGAGGCTCCAGCCTCAAGATCCTTTCCAAAGGAAAGCGGGGTGGACACTCTTCCGTCTCCACGGAGTCAGAATCCTCCAGTTTTCACTCCAGCTAA
17	СХСR4 (дикий тип, человек, ДНК)	ATGGAGGGGATCAGTATATACACTTCAGATAACTACACCGAGGA AATGGGCTCAGGGACTATGACTCCATGAAGGAACCCTGTTTCCGTGAAGAAAATGCTAATTTCAATAAAATCTTCCCTGCCACCATCTACTCCATCATCTTCTTAACTGGCATTGTGGGCAATGGATTGGTCA TCTGGTTCATGGGTTACCAGAAGAACTGAGAAGCATGACGGAC AAGTACAGGCTGCACCTGTGAGTGGCCGACCTCCTCTTTGTCATC ACGCTTCCCTTCTGGGCAGTTGATGCCGTGGCAAACCTGGTACTTT GGGAACTTCTATGCAAGGCAGTCCATGTCATCTACACAGTCAA CCTCTACAGCAGTGTCTCATCCTGGCCTTCATCAGTCTGGACCG CTACCTGGCCATCGTCCACGCCACCAACAGTCAGAGGCCAAGGA AGCTGTTGGCTGAAAAGGTGGTCTATGTTGGCGTCTGGATCCCTG CCTCCTGCTGACTATTCCTGACTTCATCTTTGCCAACGTGAGT AGGCAGATGACAGATATATCTGTGACCGCTTCTACCCCAATGAC TTGTGGGTGGTGTGTTCCAGTTTCAGCACATCATGGTTGGCCTT ATCCTGCCTGGTATTGTCATCCTGTCTGCTATTGCATTATCATCT CCAAGCTGTCACTCCAAGGGCCACCAGAAGCGCAAGGCCCTC AAGACCACAGTCATCCTCATCCTGGCTTTCTTCGCCTGTTGGCTG CCTTACTACATTGGGATCAGCATCGACTCCTTCATCCTCCTGGAA ATCATCAAGCAAGGGTGTGAGTTTGAGAACTGTGCACAAGTG GATTTCCATCACCGAGGCCCTAGCTTTCTTCCACTGTTGTCTGAA CCCATCCTCTATGCTTTCTTGGAGCCAAATTTAAAACCTCTGC CCAGCACGCACTCACCTCTGTGAGCAGAGGGTCCAGCCTCAAGA TCCTCTCCAAAGGAAAGCGAGGTGGACATTTCATCTGTTTCCACTG AGTCTGAGTCTTCAAGTTTTCACTCCAGCTAA
18	СХСR4 (Y157A, человек) (полипептид)	MEGISIYTSNDNYTEEMSGDYDSMKEPCFREENANFNKIFLPTIYSIIF LTGIVGNGLVILVMGYQKKLRSMTDKYRLHLSVADLLFVITLFWA VDAVANWYFGNFLCKAVHVIYTVNLYSSVLILAFISLDRYLAIVHA TNSQRPRKLLAEKVVAVGWVWIPALLLTIPDFIFANVSEADDRYICDR

SEQ ID NO:	НАЗВАНИЕ БЕЛКА/НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ
		FYPNDLWVVVFQFHIMVGLILPGIVILSCYCIISKLSHSHKQKQKRALKTTVILILAFFACWLPYYIGISIDSFILLEIHKQGEFENTVHKWISIT EALAFFHCCLNPILYAFLGAKFKTSAQHALTSVSRGSSLKILSKGKRGHSSVSTESESSSFHSS
19	CXCR4 (Y159A, мышь) (полипептид)	MEPISVSIYTSNDYSEEVSGDYDSNKEPCFRDENVHFNRIFLPTIYFI IFLTGIVGNGLVILVMGYQKCLRSMYDKYRLHLSVADLLFVITLPFW AVDAMADWYFGKFLCKAVHIIYTVNLYSSVLILAFISLDRYLAIVHA TNSQRPRKLLAEKAVAVGVWIPALLLTIPDFIFADVSQGDISQGDDR YICDRLYPDSLWMVVVFQFHIMVGLVLPGLVILSCYCIISKLSHSHKQKRALKTTVILILAFFACWLPYYVIGISIDSFILLGVIKQGCDFESIV HKWISITEALAFFHCCLNPILYAFLGAKFKSSAQHALNSMSRGSLLKI LSKGKRGHSSVSTESESSSFHSS
20	CXCR4 (дикий тип, человек, полипептид)	MEGISIYTSNDYTEEMGSGDYDSMKEPCFREANFNKIFLPTIYSIIF LTGIVGNGLVILVMGYQKCLRSMYDKYRLHLSVADLLFVITLPFWA VDAVANWYFGNFLCKAVHVIYTVNLYSSVLILAFISLDRYLAIVHA TNSQRPRKLLAEKVYVGVWIPALLLTIPDFIFANVSEADDRYICDR FYPNDLWVVVFQFHIMVGLILPGIVILSCYCIISKLSHSHKQKQKRALKTTVILILAFFACWLPYYIGISIDSFILLEIHKQGEFENTVHKWISIT EALAFFHCCLNPILYAFLGAKFKTSAQHALTSVSRGSSLKILSKGKRGHSSVSTESESSSFHSS
21	CCR2 (Человек, ДНК)	ATGCTGTCCACATCTCGTTCTCGGTTTATCAGAAATACCAACGAG AGCGGTGAAGAAGTCACCACCTTTTTGATTATGATTACGGTGCT CCCTGTCATAAATTTGACGTGAAGCAAATGGGGCCCACTCCT GCCTCCGCTCTACTCGCTGGTGTTCATCTTTGGTTTTGTGGGCAA CATGCTGGTGCCTCATCTTAATAAACTGCAAAAAGCTGAAGT GCTTGACTGACATTTACCTGCTCAACCTGGCCATCTCTGATCTGC TTTTCTTATTACTCTCCCATTTGTGGGCTCACTCTGCTGCAATGA GTGGGTCTTTGGGAATGCAATGTGCAAAATTATCACAGGGCTGT ATCACATCGGTTATTTGGCGGAATCTTCTCATCATCCTCCTGA CAATCGATAGATACCTGGCTATTGTCCATGCTGTGTTTGTCTTAA AAGCCAGGACGGTCACCTTTGGGGTGGTGACAAGTGTGATCACC TGGTTGGTGGCTGTGTTTCTGTCCAGGAATCATCTTTACT AAATGCCAGAAAGAAGATTCTGTTTATGTCTGTGGCCCTTATTTT CCACGAGGATGGAATAATTTCCACACAATAATGAGGAACATTTT GGGGCTGGTCCGCTGCTCATCATGGTCACTGCTACTCGGG AATCCTGAAAACCCTGCTTCGGTGTGAAACGAGAAGAAGAGGC ATAGGGCAGTGAGAGTCATCTTACCATCATGATTGTTACTTTC TCTTCTGGACTCCCTATAATATTGTCATTCTCCTGAACACCTTCCA GGAATCTTTCGGCCTGAGTAACTGTGAAAGCACCAGTCAACTGG ACCAAGCCACGCAGGTGACAGAGACTCTTGGGATGACTCACTGC TGCATCAATCCCATCATCTATGCCTTCGTTGGGGAGAAGTTCAGA AGCCTTTTTACATAGCTCTTGGCTGTAGGATTGCCCACTCCAA AAACCAGTGTGTGGAGGTCCAGGAGTGAGACCAGGAAAGAATG TGAAAGTGACTACACAAGGACTCCTCGATGGTCTGGAAAAGGA AAGTCAATTGGCAGAGCCCCTGAAGCCAGTCTTACAGGACAAAGA AGGAGCCTAG
22	CCR2 (Мышь, ДНК)	ATGGAAGACAATAATATGTTACCTCAGTTCATCCACGGCATACT ATCAACATCTCATTCTATTTACACGAAGTATCCAAGAGCTTGA TGAAGGGGCCACCACACCGTATGACTACGATGATGGTGAGCCTT GTCATAAAAACAGTGTGAAGCAAATTTGGAGCTTGGATCCTGCCT CCACTCTACTCCCTGGTATTATCATCTTTGGTTTTGTGGGCAACATG TTGGTCATTATAATTCTGATAGGCTGTAAAAGCTGAAGAGCAT GACTGATATCTATCTGCTCAACTTGGCCATCTCTGACCTGCTCTT CCTGCTCACATTACCATTCTGGGCTCACTATGCTGCAAATGAGTG GGTCTTTGGGAATATAATGTGTAAGTATTACAGGGCTCTATCA

