

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **047647**

(13) **B1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2024.08.19

(21) Номер заявки
202191919

(22) Дата подачи заявки
2020.01.09

(51) Int. Cl. **A61K 39/00** (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)

(54) **НЕОАНТИГЕНЫ ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ**

(31) **62/790,673; 62/851,273; 62/883,786;
62/913,969**

(32) **2019.01.10; 2019.05.22; 2019.08.07;
2019.10.11**

(33) **US**

(43) **2022.01.26**

(86) **PCT/IB2020/050145**

(87) **WO 2020/144615 2020.07.16**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ЯНССЕН БАЙОТЕК, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
**Бахман Кертис Э., Бхаргава Випул,
Дэвис Дэрил Л., Кришна Винод
(US), Леони Гвидо (IT), Покалык
Дэвид, Сафабахш Пегах, Сепульведа
Мануэль, Сиджел Дерик, Готгардис
Марко (US)**

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

(56) **WO-A2-2016187508
WO-A1-2018098362
WO-A1-2017020026
RICARDO G. CORREA ET AL.: "The NLR-
related protein NWD1 is associated with prostate
cancer and modulates androgen receptor signaling",
ONCOTARGET, 26 March 2014 (2014-03-26), pages
1666-1682, XP055688954, the whole document
WO-A1-2018037085**

(57) Изобретение относится к неоантигенам предстательной железы, кодирующим их полинуклеотидам, векторам, клеткам-хозяевам, рекомбинантным вирусным частицам, вакцинам, содержащим неоантигены, белковым молекулам, связывающим неоантигены предстательной железы, а также способам их получения и применения.

B1

047647

047647

B1

Перекрестные ссылки на смежные заявки

Настоящая заявка испрашивает преимущество по предварительной заявке на патент США с серийным номером 62/913969, поданной 11 октября 2019 г., предварительной заявке на патент США с серийным номером 62/883786, поданной 07 августа 2019 г., предварительной заявке на патент США с серийным номером 62/851273, поданной 22 мая 2019 г., и предварительной заявке на патент США с серийным номером 62/790673, поданной 10 января 2019 г., полное содержание указанных выше заявок полностью включено в настоящий документ путем ссылки.

Перечень последовательностей

Настоящая заявка содержит перечень последовательностей, представленных по сети EFS-Web, все содержание которого полностью включено в настоящий документ путем ссылки. Текстовый файл ASCII, созданный 16 декабря 2019 г., назван JBI6160WOPCT2_ST25.txt и имеет размер 554 килобайт.

Предпосылки создания изобретения

Рак предстательной железы - чаще всего встречающаяся не кожная злокачественная опухоль у мужчин и вторая ведущая причина смерти у мужчин от рака в западном мире. Рак предстательной железы обусловлен неконтролируемым ростом аномальных клеток предстательной железы. При развитии раковой опухоли предстательной железы андрогены, такие как тестостерон, стимулируют развитие рака предстательной железы. На ранних стадиях локализованный рак предстательной железы часто излечим с помощью местной терапии, включая, например, хирургическое удаление предстательной железы и радиотерапию. Однако в случае неспособности местной терапии излечить рак предстательной железы, что происходит практически у трети мужчин, заболевание прогрессирует в неизлечимое метастатическое заболевание.

Многие годы признанным стандартом лечения для мужчин со злокачественным кастрационно-резистентным раком предстательной железы (mCRPC) была доцетаксельная химиотерапия. В последнее время для лечения метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы был одобрен абиратерона ацетат (ZYTIGA®) в комбинации с преднизолоном. Для лечения метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы на рынке также появились агенты, мишенями которых являются андрогеновые рецепторы (AR), такие как энзалутамид (XTANDI®). В ряде клинических исследований проводились испытания химиотерапии с применением производных платины для пациентов с раком предстательной железы при неселективном молекулярном отборе, при этом отмечались ограниченные результаты и высокая токсичность. Вместе с тем существует подгруппа пациентов, организм которых либо изначально не демонстрирует ответ, либо становится невосприимчивым (или резистентным) по отношению к таким схемам лечения. Для таких пациентов не существует одобренных вариантов лечения.

Таким образом, сохраняется потребность в терапии рака предстательной железы, включая гормоночувствительную, характеризующуюся высоким риском без предшествующей гормональной терапии и кастрационно-резистентную формы рака предстательной железы.

Краткое описание изобретения

В настоящем описании предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий полипептид SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полинуклеотид, содержащий полинуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500,

501, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 или 540, или их фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457 и 458, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 и 447, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 и 447, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий один или более полипептидов SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438,

439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты;

один или более полинуклеотидов SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457 или 458, или их фрагменты;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 и 447, а также их фрагментов; или

гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457 и 458, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен рекомбинантный аденовирус человека (rAd), содержащий вектор в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена рекомбинантная модифицированная оспавакцина Анкара (rMVA), содержащая вектор в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложен рекомбинантный аденовирус человекообразных обезьян (rGAd), содержащий вектор в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена клетка, содержащая вектор в соответствии с настоящим описанием или рекомбинантный вирус в соответствии с настоящим описанием или трансдуцированная ими.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая полинуклеотид в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая полипептид в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полипептид в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая вектор в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая rAd в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая rMVA в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая rGAd в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая клетку в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена фармацевтическая композиция, содержащая вакцину в

соответствии с настоящим описанием и фармацевтически приемлемый носитель или адъювант.

В настоящем описании также предложен набор, содержащий одну или более вакцин в соответствии с настоящим описанием или фармацевтическую композицию в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложен способ предотвращения или лечения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества одной или более вакцин в соответствии с настоящим описанием или одной или более фармацевтических композиций в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложен способ индукции иммунного ответа против одного или более полипептидов SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагментов у субъекта, включающий введение субъекту одной или более вакцин в соответствии с настоящим изобретением,

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полинуклеотид, кодирующий два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, 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 или 41 полипептид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, 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 или 41 полипептид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, 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 или 41 полипептид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов;

гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 276, 382, 334, 338, 270, 254, 310, 326, 272, 306, 252, 246, 262, 266, 318, 256, 278, 298, 286, 448, 450, 453, 455, 380, 344, 212, 350, 214, 216, 222, 220, 226, 346, 354, 236, 224, 168, 172, 20, 24, 178, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 и 540, а также их фрагментов;

гетерологичный полинуклеотид, содержащий два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, 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 или 41 полинуклеотид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498 и 499, а также их фрагментов;

гетерологичный полинуклеотид, содержащий два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, 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 или 41 полинуклеотид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 и 540, а также их фрагментов;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 541, 550, 554, 555, 556, 623 или 624;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 543, 552, 557, 558, 559, 625 или 626;

гетерологичный полинуклеотид, содержащий полинуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 542 или SEQ ID NO: 551; или

гетерологичный полинуклеотид, содержащий полинуклеотидную последовательность SEQ ID NO:

214, 216, 222, 220, 226, 346, 354, 236, 224, 168, 172, 20, 24 и 178, а также их фрагментов;

гетерологичный полинуклеотид, содержащий два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, 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 или 41 полинуклеотид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498 и 499, а также их фрагментов; или

гетерологичный полинуклеотид, содержащий два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, 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 или 41 полинуклеотид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 и 540, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, 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 или 41 полипептид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен способ лечения или предотвращения рака предстательной железы у субъекта, включающий:

введение субъекту терапевтически эффективного количества вакцины, содержащей гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, 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 или 41 полипептид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов в качестве праймирования; и

введение субъекту терапевтически эффективного количества вакцины, содержащей гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, 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 или 41 полипептид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов в качестве бустирования; тем самым обеспечивая лечение или предотвращение рака предстательной железы у субъекта.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 541, 550, 554, 555, 556, 623 или 624.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 543, 552, 557, 558, 559, 625 или 626.

В настоящем описании также предложен способ лечения или предотвращения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту

первой вакцины, содержащей первый гетерологичный полинуклеотид, кодирующий первый гетерологичный полипептид, причем первый гетерологичный полипептид содержит два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177; и

второй вакцины, содержащей второй гетерологичный полинуклеотид, кодирующий второй гетерологичный полипептид, причем второй гетерологичный полипептид содержит два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177; при этом первый гетерологичный полипептид и второй гетерологичный полипептид имеют разные аминокислотные последовательности.

В настоящем описании также предложен способ индукции иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту

первой вакцины, содержащей первый гетерологичный полинуклеотид, кодирующий первый гетерологичный полипептид, причем первый гетерологичный полипептид содержит два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177; и

второй вакцины, содержащей второй гетерологичный полинуклеотид, кодирующий второй гетерологичный полипептид, причем второй гетерологичный полипептид содержит два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221,

219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177; при этом первый гетерологичный полипептид и второй гетерологичный полипептид имеют разные аминокислотные последовательности.

В настоящем описании также предложена выделенная белковая молекула, которая специфически связывается с полипептидом в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложен способ предотвращения или лечения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту белковой молекулы в соответствии с настоящим описанием.

Следует понимать, что вышеописанные варианты осуществления изобретения охватывают полипептиды, содержащие также, в дополнение к конкретно перечисленным полипептидам и их фрагментам, дополнительные полипептидные последовательности, включая один или более полипептидов, отличных от конкретно перечисленных. Аналогичным образом приведенные выше варианты осуществления настоящего изобретения также охватывают полинуклеотиды, содержащие также, в дополнение к конкретно перечисленным полинуклеотидам и их фрагментам, дополнительные полинуклеотидные последовательности, включая один или более полинуклеотидов, отличных от конкретно перечисленных полинуклеотидов.

Краткое описание графических материалов

На фиг. 1 показаны в виде рисунка химерные сквозные слияния между геном А и геном В. Неоантигенные пептидные последовательности возникают на участке соединения точек разрыва.

На фиг. 2 показаны в виде рисунка слияния генов в результате хромосомного изменения, такого как транслокации ДНК.

На фиг. 3 показаны в виде рисунка варианты сплайсинга с 5' и 3'-концевыми сайтами альтернативного сплайсинга, сохраненными интронами, исключенными экзонами или альтернативными терминациями или вставками.

На фиг. 4 в виде рисунка представлен подход к идентификации вариантов сплайсинга.

На фиг. 5А показана точечная диаграмма проточной цитометрии, иллюстрирующая частоту появления Т-клеток $TNF\alpha^+IFN\gamma^+CD8^+$ в образцах МКПК без стимуляции (ДМСО).

На фиг. 5В показана точечная диаграмма проточной цитометрии, иллюстрирующая частоту появления Т-клеток $TNF\alpha^+IFN\gamma^+CD8^+$ в образцах МКПК после стимуляции пептидом СЕФ.