SEQ ID NO:	НАЗВАНИЕ БЕЛКА/НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ
		<p>CATTGGTTATTTTGGTGGGAATCTTTTTTATTATCCTCCTGACAATT GATAGGTA CTTGGCTATTGTTTCATGCTGTGTTTGGCTTTAAAAGCC AGGACAGTTACSTTTGGGGTGATAACAAGTGTAGTCACTTGGGT GGTGGCTGTGTTTGCCTCTCTACCAGGAATCATATTTACTAAATC CAAACAAGATGATCACCAATTACACCTGTGGCCCTTATTTTACACA ACTATGGAGAAGATTTCCAAACAATAATGAGAAATATCTTGAGCC TGATCCTGCCTCTACTTGTTCATGGTCATCTGCTACTCAGGAATTC TCCACACCCTGTTTCGCTGTAGGAATGAGAAGAAGAGGCACAGG GCTGTGAGGCTCATCTTTGCCATCATGATTGTCTACTTTCTCTTCT GGACTCCATACAATATTGTTCTCTTCTTGACCACCTTCCAGGAAT CCTTGGGAATGAGTAACTGTGTGATTGACAAGCACTTAGACCAG GCCATGCAGGTGACAGAGACTCTTGGGAATGACACACTGCTGCAT TAATCCTGTCAATTTATGCCTTTGTTGGAGAGAAGTCCGAAGGTA TCTCTCCATATTTTTCAGAAAGCACATTGCTAAACGTCTCTGCAA ACAGTGCCAGTTTTCTATAGGGAGACAGCAGATCGAGTAAGCT CTACATTCACCTCCTTCCACTGGGGAGCAAGAGGTCTCGGTTGGGT TGTA</p>
23	CCR2 (Человек, белок)	<p>MLSTSRSRFIRNTNESGEEVTTFFDYDYGAPCHKFDVKQIGAQLLPP LYSLVFIFGFVGNMLVVLILINCKKLKCLTDIYLLNLAISDLLFLITLP LWAHSAANEWVFGNAMCKLFTGLYHIGYFGGIFFILLTIDRYLAIV HAVFALKARTVTFGVVTSVITWLVAVFASVPGIIFTKCQKEDSVYV CGPYFPRGWNFHTIMRNILGLVPLLMVICYSILKTLRLCRNEK KRHRAVRVIFTIMIVYFLFWTPYNIVILLNTFQEFFGLSNCESTSOLD QATQVTETLGMTHCCINPIIYAFVGEKFRSLFHIALGCRIAPLQKPV GGPVRPGKNVKVTTQGLLDGRGKGSIGRAPEASLQDKEGA</p>
24	CCR2 (Мышь, белок)	<p>MEDNNMLPQFIHGILSTSHSLFTRSIQELDEGATTPYDYDDGEPCHK TSVKQIGA WILPPL YSLVFIFGFVGNML VIIIIGCKKLKSMTDIYLLN LAISDLLFLL TLPFWAHYAANEWVFGNIMCKVFTGLYHIGYFGGIFF IILLTIDRYLAIVHAVFALKARTVTFGVITSVVTWVVAVFASLPGIIFT KSKQDDHHYTCPYFTQLWKNFQTIMRNILSLILPVMVICYSIL HTLFRCRNEKRRHRAVRLIFAIMIVYFLFWTPYNIVLFLTTFQESLG MSNCVIDKHLQAMQVTETLGMTHCCINPVIYAFVGEKFRRLYSIF FRKHIAKRLCKQCPVFYRETADRVSSTFTPSTGEQEVSVGL</p>
25	PH-20 (человек, полноразмерный) (ДНК)	<p>ATGGGAGTGCTAAAATTCAAGCACATCTTTTTTTCAGAAGCTTTGTT AAATCAAGTGGAGTATCCCAGATAGTTTTTACCTTTCCTTCTGATT CCATGTTGCTTGACTCTGAATTTTCAGAGCACCTCCTGTTATTCCA AATGTGCCTTTCTCTGGGCCTGGAATGCCCAAGTGAATTTTGT CTTGAAAATTTGATGAGCCACTAGATATGAGCCTCTTCTCTTTC ATAGGAAGCCCCGAATAAACGCCACCGGGCAAGGTGTTACAAT ATTTTATGTTGATAGACTTGGCTACTATCCTTACATAGATTCAAT CACAGGAGTAACTGTGAATGGAGGAATCCCCAGAAGATTTCTCT TACAAGACCATCTGGACAAAGCTAAGAAAGACATTACATTTTAT ATGCCAGTAGACAATTTGGGAATGGCTGTTATTGACTGGGAAGA ATGGAGACCCACTTGGGCAAGAACTGGAAACCTAAAGATGTTT ACAAGAATAGGTCTATTGAATTGGTTTCAGCAACAAAATGTACAA CTTAGTCTCACAGAGGCCACTGAGAAAGCAAAAACAAGAAATTTGA AAAGGCAGGGAAGGATTTCTGGTAGAGACTATAAAATTGGGA AAATTA CTTCCGCCAAATCACTTGTGGGGTTATTATCTTTTTCCG GATTGTTACAACCATCACTATAAGAAACCCGGTTACAATGGAAG TTGCTCAATGTAGAAATAAAAAGAAATGATGATCTCAGCTGGT TGTGGAATGAAAGCACTGCTCTTTACCCATCCATTTTATTGAACA CTCAGCAGTCTCCTGTAGTCTGCTACACTCTATGTGCGCAATCGAG TTCGGGAAGCCATCAGAGTTTCCAAAATACCTGATGCAAAAAGT CCACTTCCGGTTTTTGCATATACCCGCATAGTTTTTACTGATCAA GTTTTGAAATTCCTTTCTCAAGATGAACTTGTGTATACATTTGGC GAAACTGTTGCTCTGGGTGCTTCTGGAATTGTAATATGGGGAAC</p>

SEQ ID NO:	НАЗВАНИЕ БЕЛКА/НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ
		<p>CCTCAGTATAATGCGAAGTATGAAATCTTGCTTGCTCCTAGACAA TTACATGGAGACTATACTGAATCCTTACATAATCAACGTCACACT AGCAGCCAAAATGTGTAGCCAAGTGCTTTGCCAGGAGCAAGGAG TGTGTATAAGGAAAACTGGAATTCAAGTACTATCTTCACCTC AACCCAGATAATTTTGTATTCAACTTGAGAAAGGTGGAAAGTT CACAGTACGTGGAAAAACCGACACTTGAAGACCTGGAGCAATTTT CTGAAAAATTTTATTGCAGCTGTTATAGCACCTTGAGTTGTAAGG AGAAAGCTGATGTAAGACACTGATGCTGTTGATGTGTGTATT GCTGATGGTGTCTGTATAGATGCTTTTCTAAAACCTCCCATGGAG ACAGAAGAACCTCAAATTTTCTACAATGCTTCACCCTCCACACTA TCTGCCACAATGTTCAATTGTTAGTATTTTGTTCCTTATCATTTCTT CTGTAGCGAGTTTGTA</p>
26	РН-20 (человек, полноразмерный) (белок)	<p>MGVLKFKHIFFRSFVKSSGVSQIVFTFLIPCCCLTLNFRAPPVIPNVPF LWAWNAPSEFCLGKFDEPLDMSLFSFIGSPRINATGQGVTIFYVDRL GYYPYIDSITGVTVNGGIPQKISLQDHLKAKKIDITFYMPVDNLGM AVIDWEEWRPTWARNWPKDVYKNRSIELVQQQNVQLSLTEATE KAKQEFEKAGKDFL VETIKLGKLLRPNHLWGYYLFPDCYNHHYKK PGYNGSCFNVEIKRNDLSWLWNESTALYPSIYLNTOQSPVAATLY VRNRVREAIRVSKIPDAKSPLPVFAYTRIVFTDQVLKFLSQDEL VYT FGETVALGASGIVIWGTL SIMRSMKSCLLLDNYMETILNPIINVTLA AKMCSQVLCQEQGV CIRKNWNSSDYLHLNPDNFAIQLEKGGKFTV RGKPTLEDLEQFSEKFYCSYSTLSCKEKADVKDTDAVDVCIADGV CIDAFLKPPMETEEPQIFYNASPSTLSATMFIVSILFLIISVASL</p>
27	Гиалуронидаза (ДНК)	<p>CCGCGATACGAATGTTCAAACGCCAGATTATGAAAAGTTGAGGA ACACATGGCTGAACGTTAACTACGGTTATGATCAGTATGATGAG AAGAATGACGCAATGAAGAAGAAGTTTGATGCTACGGAGAAAG AGGCAGAGAAATTA CT CAGTAGCATGAAAACCTGAAAGTGGAAG GACTTACTTGTGGGATAGTGCAAAAAGATTTAGATAACAAGTCTG CGATATGACTCGTACCTATCGTAATATTGAGAAAACCTGCAGAA GCGATGAAGCATAAAGATACTAAGTTAAATACTCCGGATAATAA AAACAAAGTTAAAGATGCCCTTGAGTGGCTGCATAAAAATGCCT ATGGAAAAGAACCGGTGAAAAAACTTGAAGAACTAAAAACAAA TTTCTCAAATCAGCACCTCAAAGAATACAACTTAAATTGGT GGGATTATGAAATTGGAACACCTAGAGCACTAACAAATACCCTT ATACTCTTAAAAGAAGATTTTACTGATGAAGAAAAGAAAAATA CACTGCCCTATTAACCTTTTCGCCCCAAAAGTGATGAAATATT ATCTTCTGTAGGAAAAGCTGAACCTGCTAAAGGCGGAAATTTAG TAGACATTTCTAAAGTAAAACCTTTTAGAAAGTATTATCGAAGAA GATGCAACTATGATGAAAGAATCAATAGAGGCATTTAATAAAGT CTTCACTTACGTTCAAAGTAATGCAACTGGTAAAGAACGTAATG GATTCTATAAAGACGGCTCTTATATTGATCATCAAGACGTCCCAT ACACTGGTGCTTATGGCGTTGACTCTTAGAGGGGATTTCTCAA TGATGCCGATGATAAAAAGAAACACCTTTTAAAGATAGTAATCAA AATGATACAACATTAAGTTCGTGGATTGATGAAGGATTTATGCC ACTCATTTATAAAGGTGAAATGATGGATTTATCACGTGGTAGAG CCATTAGCCGTGAAAATGAAACGAGTCACTCAACATCTGCAACT GTAATGAAATCATTGTTGAGATTAAGTGATGCCATGGATGAGTC AACAAAAGCTAAATATAAGCAAATCGTTAAAACCTTCTGTTAAAT CTGATTCAAGTTATAAACAAAACGATTATTTAAGCTCTTATTGAG ATATAAGCAAAATGAAGTCTTTAATTGAAGACAGCACTATTTCT ACTAACGGTTTAAACACAACAACTTAAAATATATAATGACATGAA TCGTGTCACCTATCATAACAAAGACTTAGACTTTGCAATTTGGCTT AAGTATGACGTGAAAAACGTCGCACATTACGAAAGTATCAACG GAGAGAACTTAAAAGGTTGGCACACTGGTGCTGGAATGTCTTAT TTATACAATAGCGATGTGAAACACTACCGTGATAACTTCTGGGC GACAGCTGATATGAAACGTTTAGCAGGTA CTACAACCTTAGATA ATGAAGAACCTAAAGAAAATAAGAACTCCGATAAACTTTTGTA</p>

SEQ ID NO:	НАЗВАНИЕ БЕЛКА/НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ
		<p>GGCGGAACAAAATTCGATGACCAACATGCTAGTATCGGAATGGA TTTTGAAAATCAGGACAAAACCTTAACCTGCCAAAAAATCATATT TCATATTAACGATAAAAATTGTCTTCTTAGGAACTGGCATTA GTAATCGAATGGGTATACGTTATTTACAGACGATAAAACAACAAC CGCTTCAAATATTAATGATCAGGAAACCAATTCAGTCTTTTGA GTCCACAGATACAAAAAGAACATCGGTTATCATTTTTTAAACG AATCGAAAATAACTGTAAAAAAGAAAGTCATACTGGTAAGTG GAGTGATATAAATAAAAGTCAAAAGTCAGATGACAAAACCTGAT GAGTATTATGAAGTAACTCAAAAGCATTCTAATACAGATGATAA ATATGCATATGTCTTGTATCCAGGCTTATCTAAAGATAATTTTAA ATCCAAAGCAAGCCAAGTAACTATCGTTAAACAAGATGATGACT TCCACATTGTGAAAGATAATGAATCGGTTTGGGCTGGTGTCAATT ATAGTAATAGCACTCAAACCTTTGACATTAACAACACCAAGGTT GAGGTTAAAGCGAAAGGGATGTTTCAATTTGAAAAACAAGGACG ATAATACGTACGAATGCTCATTCTATAATCCTGAGTCTACGAATA CGGCTTCAGACATAGAAAGTAAGATCAGTATGACGGGATACTCA ATCACGAATAAAAACACAAGTACGTCCAACGAAAGTGGTGTGCA TTTCGAGTTGACTAAATATGCTGCCGCGATGTCTGGAGCAGGTCC GTGGGCAGCCTGGCCATTCTACTCTACTGGCGCTCATGCTACT ATGGCTGCTCTCATGA</p>
28	Гиалуронидаза (белок)	<p>GRDTNVQTPDYEKLRNTWLVNNGYDQYDEKNDAMKKKFDAT KEAEKLLSSMKTESGRTYLWDSAKDLNKSADMTRTYRNIKIAE AMKHKDTKLNTPDNKNKVKDALEWLHKNAYGKEPVKKLEELKTN FSKSAPQKNTNLNWWDYEIGTPRALNTLILLKEDFTDEEKKKYTA PIKTFAPKSDEILSSVGKAEPKGGNLVDISKVKLLESIIIBEDATMMK ESIEAFNKVFTYVQSNATGKERNNGFYKDGSYIDHQDVPYTGAYGV VLLEGISQMMPMIKETPFKDSNQNDTLKSWIDEGFMPPLYKGGEM DLSRGRAISRENESHSTSATVMKSLRLSDAMDESTKAKYKQIVN TSVKSDSSYKQNDYLSSYSDISKMKSLIEDSTISTINGLTQQLKIYND MNRVITYHNKDLDFAFGLSMTSKNVAHYESINGENLKGWHTGAGM SYLYNSDVKHYRDNFWATADMKRLAGTTLDNEEPKENKNSDKT FVGGTKFDDQHASIGMDFENQDKTLTAKKSYFILNDKIVFLGTGKIS TDSSKNPVTTIENRKSNGYTLFTDDKQTTASNINDQETNSVFLESTD TKKNIGYHFLNESKITVKKESHTGKWSINKSQQSDDKTDEYYEVT QKHSNTDDKYAYVLYPGLSKDNFKSKASQVTIVKQDDDFHIVKDN ESVWAGVNYNSNSTQTFDINNTKVEVKAKGMFILKNKDDNTYECF YNPESTNTASDIESKISMTGYSITNKNTSTSNESGVHFEFTKYAAM SGAGPWAAWPFLLSLALMLLWLLS</p>
29	Гиалуронидаза с сигнальной последовательностью из IgE (ДНК)	<p>ATGGACTGGACATGGATTCTCTTTCTAGTGGCCGCAGCCACAAG GGTCCACAGCGGCCGCGATACGAATGTTCAAACGCCAGATTATG AAAAGTTGAGGAACACATGGCTGAACGTTAACTACGGTTATGAT CAGTATGATGAGAAGAATGACGCAATGAAGAAGAAGTTTGATG CTACGGAGAAAGAGGCAGAGAAATTAAGTACGATGAAAAC TGAAAGTGGAAAGGACTTACTTGTGGGATAGTGCAAAAGATTTAG ATAACAAGTCTGCGGATATGACTCGTACCTATCGTAATATTGAG AAAATCGCAGAAGCGATGAAGCATAAAGATACTAAGTTAAATA CTCCGGATAATAAAAACAAAGTTAAAGATGCCCTTGAGTGGCTG CATAAAAATGCCTATGGAAAAGAACCGGTGAAAAAACTTGAAG AACTAAAAACAATTTCTCAAATCAGCACCTCAAAGAATACA AACTTAAATTGGTGGGATTATGAAATTGGAACACTAGAGCACT AACAAATACCCTTATACTCTTAAAGAAGATTTTACTGATGAAG AAAAGAAAAAATACACTGCCCTATTAAACTTTTCGCCCAAAA AGTGATGAAATATTATCTTCTGTAGGAAAAGCTGAACCTGCTAA AGGCGGAAATTTAGTAGACATTTCTAAAGTAAAACCTTTTAGAAA GTATTATCGAAGAAGATGCAACTATGATGAAAGAATCAATAGAG GCATTTAATAAAGTCTTCACTTACGTTCAAAGTAATGCAACTGGT</p>