На фиг. 5С показана точечная диаграмма проточной цитометрии, иллюстрирующая частоту появления Т-клеток $TNF\alpha^+IFN\gamma^+CD8^+$ в образцах МКПК после стимуляции с помощью Р16.

На фиг. 5D показана точечная диаграмма проточной цитометрии, иллюстрирующая частоту появления $TNF\alpha^+IFN\gamma^+CD8^+$ Т-клеток в образцах МКПК после стимуляции с помощью Р98.

На фиг. 5Е показана точечная диаграмма проточной цитометрии, иллюстрирующая частоту появления Т-клеток $TNF\alpha^+IFN\gamma^+CD8^+$ в образцах МКПК после стимуляции аутоантигеном Р3.

На фиг. 6 показано число пациентов с раком предстательной железы, у которых образцы МКПК демонстрировали положительный иммунный ответ на указанные неоантигены. Р3, Р6, Р7, Р9 и Р92 представляют собой аутоантигены.

На фиг. 7 показано число пациентов с раком предстательной железы, у которых образцы МКПК демонстрировали положительный иммунный ответ $CD4^+$ на указанные неоантигены.

На фиг. 8 показано число пациентов с раком предстательной железы, у которых образцы МКПК демонстрировали положительный иммунный ответ $CD8^+$ на указанные неоантигены.

Подробное описание

Определения

Все публикации, включая, без ограничений, патенты и заявки на патенты, цитируемые в данном описании, включены в настоящий документ путем ссылки, как если бы они были полностью изложены в настоящем документе.

Следует понимать, что применяемые в настоящем документе термины предназначены только для описания конкретных вариантов осуществления и не имеют ограничительного характера. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящем документе, имеют общепринятое значение, понятное любому специалисту в области, к которой относится изобретение.

В настоящем документе описаны иллюстративные способы и материалы, хотя при практическом осуществлении для проверки настоящего изобретения могут быть использованы любые способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, которые описаны в настоящем документе. При описании и изложении формулы настоящего изобретения будут применяться следующие термины.

При использовании в этом описании и в прилагаемой формуле изобретения формы единственного числа включают и множественное число, если содержание текста четко не указывает на иное. Так, например, ссылка на "клетку" включает в себя комбинацию двух или более клеток и т.п.

Переходные термины "содержащий", "состоящий по существу из" и "состоящий из" предназначены для обозначения их по существу общепринятых патентных значений; то есть (i) термин "содержащий", который является синонимом терминам "включающий", "содержащий" или "характеризующийся", является включающим или неограниченным и не исключает дополнительные, неуказанные элементы или

стадии способа; (ii) "состоящий из" исключает любой элемент, стадию или ингредиент, не указанный в формуле изобретения; и (iii) "состоящий по существу из" ограничивает объем формулы изобретения конкретными материалами или стадиями "и теми, которые не оказывают существенного влияния на основные и новые характеристики" заявленного изобретения. Варианты осуществления, описанные в отношении фразы "содержащий" (или его эквивалентов), обеспечивают такое же значение, как варианты осуществления, описанные независимо друг от друга в отношении фразы "состоящий из" и "состоящий по существу из".

При использовании в настоящем описании и прилагаемой формуле изобретения фраза "а также их фрагменты" при добавлении к списку включает в себя фрагменты одного или более членов соответствующего списка. Список может содержать группу Маркуша, так что, например, фраза "группа, состоящая из пептидов А, В и С и их фрагментов" указывает или перечисляет группу Маркуша, включая А, В, С, фрагменты А, фрагменты В и/или фрагменты С.

Термин "выделенный" относится к однородной популяции молекул (таких как синтетические полинуклеотиды или полипептиды), которые были по существу отделены и/или очищены от других компонентов той системы, в которой данные молекулы формировались, такой как рекомбинантная клетка, а также к белку, который был подвергнут по меньшей мере одной стадии очистки или выделения. Термин "выделенный" относится к молекуле, которая по существу не содержит иных клеточных материалов и/или химических веществ и охватывает молекулы, которые выделены с более высокой чистотой, такой как 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% чистотой.

Термин "полинуклеотид" относится к синтетической молекуле, содержащей цепь нуклеотидов, ковалентно связанных через сахарофосфатную основную цепь или другую эквивалентную ковалентную химическую структуру. кДНК является типичным примером полинуклеотида.

Термин "полипептид" или "белок" относится к молекуле, которая содержит по меньшей мере два аминокислотных остатка, связанных пептидной связью с образованием полипептида. Малые полипептиды, содержащие менее 50 аминокислот, могут называться "пептидами".

Термин "иммуногенный фрагмент" относится к полипептиду, который распознается цитотоксическими Т-лимфоцитами, хелперными Т-лимфоцитами или В-клетками, когда фрагмент находится вместе с молекулами МНС класса I или МНС класса II.

Термин "внутри рамки считывания" относится к рамке считывания кодонов в первом полинуклеотиде, которая совпадает с рамкой считывания кодонов во втором полинуклеотиде, которые связаны вместе с образованием гетерологичного полинуклеотида. Гетерологичный полинуклеотид внутри рамки считывания кодирует гетерологичный полипептид, кодируемый как первым полинуклеотидом, так и вторым полинуклеотидом.

Термин "иммуногенный" относится к полипептиду, который содержит один или более иммуногенных фрагментов.

Термин "гетерологичный" относится к двум или более полинуклеотидам или двум или более полипептидам, не находящимся в одинаковых отношениях друг к другу в природе.

Термин "гетерологичный полинуклеотид" относится к не встречающемуся в природе полинуклеотиду, который кодирует два или более неоантигенов, как описано в настоящем документе.

Термин "гетерологичный полипептид" относится к не встречающемуся в природе полипептиду, содержащему два или более неоантигенных полипептида, как описано в настоящем документе.

Термин "не встречающийся в природе" относится к молекуле, которая не существует в природе.

Термин "вектор" относится к полинуклеотиду, который способен к удвоению внутри биологической системы, или может быть перемещен между такими системами. Полинуклеотиды-векторы, как правило, содержат элементы, такие как точки начала репликации, сигнал полиаденилирования или селективные маркеры, функция которых состоит в том, чтобы способствовать удвоению или сохранению таких полинуклеотидов в биологической системе. Примеры таких биологических систем могут включать клетку, вирус, животное, растение и реконструированные биологические системы, использующие биологические компоненты, способные к удвоению вектора. Содержащий вектор полинуклеотид может представлять собой молекулы ДНК или РНК или их гибрид.

Термин "экспрессионный вектор" относится к вектору, который можно использовать в биологической системе или реконструированной биологической системе для управления трансляцией полипептида, кодируемого полинуклеотидной последовательностью, присутствующей в экспрессионном векторе.

Термин "вирусный вектор" относится к конструкции вектора, которая включает по меньшей мере один полинуклеотидный элемент вирусного происхождения и может быть упакована в частицу вирусного вектора.

Термин "неоантиген" относится к полипептиду, присутствующему в опухолевой ткани предстательной железы и имеющему по меньшей мере одно изменение, которое отличает его от соответствующего полипептида дикого типа, присутствующего в незлокачественной ткани, например, посредством мутации в опухолевой клетке или посттрансляционной модификации, специфической для

опухолевой клетки. Мутация может включать вставку или делецию со сдвигом рамки считывания или без сдвига рамки считывания, миссенс-замену или нонсенс-замену, изменение сайта сплайсинга, варианты aberrантного сплайсинга, геномную перестройку или слияние генов или любое геномное или экспрессионное изменение, приводящее к образованию неоантигена.

Термин "распространенность" относится к процентной доле исследуемой популяции, имеющей неоантиген предстательной железы.

Термин "рекомбинантный" относится к полинуклеотидам, полипептидам, векторам, вирусам и другим макромолекулам, которые получены, экспрессированы, созданы или выделены рекомбинантными средствами.

Термин "вакцина" относится к композиции, которая содержит один или более иммуногенных полипептидов, иммуногенных полинуклеотидов или фрагментов или любую их комбинацию, намеренно введенную для индуцирования приобретенного иммунитета у реципиента (например, у субъекта).

Термины "лечить", "осуществление лечения" или "лечение" заболевания или расстройства, такого как рак, относятся к выполнению одного или более из следующего: снижение тяжести и/или продолжительности расстройства, ингибирование ухудшения симптомов, характерных для подлежащего лечению расстройства, ограничение или предотвращение рецидива расстройства у субъектов с ранее имевшимся расстройством, либо ограничение или предотвращение рецидива симптомов у субъектов, имеющих ранее симптомы расстройства.

Термины "предотвращать", "предупреждение", "предотвращение" или "профилактика" заболевания или расстройства означают предотвращение возникновения расстройства у субъекта.

Термин "терапевтически эффективное количество" относится к некоторому количеству, эффективному в дозах и в течение периодов времени, необходимых для достижения желаемого терапевтического результата. Терапевтически эффективное количество может изменяться в зависимости от таких факторов, как течение заболевания, возраст, пол и масса тела субъекта, а также от способности терапевтического средства или комбинации терапевтических средств вызывать у субъекта желаемый ответ. Примеры показателей эффективного терапевтического средства или комбинации терапевтических средств, которые включают в себя, например, улучшенное самочувствие пациента.

Термин "рецидивирующий" относится к повторному возникновению заболевания или признаков и симптомов заболевания после периода улучшения после предшествующего лечения терапевтическим средством.

Термин "рефрактерный" относится к заболеванию, которое не реагирует на лечение. Рефрактерное заболевание может быть устойчивым к лечению до или в начале лечения или рефрактерное заболевание может стать устойчивым во время лечения.

Термин "пациент" включает в себя любого человека или не относящееся к человеку животное. Термин "не относящееся к человеку животное" включает в себя всех позвоночных, например млекопитающих и немлекопитающих, таких как приматы, овцы, собаки, кошки, лошади, коровы, куры, амфибии, рептилии и т.д. Термины "субъект" и "пациент" в настоящем документе могут применяться взаимозаменяемо.

Выражение "в комбинации с" означает, что два или более терапевтических агента вводят субъекту вместе в смеси, одновременно в виде отдельных агентов или последовательно в виде отдельных агентов в любом порядке.

Термины "усилить" или "индуцировать" в отношении иммунного ответа относятся к повышению масштаба и/или эффективности иммунного ответа или увеличению длительности иммунного ответа. Термины используются взаимозаменяемо с термином "усилиться".

Термин "иммунный ответ" относится к любому ответу на иммуногенный полипептид, или полинуклеотид, или фрагмент иммунной системы субъекта, относящегося к позвоночным. Примеры иммунных ответов включают местные и системные клеточные ответы, а также гуморальный иммунитет, такой как ответы цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL), включая антиген-специфическую индукцию CTL CD8⁺, ответы хелперных Т-клеток, включая пролиферативные Т-клеточные ответы и высвобождение цитокинов, и В-клеточные ответы, включая выделение антител.

Термины "специфически связывается", "специфическое связывание", "специфически связывает" или "связывает" относятся к связыванию белковой молекулы с антигеном или эпитопом в пределах антигена (например, с неоантигеном предстательной железы) с большей аффинностью, чем у других антигенов. Как правило, белковая молекула связывается с антигеном или эпитопом в пределах антигена с равновесной константой диссоциации (K_D) около 1×10^{-7} М или менее, например около 5×10^{-8} М или менее, около 1×10^{-8} М или менее, около 1×10^{-9} М или менее, около 1×10^{-10} М или менее, около 1×10^{-11} М или менее или около 1×10^{-12} М или менее, как правило, со значением K_D , которое по меньшей мере в сто раз ниже его значения K_D связывания с неспецифическим антигеном (например, BSA, казеином). В контексте неоантигенов предстательной железы, описанных в настоящем документе, термин "специфическое связывание" относится к связыванию белковой молекулы с неоантигеном предстательной железы без обнаружимого связывания с белком дикого типа, вариантом которого

является неоантиген.

Термины "вариант", "мутант" или "измененный" относятся к полипептиду или полинуклеотиду, который отличается от эталонного полипептида или эталонного полинуклеотида одной или более модификациями, например одной или более заменами, вставками или делециями.

Термин "антитело" относится к молекуле иммуноглобулина, включая моноклональные антитела, в том числе мышинные, человеческие, гуманизированные и химерные моноклональные антитела, антигенсвязывающие фрагменты, биспецифические или мультиспецифические антитела, димерные, тетрамерные или мультимерные антитела, одноцепочечные антитела, доменные антитела и любую другую модифицированную конфигурацию молекулы иммуноглобулина, которая содержит антигенсвязывающий сайт требуемой специфичности.

"Полноразмерное антитело" состоит из двух тяжелых цепей (HC) и двух легких цепей (LC), соединенных между собой дисульфидными связями, а также из их мультимеров (например, IgM). Каждая тяжелая цепь состоит из переменного домена тяжелой цепи (VH) и константного домена тяжелой цепи, состоящей из субдоменов CH1, шарнирной области, CH2 и CH3. Каждая легкая цепь состоит из переменного домена легкой цепи (VL) и константного домена легкой цепи (CL). VH и VL можно дополнительно подразделить на области гипервариабельности, называемые определяющими комплементарность областями (CDR), между которыми располагаются каркасные области (FR). Каждая из VH и VL состоит из трех CDR и четырех сегментов FR, расположенных в направлении от аминоконца к карбокси-концу в следующем порядке: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 и FR4.

"Определяющие комплементарность области (CDR)" представляют собой области антител, которые связывают антиген. Существуют три CDR в области VH (HCDR1, HCDR2, HCDR3) и три CDR в области VL (LCDR1, LCDR2, LCDR3). CDR можно определить с помощью различных схем, например, по Кабат (Wu et al. (1970) *J Exp Med* 132: 211-50); Kabat et al *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991), Chothia (Chothia et al. (1987) *J Mol Biol* 196: 901-17), IMGT (Lefranc et al. (2003) *Dev Comp Immunol* 27: 55-77) и AbM (Martin and Thornton *J Mol Biol* 263: 800-15, 1996). Описано соответствие между различными системами разграничения и нумерации переменных областей (см., например, Lefranc et al. (2003) *Dev Comp Immunol* 27: 55-77; Honegger and Pluckthun, *J Mol Biol* (2001) 309:657-70; база данных International Immunogenetics (IMGT); веб-ресурсы, <http://www.imgt.org>). Для разметки CDR можно использовать доступные программы, такие как abYsis от UCL Business PLC. Используемые в настоящем документе термины "CDR", "HCDR1", "HCDR2", "HCDR3", "LCDR1", "LCDR2" и "LCDR3" включают в себя CDR, определенные любым из способов, описанных выше, по Кабат, Чотиа, IMGT или AbM, если в описании явным образом не указано иное.

В зависимости от аминокислотной последовательности константной области тяжелой цепи иммуноглобулина могут относиться к пяти основным классам - IgA, IgD, IgE, IgG и IgM. IgA и IgG дополнительно подразделяются на изоформы IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4. Легкие цепи антител любых видов позвоночных в зависимости от аминокислотных последовательностей их константных доменов можно отнести к одному из двух четко отличающихся типов, а именно каппа (κ) и лямбда (λ).

Термин "антигенсвязывающий фрагмент" относится к части молекулы иммуноглобулина, которая сохраняет антигенсвязывающие свойства родительского полноразмерного антитела. Примерами антигенсвязывающих фрагментов являются определяющие комплементарность области тяжелой цепи (HCDR) 1, 2 и/или 3, определяющие комплементарность области легкой цепи (LCDR) 1, 2 и/или 3, VH, VL, VH и VL, фрагменты Fab, F(ab')₂, Fd и Fv, а также доменные антитела (dAb), состоящие либо из одного домена VH, либо из одного домена VL. Домены VH и VL могут быть связаны вместе посредством синтетического линкера с образованием различных типов конфигураций одноцепочечных антител, в которых домены VH/VL соединяются в пару внутримолекулярно или межмолекулярно в тех случаях, когда домены VH и VL экспрессируются в виде отдельных цепей с образованием одновалентного антигенсвязывающего сайта, например одноцепочечного Fv (scFv) или диатела; они описаны, например, в международной патентной публикации № WO 1998/44001, международной патентной публикации № WO 1988/01649, международной патентной публикации № WO 1994/13804 или международной патентной публикации № WO 1992/01047.

Термин "моноклональное антитело" относится к антителу, полученному из по существу гомогенной популяции молекул антител, т.е. индивидуальных антител, составляющих популяцию, идентичных за исключением возможных хорошо известных изменений, таких как удаление C-концевого лизина из тяжелой цепи антитела или посттрансляционные модификации, такие как изомеризация или деамидирование аминокислот, окисление метионина или аспарагина или деамидирование глутамин. Моноклональные антитела обычно связывают один антигенный эпитоп. Биспецифические моноклональные антитела связываются с двумя разными антигенными эпитопами. В пределах популяции антител моноклональные антитела могут иметь гетерогенное гликозилирование. Моноклональное антитело может быть моноспецифическим или мультиспецифическим, например биспецифическим, а также моновалентным, двухвалентным или мультивалентным.

Термин "гуманизированное антитело" относится к антителу, в котором по меньшей мере один CDR

получен из биологического вида, отличного от человека, а по меньшей мере один каркас получен из последовательностей человеческого иммуноглобулина. Гуманизованное антитело может включать в себя замены в каркасных областях, в результате чего каркасы могут не являться точной копией экспрессированного человеческого иммуноглобулина или человеческих генных последовательностей зародышевой линии.

Термин "человеческое антитело" относится к антителу, которое оптимизировано для обеспечения минимального иммунного ответа при введении человеческому индивиду. Варибельные области человеческого антитела получены из последовательностей иммуноглобулинов человека. Если антитело человека содержит константную область или часть константной области, то константная область также получена из последовательностей иммуноглобулинов человека. Человеческое антитело содержит варибельные области тяжелой и легкой цепи, которые "получены из" последовательностей человеческого происхождения, если варибельные области антитела человека получены из системы, в которой используется человеческий иммуноглобулин зародышевого типа или перестроенные гены иммуноглобулина. Такими примерами систем являются библиотеки генов иммуноглобулинов человека, отображаемые на фаге, и трансгенных животных, отличных от человека, таких как мыши или крысы, несущие локусы человеческих иммуноглобулинов. "Человеческое антитело", как правило, содержит аминокислотные отличия по сравнению с иммуноглобулинами, экспрессируемыми у людей, из-за различий между системами, используемыми для получения антител человека и локусов иммуноглобулинов человека, внедрения соматических мутаций или намеренного введения замен в каркасные участки или в CDR, либо и в то, и в другое. Как правило, "человеческое антитело" по аминокислотной последовательности по меньшей мере на около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентично аминокислотной последовательности, кодируемой генами иммуноглобулина человеческой зародышевой линии или перестроенными генами иммуноглобулина. В некоторых случаях "человеческое антитело" может содержать консенсусные каркасные последовательности, полученные в результате анализа каркасных последовательностей человека, например, как описано в Knappik et al., (2000) *J Mol Biol* 296:57-86, или синтетическую HCDR3, включенную в библиотеки генов иммуноглобулинов человека, отображаемые на фаге, например, как описано в публикации Shi et al., (2010) *J Mol Biol* 397:385-96 и международной патентной публикации № WO 2009/085462. Антитела, в которых по меньшей мере один CDR получен из биологического вида, отличного от человека, не подходят под определение антитела человека.

Термин "альтернативный каркас" относится к одноцепочечному белковому каркасу, который содержит структурированную сердцевину, связанную с варибельными доменами с высокой конформационной толерантностью. Варибельные домены допускают изменение, внесенное без ущерба для целостности каркаса, и, следовательно, варибельные домены можно конструировать и выбирать для связывания со специфическим антигеном.

Термин "химерный антигенный рецептор", или "CAR", относится к сконструированным Т-клеточным рецепторам, которые прививают лиганд или антигенную специфичность на Т-клетки (например, интактные Т-клетки, центральные Т-клетки памяти, эффекторные Т-клетки памяти или их комбинации). CAR также известны как искусственные Т-клеточные рецепторы, химерные Т-клеточные рецепторы или химерные иммунорецепторы. CAR содержат внеклеточный домен, способный связываться с антигеном, трансмембранный домен и по меньшей мере один внутриклеточный домен. Внутриклеточный домен CAR содержит полипептид, который, как известно, выполняет функцию домена, передающего сигнал для активации или ингибирования биологического процесса в клетке. Трансмембранный домен содержит любой пептид или полипептид, который, как известно, охватывает клеточную мембрану и может выполнять функцию связывания внеклеточного и сигнального доменов. Химерный антигенный рецептор может дополнительно содержать шарнирный домен, который служит в качестве линкера между внеклеточным и трансмембранным доменами.