SEQ ID NO:	НАЗВАНИЕ БЕЛКА/НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ
		AAAGAACGTAATGGATTCTATAAAGACGGCTCTTATATTGATCA TCAAGACGTCCCATACACTGGTGCTTATGGCGTTGTA CTCTTAGA GGGATTTCTCAAATGATGCCGATGATAAAAGAAACACSTTTTA AAGATAGTAATCAAAATGATACAACATTAAGTCGTGGATTGAT GAAGGATTTATGCCACTCATTTATAAAGGTGAAATGATGGATTT ATCACGTGGTAGAGCCATTAGCCGTGAAAATGAAACGAGTCACT CAACATCTGCAACTGTAATGAAATCATTGTTGAGATTAAGTGAT GCCATGGATGAGTCAACAAAAGCTAAATATAAGCAAATCGTTAA AACTTCTGTAAATCTGATTCAAGTTATAAACAAAACGATTATTT AAGCTCTTATTCAGATATAAGCAAAATGAAGTCTTTAATTGAAG ACAGCACTATTTCTACTAACGGTTTAAACACAACAACCTTAAAATAT ATAATGACATGAATCGTGTACCTATCATAACAAAGACTTAGAC TTTGCATTTGGCTTAAGTATGACGTGCGAAAACGTGCGACATTAC GAAAGTATCAACGGAGAGA ACTTAAAAGGTTGGCACACTGGTGC TGAATGTCTTATTTATACAATAGCGATGTGAAACACTACCGTG ATAACTTCTGGGCGACAGCTGATATGAAACGTTTAGCAGGTA CT ACA ACTTTAGATAATGAAGAACCTAAAGAAAATAAGAACTCCGA TAAA ACTTTTGTAGGCGGAACAAAATTCGATGACCAACATGCTA GTATCGGAATGGATTTTAAAATCAGGACAAA ACTTTAACTGCC AAAAATCATATTT CATATTAACGATAAAAATTGTCTTCTTAGGA ACTGGCATTAAAAGTACTGATTCATCAAAGAATCCAGTGACAAC GATTGAAAATCGCAAATCGAATGGGTATACGTTATTTACAGACG ATAAACAAAACAACCGCTTCAAATATTAATGATCAGGAAACCAAT TCAGTCTTTTTAGAGTCCACAGATACAAAAAAGAACATCGGTTA TCATTTTTTAAACGAATCGAAAATAACTGTAAAAAAGAAAGTC ATACTGGTAAGTGGAGTGATATAAATAAAAAGTCAAAGTCAGAT GACAAA ACTGATGAGTATTATGAAGTAACTCAAAGCATTCTAA TACAGATGATAAATATGCATATGTCTTGTATCCAGGCTTATCAA AGATAATTTTAAATCCAAAGCAAGCCAAGTAACTATCGTTAAAC AAGATGATGACTTCCACATTGTGAAAGATAATGAATCGGTTTGG GCTGGTGTCAATTATAGTAATAGCACTCAA ACTTTTGACATTAAC AACACCAAGGTTGAGGTTAAAGCGAAAGGGATGTTCA TTTTGAA AAACAAGGACGATAATACGTACGAATGCTCATTCTATAATCCTG AGTCTACGAATACGGCTTCAGACATAGAAAGTAAGATCAGTATG ACGGGATACTCAATCACGAATAAAAACACAAGTACGTCCAACGA AAGTGGTGTGCATTTGAGTTGACTAAATATGCTGCCGCGATGTC TGGAGCAGGTCCGTGGGCAGCCTGGCCATTCTACTCTACTGG CGTCTATGCTACTATGGCTGCTCTCATGA
30	Гиалуронидаза с сигнальной последовательностью из IgE (белок)	MDWTWILFLVAAATRVHSGRDTNVQTPDYEKL RNTWLVNVNYGYD QYDEKNDAMKKKFDATEKEAEKLLSSMKTESGR TYLWDSAKDLD NKSADMTRTYRNIKIEAMKHKDTKLNTPDNKNKVKDALEWLH KNAYGKEPVKLEELKTNFSSKAPQKNTNLNWWDYEIGTPRALTN TLILLKEDFTDEEKKKYTAPIKTFAPKSDEILSSVGAEPKGGNLV DISKVKLESII EEDATMMKESIEAFNKVFTYVQSNATGKERNGFYK DGSYIDHQDVPYTGAYGVVLLLEGISQMMPMIKETPFKDSNQND TTL KSWIDEGFMPLIYK GEMMDLSRGRAISRENESHSTSATVMKSLLR LSDAMDESTKAKYKQIVKTSVKS DSSYKQNDYLSYSDISKMKSLIE DSTISTNGLTQQLKIYNDMNRVTYHNKDLDFAFGLSMTSKNV AHY ESINGENLKGWHTGAGMSYL YNSDVKH YRDNFWATADMKRLAGT TTLDN EEPKENKNSDKTFVGGTKFDDQHASIGMDFENQDKTLTAK KSYFILNDKIVFLGTGIKSTDSSKNPVTTIENRKSNGYTLFTDDKQTT ASNINDQETNSVFLESTDTKKNIGYHFLNESKITVKKESHGKWSDI NKSQKSDDKTDEYYEVTQKHSNTDDKYAYVLYPGLSKDNFKSKAS QVTIVKQDDDFHIVKDNESVWAGVNYSNSTQTFDINNTKVEVKAK GMFILKNKDDNTYEC SFYNPESTNTASDIESKISMTGYSITNKNTSTS NESGVHFE LTKYAAAMSGAGPWAAWPFLSLALMLLWLLS
31	IL-2 (мышь,	AATTCTATGGCTCCGACTTCAAGTTCTACCAAGAAGACCCAGCTT

SEQ ID NO:	НАЗВАНИЕ БЕЛКА/НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ
	ДНК)	СААТТАГААСАТТТАСТТСТАГАТТТАСАААТГАТТСТГААТGGT АТСААСААТТАТААГААТССАААГСТТАСТСТГАТТГАСТТТ АААТТСТАТАТGCCTAAGAAGGCTACTGAATТАААААССТGCA GTGTTTAGAAGAAGAGCTCAAACCGTTAGAAGAAGTTCTGAATC TGGCTCAATCTАААААСТТССАТТТАСГТССАСГАГАТСТТАТСТ СТААТАТТААСГТААТСТГТТТТGGAACTТААААГГАТССGAAACT АСТТСАТГТГТААТАТГТГАСGAAACCGCTACGATCGTAGA АТТСТТААТСГАТGGATTACTТТСТГТСААТСТАТТАТСТТАССТ ТТААСТТGAGTCGACG
32	IL-2 (человек, ДНК)	АТGTACAGGATGCAACTCCTGTCTTGCATTGCACTAAGTCTTGCA СТTGTСАСАААСAGTGCACCTACTTCAAGTTCTACAAAGAAAAC ACAGCTACAАСТGGAGCATTТАCTGCTGGATTTACAGATGATTTT GAATGGAAТТААТААТТАСААГААТССАААСТСАСAGGATGC TCACATTTAAGTTTACATGCCCAAGAAGGCCACAGAACTGAAA CATCTTCAGTGTCTAGAAGAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGT GCTAAATTTAGCTCAAAGCAAAAАСТТТCACTТААААССТСAGGG ACTТААТСAGCAATATCAACGТААТГТТСТGGAАСТТААAGGGA TCTGAAACAACATTСATGТГТААТГТГТАGAGACAGCAAC CATTGTAGAAТТТСТGAACAGATGGATTACCTTTTGTCAAAGCAT CATCTCAACACTGACTTGA
33	IL-2 (мышь, белок)	MYSMQLASCVTLLVLLVNSAPTSSSTSSSTAEAQOQQOQQOQQQ QHLEQLLMDLQELLSRMENYRNKLLPRMLTFKFYLPKQATELKDL QCLEDELGPLRHVLDLТQSKSFQLEDAENFISNIRVTVVKLKGSNT FECQFDDDESATVVDFLRRWIAFCQSIISTSPQ
34	IL-2 (человек, белок)	MYRMQLLSICIALSLALVTNSAPTSSSTKKTQLQLEHLLLDLQMLNG INNYKNPKLTRMLTFKFYMPKKATELKHLCLEELKPLEEVLNLA QSKNFHLRPRDLISNINVIVLELKGSETTFMCEYADETATIVEFLNR WITFCQSIISTLT
35	loxP	АТААСТТСГАТАGСАТАСАТТАТАСГААГТТАТ
36	dnIRF7 (ДНК)	АТGCCAGGGCTCCCTGCTGGGGAGCTGTACGGGTGGGCAGTAGA GACGACCCCCAGCCCGGGCCCCAGCCCGCGGCACTAACGACAG GCGAGGCCGCGGCCCCAGAGTCCCGCACCAGGCAGAGCCGTAC CTGTСАСССТСССАААСГССТGСАССГСГТGСАААГСССАС CCCAGGGGCGCTGGACGTGACCATCATGTACAAGGGCCGCACGG TGCTGСАГААГТGGTGGGACACCCGAGCTGСАСГТТСТТАТАС GGCCCCCAGACCCAGCTGTCCGGGCCACAGACCCCCAGCAGGT AGCATTCCCCAGCCCTGCCGAGCTACCGGACCAGAAGCAGCTGC GCTACACGGAGGAАСТGCTGСGGCACGTGGCCCTGGGTTGCAC CTGGAGCTTCGGGGGCCACAGCTGTGGGCCCGGCGCATGGGCAA GTGCAAGGTGTACTGGGAGGTGGGCGGACCCCCAGGCTCCGCCA GCCCTCCACCCAGCCTGCCTGCTGCCTCGGAАСТGTGACACCC CCATCTTCGACTTCAGAGTCTTCTTCCAAGAGCTGGTGGAAТТС GGGСАСGGCAGCGCCGTGGCTCCCCACGCTATACCATCTACCTG GGCTTCGGGCAGGACCTGTСAGCTGGGAGGCCAAGGAGAAGA GCCTGGTCTTGGTGAAGCTGGAACCCTGGCTGTGCCGAGTGCAC СТАGAGGGCAGCAGCGTGAAGGTGTGTCTTCCCTGGATAGCAG CAGCCTCAGCCTCTGCCTGTCCAGCGCCAACAGCCTCTATGACG ACATCGAGTGCTTCTTATGGAGCTGGAGCAGCCCGCCTAG
37	dnIRF7 (полипептид)	MPGLPAGELYGWAVETTPSPGPQPAALTTGEEAAPESPHQAEPYLS PSPSACTAVQEPSPGALDVTIMYKGRТVLQKVVGHPSCFTLYGPPDP AVRATDPQQVAFPSAELPDQKQLRYTEELLRHVAPGLHLELRGPQ LWARRMGKCKVYWEVGGPPGASPSSTPACLLPRNCDTPIFDVF

SEQ ID NO:	НАЗВАНИЕ БЕЛКА/НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ	ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ
		QELVEFRARQRRGSPRYTIYLGFGQDLSAGRPKEKSLVLVKLEPWL CRVHLEGTQREGVSSLDSSLSLCLSSANSLYDDIECFLEMELEQPA
38	vIRF3 (ДНК)	ATGGCAGGCAGACGGCTTACATGGATCAGCGAGTTTATCGTAGG TGCCCTGGACTCTGATAAGTACCCCTTGGTAAAATGGCTTGATCG GTCAACGGGAACCTTTCTGGCTCCCGCTGCGAGAAATGACGTAA TACCACTGGATTCCCTGCAGTTTTTCATAGATTTTAAAGAGGGAGT GTTTGTCAAAGGGCTCCACCCCGAGATCTTTGGGTAGTCCAA TAACTGCGTTCGGTAAGATTTGTACAAGTACCGACGGCTGAGA CGATTGCCCGGTGAAGAGTACGAAGTTGTCCAAGGAATCAACTG CCGGCGGTGGCGGCTTCTCTGCGCCGAAGTAAAGAATGCTGGT GGTGTGTACACGCGGAACACATCTGCACTCCGGAAGCAGCCTT TGGGAAATTCTTACCAGCATTCCGTAAGACTTGAAAAGCACCG ACGAAGGCCAGGCCCTTTGTAGGAGAGAACAGTGATTCTTCTG AGGAAGACCACCTGCTTTCTGCGATGTGCCGTAACACAAACG GGCGGGAGAGCGAGGACAGCGGCGATGAAGTCTTCCACCA GACACAGCGCCTCAGGTGTCCAACCGGTAGACGATGCTAATGCC GACTCCCTGGTTCTGGAGACGAAGTCCCAGCACCCGCCATAG CGACAGTCAACCTCCTCCCGCCGATGAAACCACTGTCCACACAG ACAATGTAGAGGACGATTTGACACTCCTTGATAAAGAGTCCCGG TGCGCATTGATGTATCACGTGGGGCAGGAGATGGACATGCTTAT GCGAGCGATGTGCGATGAAGACTTGTTTGATTTGCTTGGGATCCC TGAGGATGTAATAGCCACAAGTCAGCCTGGTGGTGATACGGACG CCTCTGGCGTTGTTACGGAGGGTAGTATTGCTGCTAGCGCCGTGG GCGCAGGGGTTGAAGATGTCTACTTGGCAGGAGCCCTCGAAGCA CAGAATGTGCGCAGGGGAGTATGTGCTTGAGATCTCTGATGAGGA AGTAGACGATGGCGCTGGACTCCCTCCCGCCTCAAGGCGGAGAC CCGTTGTTGGAGAGTTCTTGTGGGACGACGGTCTTAGGCGCCAC GAAAGGCCAACGACCCGACAGATTAGGCACAGGAAACTCAGGT CTGCGTACTACAGAGTAGCACGGCCCCAGTGATGATCACGGAC AGGCTGGGCGTTGAGGTTTTTTACTTCGGAAGGCCGGCTATGAG CCTTGAAGTGGAACGAAAAGTATTCATCTTGTTGAGCCAGAATC CGCTGGCAGACATCAGTCACTCCTGCCTCCATTCACGAAAAGGG CTTCGAGTCTGCTGCCAAAACCGGACGACAATAATACTGGTCC GGGAGATGTTAACCTCCTCGCAGCGGTGTTGAGATCTTTTGCATC AGGCTTGGTGATAGTCTCACTCCGAAGCGGAATCTACGTGAAGA ACCTCTGCAAGAGCACCGTCTGTATCACGGAACAACCCCCCA AAAAAGTTTGGCGTTATATGCGGACTTTCATCCAGAGCAGTTCTT GACGTGTTTAAATGTTGCCAATACCGGATTCAGGGCCATGAACA CATCAAAAAGACAACCGTCTTCATCGGGGGAGACCCGACTTCAG CGGAGCAATTTGATATGGTGCCACTCGTTATCAAGCTTCGGTTGA GATCAGTGACGTGCGACGATTA
39	vIRF3 (полипептид)	MAGRRLTWISFIVGALDSKYPLVKWLDIRSTGTFLAPAARNDVIP LDSLQFFIDFKRECLSKGLHPRDLLGSPITAFGKICTTSRRLRRLPGEE YEVVQGINCRRWRLCAEVKECWVHARTHLHSGSSLWEILYQ HSVRLEKHRRRPRPFVGENSDSSEEDHPAFCDVPVTQTGAESSEDSG DEGPSTRHSASGVQPVDDANADSPGSGDEGPSTRHSQSPPADET TVHTDNVEDDLTLLDKESACALMYHVGQEMDMLMRAMCDEDLF DLLGIPEDVIATSQPGGDTDASGVVTEGSIAASAVGAGVEDVYLAG ALEAQNVAAGEYVLEISDEEVDDGAGLPPASRRRPVVEFLWDDGP RRHERPTTRRIRHRKLRSAYYRVARPPVMITDRLGVEVFYFRPAM SLEVERKVFILCSQNPLADISHSCLHSRKGLRVLLPKPDDNNTGPGD VNLLAAVLRSFASGLVIVSLRSGIYVKNLCKSTVL YHGNNPPK KFG VICGLSSRAVLDFVNAQYRIQGEHIKKTTFVIGGDPTSAEQFDMV PLVIKLRRLRSVTCDD

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, отличающаяся тем, что композиция включает:
онколитический вирус, при этом онколитический вирус содержит модификацию генома, причем модификация генома включает экзогенную нуклеиновую кислоту, кодирующую ингибитор МНС I.
2. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что модификация генома дополнительно включает:
 - a) делецию или функциональную делецию эндогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС II; или
 - b) экзогенную нуклеиновую кислоту, которая приводит к активации или усиленной активации презентации МНС II.
3. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что модификация генома дополнительно включает:
 - a) делецию или функциональную делецию эндогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС II; и
 - b) экзогенную нуклеиновую кислоту, которая приводит к активации или усиленной активации презентации МНС II.
4. Композиция по п. 2 или 3, отличающаяся тем, что делеция или функциональная делеция эндогенной нуклеиновой кислоты, кодирующей ингибитор МНС II, включает делецию или функциональную делецию гена вируса осповакцины, кодирующего белок А35.
5. Композиция по п. 4, отличающаяся тем, что делеция или функциональная делеция гена вируса осповакцины, кодирующего белок А35, представляет собой делецию или функциональную делецию гена WR158.
6. Композиция по п. 2 или 3, отличающаяся тем, что экзогенная нуклеиновая кислота, которая приводит к активации или усиленной активации презентации МНС II, кодирует белок, выбранный из:
 - a) белка-ингибитора апоптоза;
 - b) белка-активатора некротической гибели клеток;
 - c) белка-усилителя аутофагии;
 - d) аспарагинилэндопептидазы;
 - e) трансактиватора класса II;
 - f) интерферона-гамма;
 - g) активатора Toll-подобного рецептора; или
 - h) активатора созревания дендритных клеток.

7. Композиция по п. 6, отличающаяся тем, что экзогенная нуклеиновая кислота кодирует белок-усилитель аутофагии, и где белок-усилитель аутофагии представляет собой HMGB1 или его функциональный домен, или его вариант.

8. Композиция по п. 6 или 7, отличающаяся тем, что экзогенная нуклеиновая кислота кодирует активатор созревания дендритных клеток, причем активатор созревания дендритных клеток включает остеопонтин, TNF-альфа или его функциональный фрагмент или вариант.

9. Композиция по любому из пп. 6-8, отличающаяся тем, что белок, кодируемый экзогенной нуклеиновой кислотой, объединен с последовательностью секреции, доменом, обеспечивающим клеточную проницаемость, или их комбинацией.

10. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что онколитический вирус включает поксвирус, аденоассоциированный вирус, аденовирус, вирус болезни Ньюкасла (NDV), реовирус (RV), менговирус, вирус миксомы (MYXV), вирус кори (MV), вирус простого герпеса (HSV), вирус осповакцины (VV), вирус везикулярного стоматита (VSV) и вирус полиомиелита (PV).