Термины "Т-клеточный рецептор" или "ТКР" относятся к молекуле, способной распознавать пептид, если он представлен молекулой МНС. Гетеродимер ТКР природного происхождения состоит из альфа (α) и бета (β) цепи в около 95% Т-клеток, тогда как приблизительно 5% Т-клеток имеют ТКР, состоящий из гамма (γ) и дельта (δ) цепей. Каждая цепь природного ТКР является членом суперсемейства иммуноглобулинов и имеет один N-концевой варибельный (V) домен иммуноглобулина (Ig), один Ig-константный (C) домен, трансмембранную область и короткий цитоплазматический хвост на C-конце. Варибельный домен как α -цепи, так и β -цепи ТКР имеет три гиперварибельных или определяющих комплементарность участка (CDR), CDR1, CDR2 и CDR3, которые отвечают за распознавание обработанных антигенов, представленных на МНС.

ТКР может представлять собой полноразмерный гетеродимер α/β или γ/δ или растворимую молекулу, содержащую часть внеклеточного домена ТКР, которая сохраняет связывание комплекса пептид/МНС. ТКР может быть сконструирован в виде одноцепочечного ТКР.

Термины "Т-клеточный рецепторный комплекс" или "ТКР-комплекс" относятся к известному ТКР-комплексу, содержащему цепи ТКР α и ТКР β , молекулы CD3 ϵ , CD3 γ , CD3 δ и CD3 ζ . В некоторых случаях

цепи ТКР α и ТКР β замещены цепями ТКР γ и ТКР δ . Аминокислотные последовательности различных белков, образующих ТКР-комплекс, хорошо известны.

Термины "Т-клетка" и "Т-лимфоцит" являются взаимозаменяемыми и используются в настоящем документе как синонимы. Т-клетка включает тимоциты, наивные Т-лимфоциты, Т-клетки памяти, незрелые Т-лимфоциты, зрелые Т-лимфоциты, покоящиеся Т-лимфоциты или активированные Т-лимфоциты. Т-клетка может представлять собой клетку Т-хелпер (Th), например Т-хелпер 1 (Th1) или Т-хелпер 2 (Th2). Т-клетка может представлять собой хелперную Т-клетку (HTL; CD4⁺ Т-клетка) CD4⁺ Т-клетку, цитотоксическую Т-клетку (CTL; CD8⁺ Т-клетка), инфильтрирующую опухоль цитотоксическую Т-клетку (TIL; CD8⁺ Т-клетка), CD4⁺CD8⁺ Т-клетку или любую другую подгруппу Т-клеток. Также включены "NKT-клетки", относящиеся к специализированной популяции Т-клеток, которые экспрессируют полуинвариантный $\alpha\beta$ Т-клеточный рецептор, но также экспрессируют различные молекулярные маркеры, которые, как правило, ассоциированы с Nk-клетками, такими как NK1.1. NKT-клетки включают NK1.1⁺ и NK1.1⁻, а также клетки CD4⁺, CD4⁻, CD8⁺ и CD8⁻. ТКР на NKT-клетках является уникальным в том смысле, что он распознает гликолипидные антигены, представленные молекулой CD Id подобной молекуле МНС класса I. NKT-клетки могут оказывать защитное или пагубное воздействие благодаря их способности продуцировать цитокины, которые способствуют воспалению или иммунной толерантности. Также включены "гамма-дельта-Т-клетки ($\gamma\delta$ Т-клетки)", которые относятся к специализированной популяции, а именно к небольшой подгруппе Т-клеток, имеющей на своей поверхности отдельный ТКР, и в отличие от большинства Т-клеток, в которых ТКР состоит из двух гликопротеиновых цепей, обозначенных как α - и β -цепи ТКР, Т-клеточный рецептор в Т-клетках $\gamma\delta$ состоит из γ -цепи и δ -цепи. Т-клетки $\gamma\delta$ могут играть роль в иммунонадзоре и иммунорегуляции, и было обнаружено, что они являются важным источником IL-17 и индуцируют устойчивый цитотоксический CD8⁺ Т-клеточный ответ. Также включены "регуляторные Т-клетки" или "Treg", которые относятся к Т-клеткам, подавляющим аномальный или избыточный иммунный ответ и играющим роль в иммунной толерантности. Treg обычно представляют собой Foxp3-положительные CD4⁺Т-клетки и могут также включать Foxp3-отрицательные регуляторные Т-клетки, которые представляют собой IL-10-продуцирующие CD4⁺Т-клетки.

Термины "естественный киллер" или "NK-клетка" относятся к дифференцированному лимфоциту с фенотипом CD 16⁺ CD56⁺ и/или CD57⁺ TCR⁻. NK-клетки характеризуются способностью связываться с клетками, которые не экспрессируют "собственные" антигены МНС/HLA, и уничтожать их путем активации специфических цитолитических ферментов, способностью уничтожать опухолевые клетки или другие пораженные клетки, которые экспрессируют лиганд для рецепторов, активирующих NK-клетки, а также способностью высвобождать молекулы белка, называемые цитокинами, которые стимулируют или ингибируют иммунный ответ.

Термин "около" означает "в пределах приемлемого диапазона ошибки" для конкретного значения, определенного обычным специалистом в данной области, причем ошибка отчасти зависит от того, каким образом измерено или определено это значение, т.е. от ограничений системы измерения. Если в примерах или в других разделах настоящего описания в контексте конкретного анализа, результата или варианта осуществления явным образом не указано иное, термин "около" означает "в пределах одного среднеквадратичного отклонения" в соответствии с практикой, принятой в данной области, или "в диапазоне до 5%", в зависимости от того, что больше.

Термин "антигенпрезентирующая клетка" (АПК) относится к любой клетке, которая представляет на своей поверхности антиген в сочетании с молекулой главного комплекса гистосовместимости (МНС) - либо с МНС класса I, либо с МНС класса II, либо с обеими молекулами.

Термины "прайм-буст" или "режим праймирования-бустирования" относятся к способу лечения субъекта, включающему праймирование Т-клеточного ответа первой вакциной с последующим усилением иммунного ответа второй вакциной. Первая вакцина и вторая вакцина, как правило, различаются. Такие иммунизации с использованием режима праймирования-бустирования вызывают иммунные ответы большей интенсивности и охвата, чем это возможно при праймировании и бустировании одной и той же вакциной. На этапе праймирования иницируются клеточная память, а на этапе бустирования происходит расширение вторичного иммунного ответа. Бустирование может происходить один или несколько раз.

Термин "вспомогательный элемент" относится к любому полинуклеотидному или полипептидному элементу, функционально связанному с полинуклеотидом или полипептидом, и включает промоторы, энхансеры, сигналы полиаденилирования, стоп-кодоны, белковые метки, такие как гистидиновая метка, и т.п. В настоящем документе вспомогательные элементы включают в себя регуляторные элементы.

Термин "различный" в контексте полипептидных или полинуклеотидных последовательностей означает неидентичные полипептидные или полинуклеотидные последовательности.

Композиции изобретения

Настоящее описание относится к неоантигенам предстательной железы, кодирующим их полинуклеотидам, векторам, клеткам-хозяевам, вакцинам, содержащим неоантигены или

полинуклеотиды, кодирующие неоантигены, белковым молекулам, связывающим неоантигены предстательной железы, а также способам их получения и применения. В настоящем описании также предложены вакцины, содержащие неоантигены предстательной железы по настоящему описанию, которые преобладают в популяции пациентов с раком предстательной железы, таким образом обеспечивая пан-вакцину, которая может использоваться для лечения широкой популяции пациентов с диагностированными различными стадиями рака предстательной железы, такими как локализованный или метастазирующий рак предстательной железы.

Раковые клетки продуцируют неоантигены, возникающие в результате геномных изменений и aberrантных транскрипционных программ. Неоантигенная нагрузка у пациентов ассоциировалась с ответом на иммунотерапию (Snyder et al., N Engl J Med. 2014 Dec 4; 371(23):2189-2199. doi: 10.1056/NEJMoa1406498. Epub 2014 Nov 19; Le et al., N Engl J Med. 2015 Jun 25; 372(26):2509-20. doi: 10.1056/NEJMoa1500596. Epub 2015 May 30; Rizvi et al., Science. 2015 Apr 3; 348(6230):124-8. doi: 10.1126/science.aaa1348. Epub 2015 Mar 12; Van Allen et al., Science. 2015 Oct 9; 350(6257):207-211. doi: 10.1126/science.aad0095. Epub 2015 Sep 10). Изобретение основано, по меньшей мере, частично на выявлении неоантигенов предстательной железы, которые часто встречаются у пациентов с раком предстательной железы и, следовательно, могут использоваться для разработки терапии, пригодной для лечения спектра пациентов с раком предстательной железы. Один или более неоантигенов или полинуклеотидов, кодирующих неоантигены в соответствии с настоящим описанием, также можно использовать для диагностических или прогностических целей.

Полипептиды и полинуклеотиды в соответствии с настоящим описанием

В настоящем описании предложен выделенный полинуклеотид, кодирующий полипептид SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полинуклеотид, содержащий полинуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457 или 458, или их фрагменты

В настоящем описании также предложен выделенный полинуклеотид, содержащий полинуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 или 540, или их фрагменты.

В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 18 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 21 нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 24 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 27 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 30 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 33 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 36 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 39 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 42 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 45 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 48 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 51 нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 54 нуклеотида. В некоторых вариантах

128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457 и 458, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 276, 382, 334, 338, 270, 254, 310, 326, 272, 306, 252, 246, 262, 266, 318, 256, 278, 298, 286, 448, 450, 453, 455, 380, 344, 212, 350, 214, 216, 222, 220, 226, 346, 354, 236, 224, 168, 172, 20, 24 и 178, а также их фрагментов.

Для экспрессии в различных хозяевах полинуклеотиды могут быть кодон-оптимизированы с использованием известных способов. Например, для аденовирусной экспрессии можно использовать гетерологичный полинуклеотид, содержащий по меньшей мере один из полинуклеотидов SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498 или 499. Для экспрессии в модифицированной осповакцине Анкара (MVA) можно использовать гетерологичный полинуклеотид, содержащий по меньшей мере один из полинуклеотидов SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 или 540.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498 и 499, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 и 540, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления выделенный гетерологичный полинуклеотид представляет собой гетерологичный полинуклеотид внутри рамки считывания.

В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 6-24 аминокислот в длину.

В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 6 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 7 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 8 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 9 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 11 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 12 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 13 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 14 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 15 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 16 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 17 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 18 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 19 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 20 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 21 аминокислоту. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 22 аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 23 аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 24 аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат по меньшей мере 25 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 6 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 7 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 8 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 9 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 10 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 11 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 12 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 13 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 14 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 15 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 16 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 17 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 18 аминокислот. В некоторых вариантах

осуществления фрагменты содержат около 19 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 20 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 21 аминокислоты. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 22 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 23 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 24 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 25 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 6-25 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 7-25 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 8-25 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 8-24 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 8-23 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 8-22 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 8-21 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 8-20 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 8-19 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 8-18 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 8-17 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 8-16 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 8-15 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 8-14 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 9-14 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 9-13 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 9-12 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 9-11 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат около 9-10 аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат SEQ ID NO: 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620 или 621.