11. Композиция по п. 10, отличающаяся тем, что поксвирус включает Betaantomorphovirus, Yatapoxvirus, Cervidpoxvirus, Gammaantomorphovirus, Leporipoxvirus, Suipoxvirus, Molluscipoxvirus, Crocodylidpoxvirus, Alphaantomorphovirus, Capripoxvirus, Avipoxvirus или Parapoxvirus.

12. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что онколитический вирус представляет собой вирус осповакцины.

13. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что ингибитор МНС I вызывает ингибирование или частичное ингибирование презентации МНС I.

14. Композиция по п. 13, отличающаяся тем, что экзогенная нуклеиновая кислота, кодирующая ингибитор МНС I, содержит ген, кодирующий один или несколько белков вируса коровьей оспы.

15. Композиция по п. 14, отличающаяся тем, что экзогенная нуклеиновая кислота, кодирующая ингибитор МНС I, содержит ген, кодирующий белок коровьей оспы CPXV012, или его функциональный фрагмент или вариант.

16. Композиция по п. 14, отличающаяся тем, что экзогенная нуклеиновая кислота, кодирующая ингибитор МНС I, содержит ген, кодирующий белок коровьей оспы CPXV203, или его функциональный фрагмент или вариант.

17. Композиция по любому из пп. 13-16, отличающаяся тем, что экзогенная нуклеиновая кислота, кодирующая ингибитор МНС I, содержит ген, кодирующий по меньшей мере одно из:

- a) белка ядерного антигена 1, кодируемого вирусом Эпштейна-Барр;
- b) белка ICP47, кодируемого вирусом простого герпеса;
- c) белка UL49.5, кодируемого вирусом простого герпеса;
- d) белка US6, US2, US3, US11 или gp48, кодируемого цитомегаловирусом;
- e) белка BNLF2a, кодируемого вирусом Эпштейна-Барр;
- f) белка E3-19K, кодируемого аденовирусом;
- g) белка Nef, кодируемого вирусом иммунодефицита человека или вирусом иммунодефицита обезьян;
- h) белка kK3, vIRF3 или kK5, кодируемого вирусом герпеса, ассоциированного с саркомой Капоши; или
- i) доминантно-негативной формы IRF7 или IRF3.

18. Композиция по любому из пп. 1-17, отличающаяся тем, что ингибитор МНС I содержит ингибитор TAP.

19. Композиция по п. 18, отличающаяся тем, что ингибитор TAP действует полностью или преимущественно внутри инфицированных клеток.

20. Композиция по любому из пп. 1-19, отличающаяся тем, что модификация генома снижает иммунный ответ, направленный на инфицированную вирусом опухолевую клетку, и усиливает иммунный ответ, нацеленный на клетки, окружающие инфицированную вирусом опухолевую клетку.

21. Композиция, которая содержит онколитический вирус, причем онколитический вирус содержит модификацию генома; при этом модификация генома включает делецию или функциональную делецию гена вируса осповакцины, кодирующего белок A35, и вставку экзогенного гена, кодирующего белок коровьей оспы CPXV012 или белок коровьей оспы CPXV203.

22. Композиция по п. 21, отличающаяся тем, что онколитический вирус содержит поксвирус, аденоассоциированный вирус, аденовирус, вирус болезни Ньюкасла (NDV), реовирус (RV), менговирус, вирус миксомы (MYXV), вирус кори (MV), вирус простого герпеса (HSV), вирус осповакцины (VV), вирус везикулярного стоматита (VSV) и вирус полиомиелита (PV).

23. Композиция по п. 22, отличающаяся тем, что поксвирус включает Betaentomopoxvirus, Yatapoxvirus, Cervidpoxvirus, Gammaentomopoxvirus, Leporipoxvirus, Suipoxvirus, Molluscipoxvirus, Crocodylidpoxvirus, Alphaentomopoxvirus, Capripoxvirus, Avipoxvirus или Parapoxvirus.

24. Композиция по п. 21, отличающаяся тем, что онколитический вирус представляет собой вирус осповакцины.

25. Композиция по п. 21, отличающаяся тем, что экзогенный ген, кодирующий белок CPXV012 коровьей оспы, находится в локусе гена, кодирующего белок А35 вируса осповакцины.

26. Композиция по п. 21, отличающаяся тем, что экзогенный ген, кодирующий белок коровьей оспы CPXV203, находится в локусе гена, кодирующего белок А35 вируса осповакцины.

27. Композиция по п. 1, отличающаяся тем, что модификация генома дополнительно включает по меньшей мере одно из: экзогенную нуклеиновую кислоту, которая кодирует хемокиновый рецептор или его функциональный домен или вариант; или экзогенную нуклеиновую кислоту, которая кодирует цитокин или его функциональный домен или вариант.

28. Композиция по п. 27, содержащая экзогенную нуклеиновую кислоту, которая кодирует цитокин или его функциональный домен или вариант, причем цитокин содержит по меньшей мере одно из числа: интерлейкина-2 (IL-2), интерлейкина-15/интерлейкина-15Ra (IL15/IL15Ra), интерлейкина-7 (IL-7) или его функционального домена или его варианта.

29. Композиция по п. 27 или 28, отличающаяся тем, что модификация генома включает вставку экзогенной нуклеиновой кислоты, которая кодирует гибридный белок, содержащий цитокин и белок-модулятор метаболизма.

30. Композиция по любому из пп. 27, содержащая экзогенную нуклеиновую кислоту, которая кодирует хемокиновый рецептор или его функциональный домен или его вариант, причем хемокинский рецептор содержит по меньшей мере один из числа: CXCR4, CCR2 или их функциональные домены или варианты.

31. Композиция по п. 27, отличающаяся тем, что хемокиновый рецептор содержит CXCR4 или его функциональный домен, или его вариант.

32. Композиция по п. 27, отличающаяся тем, что хемокиновый рецептор содержит CCR2 или его функциональный домен или вариант, причем CCR2 содержит CCR2 дикого типа или мутированный CCR2.

33. Композиция по любому из пп. 27-32, отличающаяся тем, что экзогенная нуклеиновая кислота, которая кодирует хемокиновый рецептор или его функциональный домен или вариант, содержит последовательность, оптимизированную по кодонам.

34. Композиция по любому из пп. 27-32, отличающаяся тем, что экзогенная нуклеиновая кислота, которая кодирует хемокиновый рецептор или его функциональный домен, или его вариант, содержит последовательность, не оптимизированную по кодонам.

35. Композиция по п. 27, отличающаяся тем, что модификация генома включает

мутацию или полную или частичную делецию вирусного гена, содержащего по меньшей мере один из числа: A52R, B15R, K7R, A46R, N1L, E3L, K1L, M2L, C16, N2R, B8R., B18R или VN1 вируса осповакцины или его функционального домена, или фрагмента, или варианта, или любых их комбинаций.

36. Композиция по любому из пп. 1-35, дополнительно содержащая делецию гена тимидинкиназы.

37. Композиция по любому из пп. 1-36, дополнительно содержащая экзогенную нуклеиновую кислоту, кодирующую гиалуронидазу.

38. Композиция по п. 37, отличающаяся тем, что гиалуронидаза представляет собой PH-20 или HysA.

39. Композиция по любому из пп. 1-38, отличающаяся тем, что онколитический вирус представляет собой вирус осповакцины, а вирус осповакцины представляет собой штамм вируса осповакцины Western Reserve (ATCC VR-1354), штамм Copenhagen, штамм IND, штамм Wyeth (ATCC VR-325), штамм NYCBOH, штамм Tian Tan, штамм Lister, штамм Ankara (ATCC VR-1508 или ATTC VR1566), штамм USSR или штамм ACAM2000.

40. Фармацевтическая композиция, содержащая композицию по любому из пп. 1-39 и фармацевтически приемлемый эксципиент.

41. Фармацевтическая композиция по п. 40, отличающаяся тем, что эксципиент содержит один или несколько из числа буферного агента, стабилизатора, антиоксиданта, связующего вещества, разбавителя, диспергатора, агента, регулирующего скорость, смазочного вещества, скользящего вещества, разрыхлителя, пластификатора, консерванта или любых их комбинаций.

42. Фармацевтическая композиция по п. 40 или 41, отличающаяся тем, что эксципиент содержит дигидрат гидрофосфата натрия, дигидрат дигидрофосфата натрия, хлорид натрия, мио-инозитола, сорбитола или любых их комбинаций.

43. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 40-42, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция не содержит консервант.

44. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 40-42, дополнительно содержащая один или несколько из числа консерванта, разбавителя и носителя.

45. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 40-44, дополнительно содержащая дополнительный активный ингредиент или его соль.

46. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 40-45, отличающаяся тем, что эксципиентом является стерильная вода.

47. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 40-46, дополнительно содержащая дополнительный активный ингредиент, причем дополнительный активный

ингредиент представляет собой противоопухолевый агент или дополнительный онколитический вирус.

48. Способ снижения уменьшения клетки злокачественной опухоли, включающий введение в клетку злокачественной опухоли композиции по любому из пп. 1-39 или фармацевтической композиции по любому из пп. 40-47.

49. Способ лечения злокачественной опухоли, включающий: введение субъекту, имеющему злокачественную опухоль, композиции по любому из пп. 1-39 или фармацевтической композиции по любому из пп. 40-47.

50. Способ по п. 49, отличающийся тем, что введение включает внутриопухолевое введение, внутривентральное введение, пероральное введение, внутривенное введение, интраназальное введение, сублингвальное введение, ректальное введение, чрескожное введение или любую их комбинацию.

51. Способ по любому из пп. 48-50, включающий введение дополнительной терапии, причем дополнительная терапия включает химиотерапию, лучевую терапию, онколитическую вирусную терапию с дополнительным вирусом, лечение иммуномодулирующими белками, клеточную терапию CAR T, противоопухолевый агент или любые их комбинации.

52. Способ по п. 51, отличающийся тем, что дополнительная терапия включает введение иммуномодулирующего средства, содержащего анти-CD33 антитело и его вариабельную область, анти-CD11b антитело и его вариабельную область, ингибитор COX2, цитокин, хемокин, анти-CTLA4 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, анти-PD-L1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или агонист TLR.

53. Способ лечения, включающий введение субъекту, нуждающемуся в этом, композиции по любому из пп. 1-39 или фармацевтической композиции по любому из пп. 40-47.

54. Способ по п. 53, отличающийся тем, что введение включает внутриопухолевое введение.

55. Способ по п. 53, отличающийся тем, что введение включает системное введение.

56. Способ по п. 55, отличающийся тем, что системное введение включает по меньшей мере одно из числа: внутривентрального введения, перорального введения, внутривенного введения, интраназального введения, сублингвального введения, ректального введения, чрескожного введения или любой их комбинации.

57. Способ по любому из пп. 53-56, отличающийся тем, что субъект имеет

злокачественную опухоль, и где злокачественная опухоль представляет собой по меньшей мере одну из числа: меланомы, гепатоцеллюлярной карциномы, рака молочной железы, рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, рака брюшины, рака предстательной железы, рака мочевого пузыря, рака яичников, лейкоза, лимфомы, почечно-клеточного рака, рака поджелудочной железы, эпителиальной карциномы, аденокарциномы желудка/перехода желудок-пищевод, рака шейки матки, рака толстой кишки, колоректального рака, рака двенадцатиперстной кишки, аденокарциномы поджелудочной железы, адено-кистозной опухоли, саркомы, мезотелиомы, мультиформной глиобластомы, астроцитомы, множественной миеломы, карциномы предстательной железы, гепатоцеллюлярной карциномы, холангиокарциномы, аденокарциномы поджелудочной железы, плоскоклеточной карциномы головы и шеи, плоскоклеточной карциномы шейки матки, остеосаркомы, эпителиальной карциномы яичника, острой лимфобластной лимфомы, миелопролиферативного новообразования или любой их комбинации.

58. Способ по любому из пп. 53-57, отличающийся тем, что композицию или фармацевтическую композицию вводят в дозе от около 10^6 БОЕ/мл до около 10^{10} БОЕ/мл онколитического вируса.

59. Способ по любому из пп. 53-57, отличающийся тем, что композицию или фармацевтическую композицию вводят в дозе около 3×10^9 БОЕ/мл онколитического вируса.

60. Способ по любому из пп. 53-57, отличающийся тем, что композицию или фармацевтическую композицию вводят тремя дозами, и при этом каждую из трех доз вводят в количестве и в течение периода введения, независимого от любой другой дозы.

61. Способ по п. 60, отличающийся тем, что три дозы вводят в виде первой дозы, второй дозы и третьей дозы, и при этом первая доза ниже, чем вторая доза, а вторая доза ниже, чем третья доза.

62. Способ по п. 60, отличающийся тем, что три дозы вводят в виде первой дозы, второй дозы и третьей дозы, и при этом первая доза выше, чем вторая доза, а вторая доза выше, чем третья доза.

63. Способ по п. 61 или 62, отличающийся тем, что период введения каждой из трех доз независимо составляет около 1 дня, около 2 дней, около 3 дней, около 4 дней, около 5 дней, около 6 дней, около 1 недели, около 2 недель, около 3 недель, около 4 недель, около 6 недель, около 7 недель, около 8 недель, около 9 недель, около 10, недель, около 12 недель, около 4 месяцев, около 5 месяцев, около 6 месяцев, около 7 месяцев, около 8 месяцев, около 9 месяцев, около 10 месяцев, около 11 месяцев или около 1 года.

64. Способ по любому из пп. 53-63, отличающийся тем, что композиция или

фармацевтическая композиция независимо содержат жидкую лекарственную форму, которую вводят в объеме от около 1 мл до около 5 мл, от около 5 мл до 10 мл, от около 15 мл до около 20 мл, от около 25 мл до около 30 мл, от около 30 мл до около 50 мл, от около 50 мл до около 100 мл, от около 100 мл до около 150 мл, от около 150 мл до около 200 мл, от около 200 мл до около 250 мл от около 250 мл до около 300 мл, от около 300 мл до около 350 мл, от около 350 мл до около 400 мл, от около 400 мл до около 450 мл, от около 450 мл до около 500 мл, от около 500 мл до около 750 мл или от около 750 мл до 1000 мл.

65. Способ по любому из пп. 53-63, отличающийся тем, что композицию или фармацевтическую композицию вводят в жидкой лекарственной форме, твердой лекарственной форме, ингаляционной лекарственной форме, интраназальной лекарственной форме, липосомальном составе, лекарственной форме, содержащей наночастицы, лекарственной форме, содержащей микрочастицы, полимерной лекарственной форме или любой их комбинации.

66. Способ по любому из пп. 53-63, отличающийся тем, что композицию или фармацевтическую композицию вводят в течение около 1 дня, около 2 дней, около 3 дней, около 4 дней, около 5 дней, около 6 дней, около 1 недели, около 2 недель, около 3 недель, около 4 недель, около 6 недель, около 7 недель, около 8 недель, около 9 недель, около 10 недель, около 12 недель, около 4 месяцев, около 5 месяцев, около 6 месяцев, около 7 месяцев, около 8 месяцев, около 9 месяцев, около 10 месяцев, около 11 месяцев или около 1 года.

67. Способ по любому из пп. 53-66, отличающийся тем, что композицию или фармацевтическую композицию вводят один раз в день, два раза в день, один раз в неделю, один раз в две недели или один раз в три недели.

68. Способ по любому из пп. 53-67, отличающийся тем, что композицию или фармацевтическую композицию вводят в виде болюсной инъекции или медленной инфузии.

69. Способ по любому из пп. 53-68, отличающийся тем, что введение композиции или фармацевтической композиции приводит к достижению первого пика вирусной нагрузки через период от около 1 часа до около 3 дней и второго пика вирусной нагрузки через период от около 3 дней до около 10 дней от введения первой дозы.

70. Способ по любому из пп. 53-69, включающий введение дополнительной терапии, при этом дополнительную терапию проводят в течение около 1 дня, около 2 дней, около 3 дней, около 4 дней, около 5 дней, около 6 дней, около 1 недели, около 2 недель, около 3 недель, около 4 недель, около 6 недель, около 7 недель, около 8 недель, около 9 недель, около 10 недель или около 12 недель.

71. Способ по п. 70, отличающийся тем, что дополнительную терапию проводят один раз в день, два раза в день, один раз в 1 день, один раз в 2 дня, один раз в 3 дня, один раз в 4 дня, один раз в 5 дней, один раз в 6 дней, один раз в 1 неделя, один раз в 2 недели, один раз в 3 недели, один раз в 4 недели, один раз в 6 недель, один раз в 7 недель, один раз в 8 недель, один раз в 9 недель, один раз в 10 недель, один раз в 12 недель, один раз каждые 4 месяца, один раз в 5 месяцев, один раз в 6 месяцев, один раз в 7 месяцев, один раз в 8 месяцев, один раз в 9 месяцев, один раз в 10 месяцев, один раз в 11 месяцев или один раз в 1 год.

72. Способ по п. 70 или 71, отличающийся тем, что дополнительную терапию вводят в виде жидкой лекарственной формы, твердой лекарственной формы, лекарственной формы для ингаляции, интраназальной лекарственной форме, липосомального состава, дозированной формы, содержащей наночастицы, лекарственной формы, содержащей микрочастицы, полимерной лекарственной формы или любой их комбинации.