В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат SEQ ID NO: 377, 378, 415, 417, 418, 420, 502, 518, 526, 527, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 74, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 487, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980 или 548.

В некоторых вариантах осуществления фрагменты представляют собой иммуногенные фрагменты.

Иммуногенные фрагменты по существу представляют собой пептиды, которые активируют Т-клетки, например те, которые индуцируют цитотоксические Т-клетки при презентации на молекуле МНС. Способы оценки активации Т-клеток и/или индукции цитотоксических Т-лимфоцитов хорошо известны. В примере анализа МКПК, выделенные у пациента с раком предстательной железы, культивируют *in vitro* в присутствии исследуемого неоантигена или его фрагментов и IL-25. Культуры можно периодически пополнять IL-15 и IL-2 и культивировать в течение дополнительных 12 дней. На 12 день культуры повторно стимулируют исследуемым неоантигеном или его фрагментами, и на следующий день активацию Т-клеток можно оценить путем измерения процента клеток $IFN\gamma^+TNA\alpha^+CD8^+$ по сравнению с контрольной культурой.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438,

439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

В некоторых вариантах осуществления полипептид кодируется полинуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458 или их фрагментами.

В некоторых вариантах осуществления полипептид кодируется полинуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499 или их фрагментами.

В некоторых вариантах осуществления полипептид кодируется полинуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540 или их фрагментами.

Полипептиды и гетерологичные полипептиды в соответствии с настоящим описанием содержат один или более неоантигенов предстательной железы, описанных в настоящем документе. Полипептиды и гетерологичные полипептиды в соответствии с настоящим описанием целесообразно использовать для получения рекомбинантных вирусов, клеток и вакцин в соответствии с настоящим описанием, а также белковых молекул, которые специфически связываются с одним или более неоантигенами предстательной железы в соответствии с настоящим описанием или могут использоваться непосредственно в качестве терапевтических агентов путем их доставки субъекту, имеющему рак предстательной железы, с использованием различных технологий. Два или более неоантигенов (например, полипептиды) могут быть включены в вакцину в любом порядке с применением стандартных способов клонирования.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 3 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 5 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 9 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 11 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 15 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 17 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 19 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 21 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 23 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 25 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 27 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 29 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 619 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 620 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 621 или ее фрагменты.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 и 447, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полипептид кодируется двумя или более полинуклеотидами, выбранными из группы, состоящей из 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457 и 458, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления фрагменты имеют длину около 6-25 аминокислот, например, длину около 8-25 аминокислот.

В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат полипептиды SEQ ID NO: 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620 или 621.

В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат полипептиды SEQ ID NO: 377, 378, 415, 417, 418, 420, 502, 518, 526, 527, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 487, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980 или 548.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полипептид кодируется гетерологичным полинуклеотидом, содержащим два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 276, 382, 334, 338, 270, 254, 310, 326, 272, 306, 252, 246, 262, 266, 318, 256, 278, 298, 286, 448, 450, 453, 455, 380, 344, 212, 350, 214, 216, 222, 220, 226, 346, 354, 236, 224, 168, 172, 20, 24 и 178, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полипептид кодируется гетерологичным полинуклеотидом, содержащим два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из

SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498 и 499, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полипептид кодируется гетерологичным полинуклеотидом, содержащим два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 и 540, а также их фрагментов.

Варианты сконструированных полинуклеотидов, полипептидов, гетерологичных полинуклеотидов и гетерологичных полипептидов в соответствии с настоящим описанием

Варианты полинуклеотидов, полипептидов, гетерологичных полинуклеотидов и гетерологичных полипептидов или их фрагментов входят в объем настоящего описания. Например, варианты могут содержать одну или более замен, делеций или вставок при условии, что варианты сохраняют или имеют улучшенные характеристики (такие как иммуногенность или стабильность) по сравнению с исходным соединением. В некоторых вариантах осуществления идентичность последовательностей может составлять около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% между исходным соединением и вариантом. В некоторых вариантах осуществления варианты формируются путем консервативных замен.

В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет около 80%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет около 85%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет около 90%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет около 91%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет около 91%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет около 92%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет около 93%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет около 94%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет около 94%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет около 95%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет около 96%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет около 97%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет около 98%. В некоторых вариантах осуществления идентичность составляет около 99%.

В некоторых вариантах осуществления варианты могут содержать 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 замен, делеций или вставок при условии, что варианты сохраняют или имеют улучшенные характеристики (такие как иммуногенность или стабильность) по сравнению с исходным соединением.

Процент идентичности между двумя последовательностями зависит от числа идентичных положений, общих для последовательностей (т.е. % идентичности=число идентичных положений/общее число положений × 100), с учетом числа гэпов и длины каждого гэпа, который необходимо встроить для оптимального выравнивания двух последовательностей. Процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями можно определить с помощью алгоритма E. Meyers and W. Miller (Comput Appl Biosci 4:11-17 (1988)), который встроено в программу ALIGN (версия 2.0), используя таблицы массы остатков PAM120, штрафа на длину гэпа 12 и штрафа гэпа 4. Кроме того, процент идентичности между двумя аминокислотными последовательностями можно определить с помощью алгоритма Needleman and Wunsch (J Mol Biol 48:444-453 (1970)), который встроено в программу GAP в пакете программ GCG (доступен на сайте <http://www.gcg.com>), используя либо матрицы Blossum 62, либо матрицы PAM250, а также веса гэпов 16, 14, 12, 10, 8, 6 или 4 и веса длины гэпов 1, 2, 3, 4, 5 или 6.

Варианты полипептидов или гетерологичных полипептидов, или их фрагментов, содержащих одно изменение аминокислотного состава, обычно сохраняют аналогичную третичную структуру и антигенность по сравнению с исходным соединением. В некоторых случаях вариант также может содержать по меньшей мере одно изменение аминокислотного состава, которое приводит к повышенной антигенности варианта, повышенной аффинности связывания с TCR, или с антителом, или и с тем, и с другим. Варианты полипептидов или гетерологичных полипептидов также могут иметь улучшенную способность связываться с молекулой HLA.

Варианты в соответствии с настоящим описанием можно сконструировать так, чтобы они содержали консервативные замены. Консервативные замены в настоящем документе определяются как замены в пределах одной из следующих пяти групп: группа 1 - малые алифатические неполярные или слабополярные остатки (Ala, Ser, Thr, Pro, Gly); группа 2 - полярные отрицательно заряженные остатки и их амиды (Asp, Asn, Glu, Gin); группа 3 - полярные положительно заряженные остатки (His, Arg, Lys); группа 4 - большие алифатические неполярные остатки (Met, Leu, Ile, Val, Cys); и группа 5 - большие ароматические остатки (Phe, Tyr, Trp).

Варианты в соответствии с настоящим описанием можно сконструировать так, чтобы они содержали менее консервативные замены, такие как замена одной аминокислоты на другую, имеющую аналогичные характеристики, но несколько отличающуюся по размеру, например, замена аланина на остаток изолейцина. Варианты в соответствии с настоящим описанием также можно сконструировать

так, чтобы они содержали сильно неконсервативные замены, которые могут включать замещение кислой аминокислоты полярной или даже щелочной по своему характеру.

Дополнительные замены, которые можно выполнять для получения вариантов в соответствии с настоящим описанием, включают в себя замены, которые могут включать структуры, отличные от обычных L-аминокислот. Таким образом, D-аминокислоты и нестандартные аминокислоты (т.е. отличные от обычных протеиногенных аминокислот природного происхождения) также можно использовать для целей замены для получения вариантов с повышенной иммуногенностью по сравнению с исходным соединением.

Если обнаружено, что замены в более чем одном положении приводят к получению полипептидов или гетерологичных полипептидов с по существу эквивалентной или большей иммуногенностью, то можно протестировать комбинации этих замен, чтобы определить, оказывают ли комбинированные замены аддитивное или синергетическое воздействие на иммуногенность варианта.

Аминокислотные остатки, которые по существу не участвуют во взаимодействии с TCR, могут быть модифицированы путем замены другой аминокислотой, встраивание которой по существу не влияет на реактивность Т-клеток и не исключает связывание с соответствующим МНС. Аминокислотные остатки, которые по существу не участвуют во взаимодействии с TCR, также могут быть удалены, если такая делеция не оказывает существенного влияния на реактивность Т-клеток и не исключает связывание с соответствующим МНС.

Кроме того, полипептиды, или гетерологичные полипептиды, или их фрагменты, или варианты могут быть дополнительно модифицированы для повышения стабильности и/или связывания с молекулами МНС, чтобы вызвать более сильный иммунный ответ. Способы такой оптимизации пептидной последовательности хорошо известны в данной области и включают, например, введение обратных пептидных связей или непептидных связей. При обратной пептидной связи аминокислотные остатки не соединены пептидными (-CO-NH-) связями, а пептидная связь является обратной. Такие ретро-инвертированные пептидомиметики могут быть получены с использованием способов, известных в данной области. Данный подход включает получение псевдопептидов, содержащих изменения, затрагивающие основную цепь, а не ориентацию боковых цепей. Ретро-инвертированные пептиды, содержащие NH-CO связи вместо CO-NH пептидных связей, гораздо более устойчивы к протеолизу. Дополнительными непептидными связями, которые можно использовать, являются, например, -CH₂-NH, -CH₂S-, -CH₂CH₂-, -CH=CH-, -COCH₂-, -CH(OH)CH₂- и -CH₂SO-.

Полипептиды, или гетерологичные полипептиды, или их фрагменты, или варианты в соответствии с настоящим описанием могут быть синтезированы с помощью дополнительных химических групп, присутствующих на их amino- и/или карбокси-концах, для повышения стабильности, биодоступности и/или аффинности пептидов. Например, к amino-концу могут быть добавлены гидрофобные группы, такие как карбобензоксильная, данзильная или трет-бутилоксикарбонильная группа. Аналогичным образом ацетильная группа или 9-фторенилметоксикарбонильная группа может быть размещена на aminoконцах. Кроме того, к карбоксиконцам можно добавлять гидрофобную группу, трет-бутилоксикарбонильную группу или амидную группу.

Кроме того, полипептиды, или гетерологичные полипептиды, или их фрагменты, или варианты в соответствии с настоящим описанием могут быть синтезированы для изменения их стерической конфигурации. Например, вместо обычного L-изомера может использоваться D-изомер одного или более аминокислотных остатков пептида.