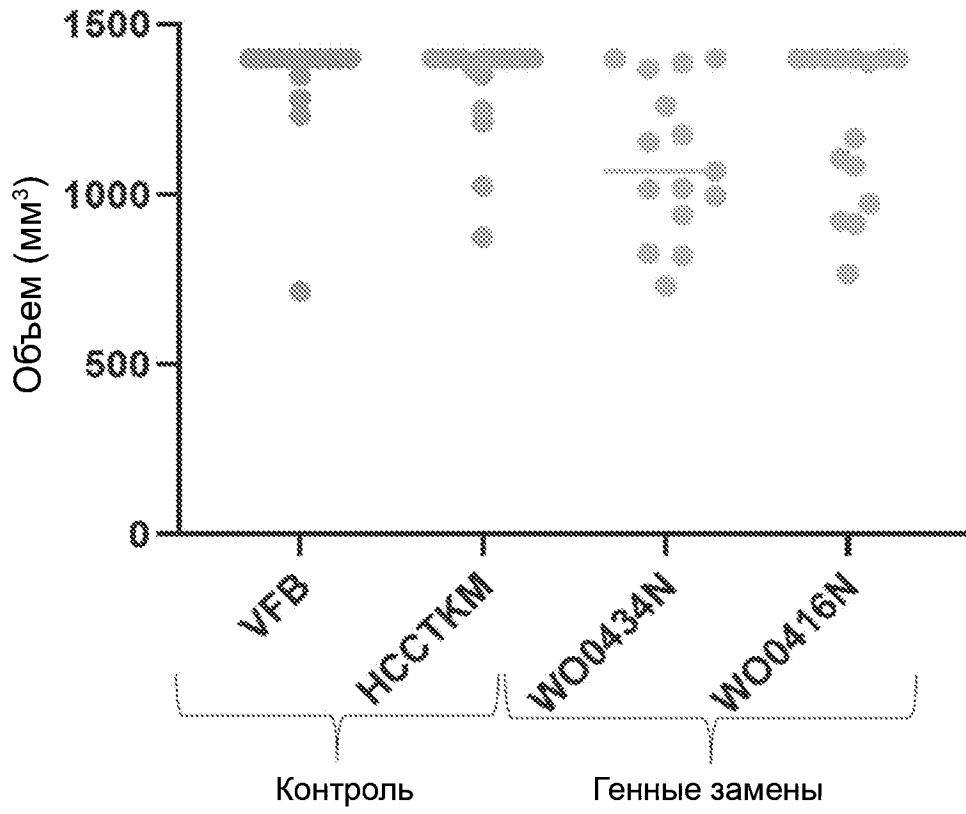
73. Способ по любому из пп. 70-72, отличающийся тем, что дополнительную терапию проводят перорально, внутривенно, посредством внутриопухолевой инъекции, внутривентрикулярной инъекции или посредством облучения.

74. Способ по любому из пп. 70-73, отличающийся тем, что дополнительная терапия включает химиотерапию, лучевую терапию, онколитическую вирусную терапию с использованием дополнительного вируса, лечение иммуномодулирующими белками, клеточную терапию CAR T, противоопухолевый агент или любые их комбинации.

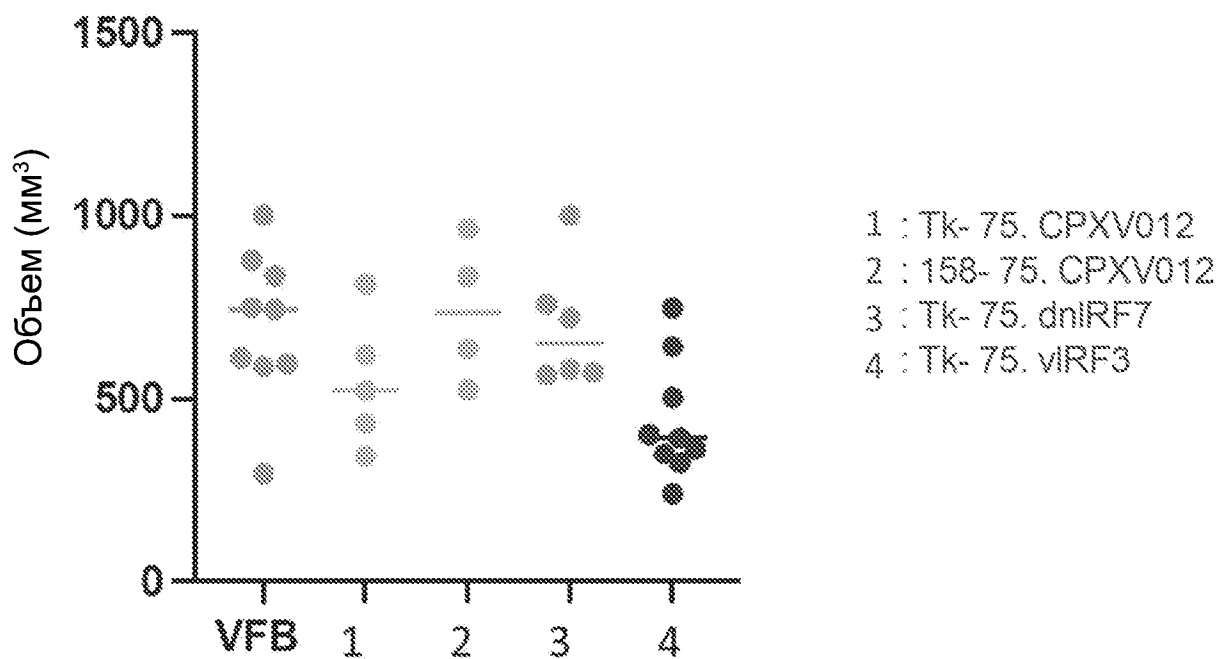
75. Способ по п. 74, отличающийся тем, что дополнительная терапия включает введение иммуномодулирующего средства, содержащего анти-CD33 антитело и его вариабельную область, анти-CD11b антитело и его вариабельную область, ингибитор COX2, цитокин, хемокин, анти-CTLA4. антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, анти-PD-1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, анти-PD-L1 антитело или его антигенсвязывающий фрагмент, или агонист TLR.

76. Способ по п. 75, отличающийся тем, что дополнительная терапия включает введение противоопухолевого агента, причем противоопухолевый агент представляет собой химиотерапевтический агент.

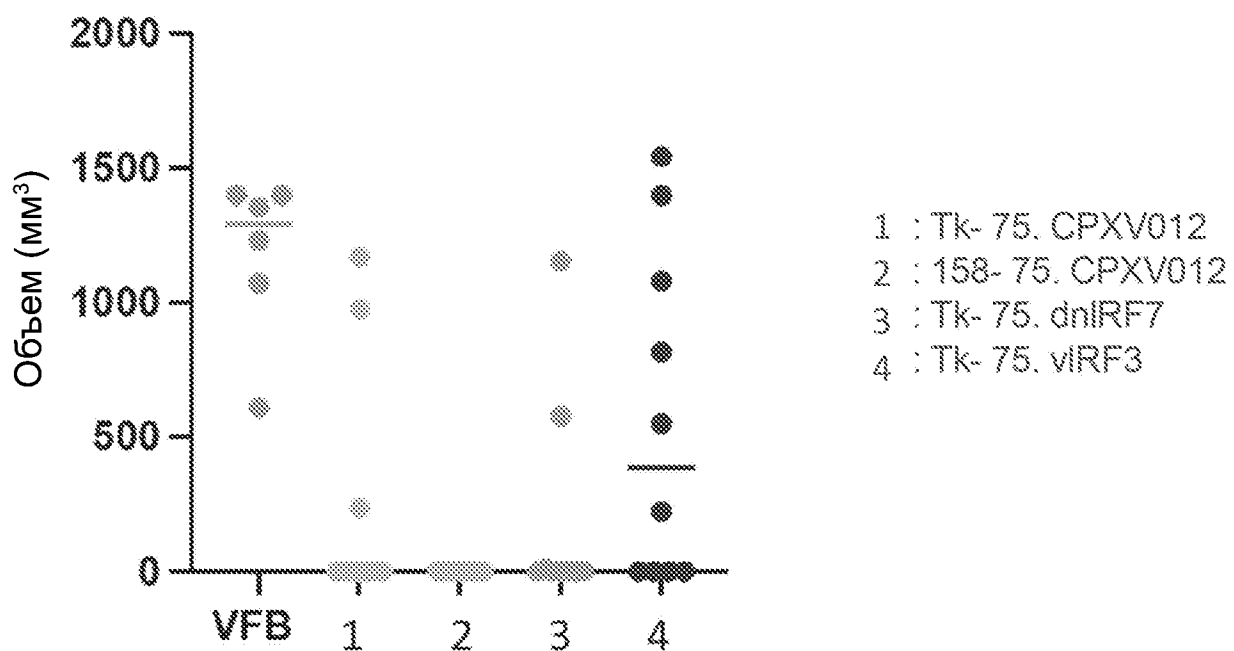
77. Способ по любому из пп. 53-76, отличающийся тем, что субъектом является человек.



Фиг. 1



Фиг. 2А



Фиг. 2В