Аналогичным образом полипептиды, или гетерологичные полипептиды, или их фрагменты, или варианты в соответствии с настоящим описанием могут быть модифицированы химически путем посредством взаимодействия конкретных аминокислот либо до, либо после синтеза полипептидов, или гетерологичных полипептидов, или их фрагментов, или вариантов в соответствии с настоящим описанием. Примеры таких модификаций хорошо известны в данной области и обобщены, например, в публикации R. Lundblad, *Chemical Reagents for Protein Modification*, 3rd ed. CRC Press, 2004 (Lundblad, 2004). Химические модификации аминокислот включают модификацию путем ацилирования, амидирования, пиридоксирования лизина, восстановительного алкилирования, тринитробензилирования аминогрупп 2,4,6-тринитробензолсульфоновой кислотой (TNBS), амидной модификации карбоксильных групп и сульфгидрильной модификации путем окисления цистеина надмуравьиной кислотой до цистеиновой кислоты, образования производных ртути, образования смешанных дисульфидов с другими тиольными соединениями, реакции с малеимидом, карбоксиметилирования йодуксусной кислотой или йодацетамидом и карбамоилирования цианатом при щелочном pH, не ограничиваясь вышеупомянутым. В этом отношении специалист в данной области может обратиться к главе 15 публикации *Current Protocols In Protein Science*, Eds. Coligan et al. (John Wiley and Sons NY 1995-2000) (Coligan et al., 1995) для ознакомления с более широкой методологией, связанной с химической модификацией белков.

Вкратце модификация, например, аргининильных остатков в белках часто основана на реакции соседних дикарбонильных соединений, таких как фенилглиоксаль, 2,3-бутандион и 1,2-циклогександион с образованием аддукта. Другим примером является реакция метилглиоксаля с остатками аргинина.

Цистеин можно модифицировать без сопутствующей модификации других нуклеофильных сайтов, таких как лизин и гистидин. В результате большое количество реагентов доступно для модификации цистеина. Веб-сайты таких компаний, как Sigma-Aldrich (<http://www.sigma-aldrich.com>), предоставляют информацию о конкретных реагентах. Селективное восстановление дисульфидных связей в белках также является распространенным. Дисульфидные связи могут образовываться и окисляться в процессе термической обработки биофармацевтических препаратов. Реагент Woodward's Reagent K можно использовать для модификации конкретных остатков глутаминовой кислоты. N-(3-(диметиламино)пропил)-N'-этилкарбодиимид можно применять для образования внутримолекулярных сшивок между остатком лизина и остатком глутаминовой кислоты. Например, диэтилпироксикарбонат является реагентом для модификации гистидильных остатков в белках. Гистидин также можно модифицировать, используя 4-гидрокси-2-ноненаль. Реакция лизиновых остатков и других α -аминогрупп может использоваться, например, для связывания пептидов с поверхностями или сшивок белки/пептиды. Лизин представляет собой сайт присоединения поли(этилен)гликоля и основной сайт модификации в гликозилировании белков. Остатки метионина в белках могут быть модифицированы, например, иодоацетамидом, бромэтиламином и хлорамином Т. Тетранитрометан и N-ацетилимидазол могут быть использованы для модификации тирозильных остатков. Сшивка посредством образования дитирозина может быть достигнута с помощью ионов перекиси водорода/меди. В недавних исследованиях по модификации триптофана использовали N-бромсукцинимид, 2-гидрокси-5-нитробензилбромид или 3-бром-3-метил-2-(2-нитрофенилмеркапто)-3Н-индол (BPNS-скатол). Успешная модификация терапевтических белков и пептидов с помощью ПЭГ часто связана с увеличением периода полужизни в кровотоке при сшивании белков с глутаральдегидом, диакрилатом полиэтиленгликоля и формальдегидом для получения гидрогелей. Химическую модификацию аллергенов для иммунотерапии часто проводят путем карбамилрования с использованием цианата калия.

В настоящем описании предложен выделенный полипептид, который на около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичен полипептиду SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий полипептидную последовательность, имеющую 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 замен, делеций или вставок по сравнению с полипептидом SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447.

В настоящем описании также предложен выделенный полинуклеотид, который на около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичен полинуклеотиду SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457 или 458.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, который на около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99%

идентичен полипептиду SEQ ID NO: 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620 или 621.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, который на около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичен полипептиду SEQ ID NO: 377, 378, 415,417, 418, 420, 502, 518, 526, 527, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 74, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 487, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980 или 548.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, который на около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичен полипептиду SEQ ID NO: 541, 550, 554, 555, 556, 623 или 624.

В настоящем описании также предложен выделенный полинуклеотид, который на около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичен полипептиду SEQ ID NO: 542 или SEQ ID NO: 551.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, который на около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичен полипептиду SEQ ID NO: 543, 552, 557, 558, 559, 625 или 626.

В настоящем описании также предложен выделенный полинуклеотид, который на около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичен полипептиду SEQ ID NO: 544 или SEQ ID NO: 553.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435,436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 и 447, а также их фрагменты, причем полипептид содержит одну или более обратных пептидных связей.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620 или 621, причем полипептид содержит одну или более обратных пептидных связей.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 377, 378, 415,417, 418, 420, 502, 518, 526, 527, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 74, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 487, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917,

918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980 или 548, причем полипептид содержит одну или более обратных пептидных связей.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 541, 550, 554, 555, 556, 623 или 624, причем гетерологичный полипептид содержит одну или более обратных пептидных связей.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: SEQ ID NO: 543, 552, 557, 558, 559, 625 или 626, причем гетерологичный полипептид содержит одну или более обратных пептидных связей.

В некоторых вариантах осуществления обратная пептидная связь содержит связь NH-CO.

В некоторых вариантах осуществления обратная пептидная связь содержит связь $\text{CH}_2\text{-NH}$ -, $-\text{CH}_2\text{S-}$ -, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-}$ -, $-\text{CH}=\text{CH-}$ -, $-\text{COCH}_2\text{-}$ -, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{-}$ или $-\text{CH}_2\text{SO-}$.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 и 447, а также их фрагменты, причем полипептид содержит одну или более химических модификаций.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620 или 621, причем полипептид содержит одну или более химических модификаций.

В настоящем описании также предложен выделенный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 377, 378, 415, 417, 418, 420, 502, 518, 526, 527, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 74, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 487, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980 или 548, причем полипептид содержит одну или более химических модификаций.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 541, 550, 554, 555, 556, 623 или 624, причем гетерологичный полипептид содержит одну или более химических модификаций.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: SEQ ID NO: 543, 552, 557, 558, 559, 625 или 626, причем гетерологичный полипептид содержит одну или более химических модификаций.

В некоторых вариантах осуществления одна или более химических модификаций содержат модификацию карбобензоксидом, данзиллом, трет-бутилоксикарбониллом, 9-фторенилметоксикарбониллом или D-изомером аминокислоты.

Способы получения полинуклеотидов и полипептидов в соответствии с настоящим описанием

Полинуклеотиды в соответствии с настоящим описанием или варианты могут быть в форме РНК или в форме ДНК, полученной путем клонирования или синтеза. ДНК может быть двухцепочечной или одноцепочечной.

Способы создания полинуклеотидов и гетерологичных полинуклеотидов в соответствии с

настоящим описанием или вариантами известны в данной области и включают в себя химический синтез, ферментативный синтез (например, транскрипцию *in vitro*), ферментативное или химическое расщепление более длинного предшественника, химический синтез более мелких фрагментов полинуклеотидов с последующим лигированием фрагментов или использованием известных способов ПЦР. Синтезированная полинуклеотидная последовательность может быть сконструирована с помощью соответствующих кодонов для желаемой аминокислотной последовательности. Как правило, предпочтительные кодоны могут быть выбраны для предполагаемого хозяина, в котором для экспрессии будет применяться последовательность.

Способы получения полипептидов и гетерологичных полипептидов в соответствии с настоящим описанием известны в данной области и включают стандартные методы молекулярной биологии для клонирования и экспрессии полипептидов, а также химического синтеза полипептидов.

Пептиды можно синтезировать с помощью режима Fmoc-полиамида твердофазного синтеза пептидов, как описано в публикации Lukas et al. (Lukas et al., 1981) и в приведенных в ней ссылках. Временная защита N-аминогруппы обеспечивается группой 9-фторенилметилоксикарбонилла (Fmoc). Повторяющееся расщепление этой высоколабильной защитной группы проводят с использованием 20% пиперидина в N,N-диметилформамиде. Функциональные группы боковой цепи могут быть защищены в виде их бутиловых эфиров (в случае серинтреонина и тирозина), бутиловых сложных эфиров (в случае глутаминовой кислоты и аспарагиновой кислоты), бутилоксикарбонильного производного (в случае лизина и гистидина), тритилового производного (в случае цистеина) и 4-метокси-2,3,6-триметилбензолсульфонильного производного (в случае аргинина). Если глутамин или аспарагин являются C-концевыми остатками, применяют 4,4'-диметоксибензгидрильную группу для защиты амидных функциональных групп боковой цепи. Твердофазная подложка основана на полидиметилакриламидном полимере, состоящем из трех мономеров диметилакриламида (мономер главной цепи), бисакрилоилэтилен диамина (кросс-линкер) и метилового сложного эфира акрилоилсаркозина (функционализирующий агент). В качестве расщепляемого агента, связывающего пептид с резиной, используется кислотнo-лабильное производное 4-гидроксиметил-феноксиксусной кислоты. Все аминокислотные производные добавляют в виде предварительно подготовленных симметричных производных ангидрида, за исключением аспарагина и глутамина, которые добавляют в ходе обратной процедуры связывания, опосредованной N,N-дициклогексилкарбодиимид/1 гидроксibenзотриазолом. Все реакции связывания и снятия защиты отслеживают с помощью процедур тестирования нингирина, тринитробензолсульфоновой кислоты или изотина. После завершения синтеза пептиды отщепляют от смоляной подложки с одновременным удалением защитных групп боковых цепей путем обработки 95% трифторуксусной кислотой, содержащей 50% смеси поглотителей. Обычно используемые поглотители включают в себя этандитиол, фенол, анизол и воду, точный выбор которых зависит от составляющих аминокислот синтезированного пептида. Также возможно сочетание методик синтеза пептидов в твердой фазе и фазе раствора (см., например, публикацию Bruckdorfer et al., 2004 г.) и приведенные в ней ссылки).

В патенте США № 4897445 представлен способ твердофазного синтеза непептидных связей (-CH₂-NH) в полипептидных цепях, который включает полипептиды, синтезированные в ходе стандартных процедур, и непептидную связь, синтезированную путем взаимодействия аминокислоты с аминокислотой в присутствии NaCNBH₃.

Векторы и рекомбинантные вирусы в соответствии с настоящим описанием

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий полинуклеотид или гетерологичный полинуклеотид в соответствии с настоящим описанием или его фрагменты или варианты.

В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой вектор экспрессии. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой вирусный вектор. Векторы в соответствии с настоящим описанием можно использовать для получения рекомбинантных вирусов, содержащих векторы в соответствии с настоящим описанием, или для экспрессии полипептидов в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий один или более полипептидов SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий

полипептид, который на около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичен полипептиду SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий один или более полинуклеотидов SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458 или их фрагментами.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий полинуклеотид, который на около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичен полинуклеотиду SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458 или их фрагментами.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 и 447, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457 и 458, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317,

255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498 и 499, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 и 540, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен рекомбинантный вирус, содержащий вектор в соответствии с настоящим описанием. В настоящем описании также предложен рекомбинантный аденовирус, содержащий вектор в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложен рекомбинантный аденовирус человека (rAd), содержащий вектор в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложен рекомбинантный аденовирус человека, полученный из серотипа 26 (rAd26), содержащий вектор в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложен рекомбинантный аденовирус человекообразных обезьян (rGAd), содержащий вектор в соответствии с настоящим описанием.

В некоторых вариантах осуществления rGAd получают из GAd20. В некоторых вариантах осуществления rGAd получают из GAd19. В некоторых вариантах осуществления rGAd получают из GAd21. В некоторых вариантах осуществления rGAd получают из GAd25. В некоторых вариантах осуществления rGAd получают из GAd26. В некоторых вариантах осуществления rGAd получают из GAd27. В некоторых вариантах осуществления rGAd получают из GAd28. В некоторых вариантах осуществления rGAd получают из GAd29. В некоторых вариантах осуществления rGAd получают из GAd30. В некоторых вариантах осуществления rGAd получают из GAd31. GAd19-21 и GAd25-31 описаны в международной патентной публикации № WO2019/008111 и представляют собой линии с высокой иммуногенностью, не имеющие ранее существовавшего иммунитета в общей популяции людей. Полинуклеотидная последовательность генома GAd20 приведена в SEQ ID NO: 622, как описано в WO 2019/008111.

SEQ ID NO: 622

CATCATCAATAATACCTTATTTTGGATTGAGGCCAATATGATAATGAGGTGGGCGGGCGA
 GGCGGGCGGGTACGTAGGACGCGCGAGTAGGGTTGGGAGGTGTGGCGGAAGTGTGGCATTTGC
 AAGTGGGAGGAGATGACATGCAATCTTCCGTCGCGGAAAATGTGACGTTTTTGTGACGCGCCCT
 AACTCCGGAAAGTGCCAATTTTCGCGCGCTTTTACCAGGATATCGTAGTAATTTGGGCGGGACATG
 TAAGATTTGGCCATTTTCGCGCGAAAAGTGAAACGGGGAAGTGAAACTGAATAATAGGGCGTTA
 GTCATAGCGGTAATATTTACCGAGGGCCGAGGGACTTTGACCGATTACGTGGAGGACTCGCCCAG
 GTGTTTTTTACGTGAATTTCCGCGTTCGGGTCAAAGTCTCCGTTTTTATTGTGCGCGTCATCTGACG
 CGGAGGGTATTTAAACCCGCTGCGCTCCTAAAGAGGCCACTCTTGAGTGCCAGCGAGAAGAGTTTT
 CTCCTCCGCTCCGTTTCGCGCATCGAAAATGAGACATTTAGCCTGCACTCCGGGTCTTTGTCCGG
 CCGGGCGGGTCCGAGCTTTTGGACGCTTTGCTCAATGAGGTTCTGAGCGATGATTTTCCGTCTACT
 ACCCACTTTAGCCACCTACTCTTACGAAGTGTACGATCTGGATGACTGGTGGATGTGAACGATC
 CCAACGAGGAGGCGGTTTCTACGTTTTTCCCAGTCTGCGCTTTTGGCTGCCAGGAGGGATTTGA
 CCTACACACTCCGCCGCTGCCTATTTTAGAGTCTCCGCTGCCGGAGCCCAGTGGTATACCTTATATG
 CCTGAAGTCTTCCGAAGTGGTAGACCTGACCTGCCACGAGCCGGGCTTTCCGCCAGCGACGAT
 GAGGGTGTGACSTTTTGTCTTAGACTATGCTGAGATACCTGGGCTCGGTTGCAGGTCTTGTGCATATC
 ATCAGAGGGTTACCGGAGACCCCGAGGTTAAGTGTTCGCTGTGCTATATGAGGCTGACCTCTTCT
 TTATCTACAGTAAGTTTTTTTGTGTAGGTGGGCTTTTGGGTAGGTGGGTTTTGTGGCAGGACAGGT
 GTAAATGTTGCTTGTGTTTTTTGTACCTGCAGGTCCGGTGTCCGAGCCAGACCCGGAGCCCGACCCG
 GATCCCGAGCCGGATCCCGAGCCTCCTCGCAGGCCAAGGAAATTACCTTCCATTTTGTGCAAGCCT
 AAGACACCTGTGAGGACCAGCGAGGCGGACAGCACTGACTCTGGCACTTCTACCTCTCCTCCTGAA
 ATTCACCCAGTGGTTTCTCTGGGTATACATAGACCTGTTGCTGTTAGAGTTTGCGGGCGACGCCCTG
 CAGTAGAGTGCATTTGAGGACTTGCTTAAAGATCCCGAGGGACCTTTGGACTTGAGCATTAACGCC
 STAGGCAATAAACCCACCTAAGTAATAAACCCACCTAAGTAATAAACTTTACCGCCCTTGGTTA
 TTGAGATGACGCCAATGTTTGTCTTTGAATGACTTCATGTGTATAATAAAAGTGTGTTGGTGCATA
 GGTCTTGTGTTGCTGGGCGGGGTTTAAAGGTATATAAGTTTCTCGGGGCTAAACTTGGTTACACT
 TGACCCCAATGGAGCGTGGGGGTGCTTGGAGGAGTGTGGGCTCTACTCAGGCCAAGTTGGTCTTCA
 AGCTTAGCAATAACCTATAGTATTTGGAGGATCTGTGGGCTCTACTCAGGCCAAGTTGGTCTTCA
 GAATTAAGCAGGATTACAAGTGCATTTTGAAGAGCTTTTTAGTTCTGTGGTGTGAGCTTTTGAATC
 CTTGAATCTGGGCCACCAGGCTATCTTCCAGGAAAAGGTTCTCTCGACTTTGGATTTTCCACTCCC
 GGGCGCACCCCGCTTGTGTGGCTTTTGTGTCTTTTGTGCAAGATAAATGGAGCGGGGAGACCCAC
 CTGAGTCACGGCTACGTGCTGGATTTTCATGGCGATGGCTCTTTGGAGGGCTTACAACAAATGGAAG

ATTCAGAAGGAACTGTACGGTTCGGCCCTACGTCGTCCTACTTCTGCAGCGGCAGGGGCTGATGTTT
 CCCGACCATCGCCAGCATCAGAATCTGGAAGACGAGCGAGCGGAGAAGATCAGCTTGAGAGCCGG
 CCTGGACCCTCCTCAGGAGGAATGAATCTCCCGCAGGTGGTTGAGCTGTTTCCCGAACTGAGACGG
 GTCCTGACTATCAGGGAGGATGGTCAGTTTGTGAAGAAGCTGAAGAGGGATCGGGGTGAGGGAGA
 TGATGAGGCGGCTAGCAATTTAGCTTTTAGTCTGATAACTCGCCACCGACCGGAATGTATTACCTAT
 CAGCAGATTAAGGAGAGTTGTGCCAACGAGCTGGATCTTTGGGTGAGAAGTATAGCATAGAACA
 GCTTACCACTTACTGGCTTCAGCCCGGGGATGATTGGGAAGAGGCGATTAGGGTGTATGCAAAGGT
 GGCCCTGCGGCCCGATTGCAAGTATAAAGATTACTAAGTTGGTTAATATTAGAAACTGCTGCTATAT
 TTCTGGAAACGGGGCCGAAGTGGAGATAGATACTGAGGACAGGGTGGCTATTAGGTGTTGCATGA
 TAAACATGTGGCCCGGATACTGGGGATGGATGGGGTGTATTTATGAATGTGAGGTTACGGGCC
 CCAACTTTAATGGTACGGTGTTCATGGGCAACACCAACTTGCTCCTGCATGGTGCAGTTCATGG
 GTTTAACAAACACTGTATAGAGCCCTGGACCGATGTAAGGTTTCGAGGTTGTTCTTTTATAGTGT
 TGGAAAGCGGTGGTGTGTCGCCCTAAAAGCAGGGGTTCTGTGAAGAAATGCTTGTGTTGAAAGGTGC
 ACCCTAGGTATCCTTTCTGAGGGCAACTCCAGGGTGCGCCATAATGTGGCTTCGAACTGCGGTTGC
 TTCATGCAAGTGAAGGGGGTGAGCGTTATCAAGCATAACTCGGTCTGTGAAACTGCGAGGATCGC
 GCCTCTCAGATGCTGACCTGCTTTGATGGCAACTGTCACCTGTTGAAGACCATTATATAAAGCAGTC
 ACCCCAGAAAGGCTGGCCCGTGTGAGCATAACATTCTGACCCGCTGTTCTTGCATCTGGGGG
 TCAGGAGGGGTATGTTCTGCCTTACCAGTGTAACTTTAGCCACACTAAAATCCTGCTGGAACCCG
 AGTGCATGACTAAGGTCAGCCTGAATGGTGTGTTTGTATGTGAGTCTGAAGATTTGGAAGGTGCTGA
 GGTATGATGAGACCAGGACCAGGTGCCGACCCTGCGAGTGCGGCGGCAAGCACATGAGAAATCAG
 CCTGTGATGTTGGATGTGACCGAGGAGCTTAGGCCTGACCATCTGGTGTGCTGGCCTGCACCAGGGCC
 GAGTTTGGGTCTAGCGATGAGGATACCGATTGAGGTGGGTAAGGTGGGCGTGGCTAGCAGGGTGG
 GCGTGTATAAATTGGGGGTCTAAGGGGTCTCTCTGTTTGTCTTGAACAGCCGCCCGCCATGAGCGA
 CACCGGCAACAGCTTTGATGGAAGCATCTTTAGTCCCTATCTGACAGTGCGCATGCCTCACTGGGC
 CGGAGTGCCTCAGAATGTGATGGGTTCCAACGTGGATGGACGTCGCCGTTCTGCCTTCAAATTCGTC
 TACTATGGCCTACGCGACCGTGGGAGGAACTCCGCTGGACGCCGCGACCTCCGCCGCCGCTCCGC
 CGCCGCCGCGACCGCGCGCAGCATGGCTACGGACCTTTACAGCTCTTTGGTGGCGAGCAGCGCGGC
 CTCTCGCGCTCTGCTCGGGATGAGAACTGACTGCTCTGCTGCTTAAACTGGAAGACTTGACCCG
 GGAGCTGGGTCAACTGACCCAGCAGGTTTCCAGCTTGCCTGAGAGCAGCCTTGCCCTCCCCTAATG
 GCCATAATATAAATAAAAGCCAGTCTGTTTGGATTAAGCAAGTGTATGTTCTTTATTTAACTCTCC
 GCGCGCGGTAAGCCCGGACCAGCGGTCTCGGTCGTTTAGGGTGCCTGGATTTTTTCCAACACGT
 GGTACAGGTGGCTCTGGATGTTTAGATACATGGGCATGAGTCCATCCCTGGGGTGGAGGTAGCACC
 ACTGCAGAGCTTCGTGCTCGGGGGTGGTGTGTATATGATCCAGTCGTAGCAGGAGCGCTGGGCGT
 GGTGCTGAAAAATGTCTTAAGCAAGAGGCTTATAGCTAGGGGGAGGCCCTTGGTGAAGTGTTA
 CAAATCTGCTTAGCTGGGAGGGTGCATCCGGGGGATATGATGTGCATCTTGGACTGGATTTTTTA
 GGTTGGCTATGTTCCCGCCAGATCCCTTCTGGGATTCATGTTGTGCAGGACCACCAGCAGGTATA
 TCCAGTGCCTTGGGAAATTTATCGTGGAGCTTAGACGGGAATGCATGGAAGAAGTTGGAGACGCC
 CTTGTGGCCTCCAGATTTTCCATACATTCGTCCATGATGATGGCAATGGGCCCGTGGGAAGCTGCC
 TGAGCAAAAACGTTTCTGGCATCGCTCACATCGTAGTTATGTTCCAGGGTGAGGTCATCATAGGAC
 ATCTTTACGAATCGGGGGCGAAGGGTCCCGGACTGGGGGATGATGGTACCCTCGGGCCCCGGGGC
 GTAGTTCCCCTCACAGATCTGCATCTCCAGGCTTTTCAATTCAGAGGGAGGGATCATATCCACCTGC
 GGGGCGATGAAAAAGACAGTTTCTGGCGCAGGGGAGATTAAGTGGGATGAGAGCAGGTTTCTGAG
 CAGCTGTGACTTTCCACAGCCGGTGGGCCATATATCACGCCTATCACCGGCTGCAGCTGGTAGTT
 AAGAGAGCTGCAGCTGCCGTCTCCCGGAGCAGGGGGGCCACCTCGTTGAGCATATCCCTGACGTG
 GATGTTCTCCCTGACCAGTTCGCCAGAAGGCGCTCGCCGCCAGCGAAAGCAGCTCTTGAAGGA
 AGCAAAATTTTTCAGCGGTTTCAGGCCATCGGCCGTGGGCATGTTTTTCAGCGTCTGGGTGAGCAG
 CTCCAGCCTGTCCAGAGCTCGGTGATGTGCTCTACGGCATCTCGATCCAGCAGATCTCCTCGTTT
 GCGGGTTGGGGCGGCTTTCGCTGTAGGGCACCAGCCGATGGGCGTCCAGCGGGGCCAGAGTCATG
 TCCTTCCATGGGCGCAGGGTCTCGTCAGGGTGGTCTGGGTACGGTGAAGGGGTGCGCTCCGGGT
 TGGGCACTGGCCAGGGTGCCTTGAGGCTGGTCTGCTGGTGAATCGCTGCCGCTCTTCGCCCT
 GCGCGTCCGCCAGGTAGCATTTGACCATGGTCTCGTAGTCGAGACCCTCGGCGGCGTGCCCTTGG
 CGCGGAGCTTTCCCTTGGAGGTGGCGCCGCACGAGGGGCACTGCAGGCTCTTCAGGGCGTAGAGCT
 TGGGAGCGAGAAACACGACTCTGGGGAGTAGGCGTCCGCGCCGACGGCCGAGCAGACCGTCTCG
 CATTCCACCAGCCAAGTGAGTTCCGGGCGGTGAGGGTCAAAAACCAGGTTGCCCCCATGCTTTTTG
 ATGCGTTTCTTACCTTGGCTCTCCATGAGGCGGTGTCCCTTCTCGGTGACGAAGAGGCTGTCCGTG
 CCCCCTAGACCGACTTCAGGGGCTGTCTTCCAGCGGAGTGCCTCTGTCTCCTCTGATAGAGAACT
 CTGACCACTCTGAGACGAAGGCCCGCTCCAGGCCAGGACGAAGGAGGCCACGTTGGGAGGGGTAG
 CGTCTGTTGCTCACTAGCAGGGTCCACCTTCTCCAGGGTGTGACGGCACATGCTCCCTCTCCCGCT
 CCAGAAAAGTATTGGCTTGTAGGTGTAGGACACGTGACCGGGGTTCCCAACCGGGGGGTATAA
 AAGGGGGTGGGTGCCCTTTCATCTTCACTCTTCCGCATCGCTGTCTGCGAGAGCCAGCTGCTGGG
 GTAAGTATTCCCTCTCGAAGGCGGGCATGACCTCAGCGCTCAGGTTGTGAGTTTCTAAAAATGAGG
 AGGATTTGATGTTACCTGTCCGGAGGTGATACCTTTGAGGGTACCTGGGTCCATCTGGTCAGAAA

AACTATTTTTTTTGTATCAAGCTTGGTGGCGAATGACCCGTAGAGGGCGTTGGAGAGCAGCTTGG
 CGATGGAGCGCAGGGTCTGGTTTTTGTGCGCGTCCGGCTCGCTCCTTGGCCGCGATGTTGAGTTGCAC
 GTACTCGCGGGCCACGCACTTCCACTCGGGGAACACGGTGGTGGCGCTCGTCTGGGATCAGGGCGCAC
 CCTCCAGCCGCGGTTGTGCAGGGTGACCATGTGACGCTGGTGGCGACCTCACCCGCGCAGACGCTC
 GTTGGTCCAGCAGAGGGCGGCCGCCCTTGCGCGAGCAGAAGGGGGGTAGGGGGTCCAGCTGGTCTC
 CGTTTGGGGGGTCCGCGTGCATGGTAAAGACCCCGGGGAGCAGGGCGCGGGTCAAAGTAGTCGATC
 TTGCAAGCTTGCATGTCCAGAGCCCCTGCCATTCGCGGGCGGGCAGCGCGCGCTCGTAGGGGTTG
 AGGGGCGGGCCCCAGGGCATGGGGTGGGTGAGCGCGGAGGGGTACATGCCGCAGATGTCATACAC
 GTACAGGGGTTCCCTGAGGATACCGAGGTAGGTGGGGTAGCAGCGCCCCCGCGGATGCTGGCGC
 GCACGTAGTCATAGAGCTCGTGGGAGGGGGCCAGCATGTTGGGCCCGAGGTTGGTGCCTGGGGG
 CGCTCGGCGCGAAGACGATCTGCCTGAAGATGGCGTGGGAGTTGGAGGAGATGGTGGGCCGCTG
 GAAGACGTTGAAGCTTGCTTCTTGAAGCCACGGAGTCCCTGACGAAGGAGGGCTAGGACTCGC
 GCAGCTTGTGCACCACTCGGCGGTGACCTGGAGCTGAGCGCACAGTAGTCGAGGGTCTCGCGG
 ATGATGTCATACCTATCTCCCCCTTCTTTTTCCACAGCTCGCGGTTGAGGACGAACCTTTCGCGGT
 CTTTCCAGTACTTGGAGGGGAAACCCGTCCGTGTCCGAACGGTAAGAGCCTAGCATGTAGAACT
 GGTTGACGGCTGGTAGGGGAGCAGCCCTTCTCCACGGGCAGCGGTAGGCCTGCGCCGCTTGC
 GGAGGGAGGTGTGGGTGAGGGCGAAAGTGTCCCTGACCATGACTTTGAGGTATTGATGTCTGAAGT
 CTGTGTCATCGCAGCCGCCCTGTTCCCACAGGGTGTAGTCCGTGCGCTTTTTGGAGCGCGGGTGGG
 CAGGGAGAAGGTGAGGTCATTGAAGAGGATCTTCCCCGCTCGAGGCATGAAGTTTCTGGTGATGCG
 AAAGGGCCCTGGGACCGAGGAGCGGTTGTTGATGACCTGGGCGGCCAGGACGATCTCGTCAAAGC
 CGTTTATGTTGTGCCACGATGTAGAGCTCCAGGAAGCGGGGCTGGCCCTTGTGGAGGGGAGCT
 TTTTAAAGTTCCTCGTAGGTAAGCTCCTCGGGCGATTCCAGGCCGTGCTCCTCCAGGGCCCAGTCTT
 CAAGTGAGGGTTGGCCGCCAGGAAGGATCGCCAGAGGTCGCGGGCCATGAGGGTCTGCAGGCGGT
 CGCGGAAGGTTCTGAACTGCCGCCCCACGGCCATTTTTTCGGGGGTGATGCAGTAGAAGGTGAGGG
 GGTTCTTCTCCAGGGGTCCATCTGAGCTCTCGGGCGAGGTCGCGCGCGGCAGCGACCAGAGCCT
 CGTCGCCCCCAGTTTCATGACCAGCATGAAGGGCACGAGTTGCTTGCCAAAGGCTCCATCCAAG
 TGTAGGTTTCTACATCGTAGGTGACAAAGAGGGCGCTCCGTGCGAGGATGAGAGCCGATTGGGAAG
 AACTGGATCTCCCGCCACCAGTTGGAGGATTGGCTGTTGATGTGGTGAAAGTAGAAGTCCCCTCTG
 CGGGCCGAGCACTCGTGTGGCTTTTGTAAAAGCGACCGCAGTACTGGCAGCGCTGCACGGGTTGT
 ATATCTTGCACGAGGTGAACCTGGCGACCTCTGACGAGGAAGCGCAGCGGGAATCTAAGTCCCC
 GCCTGGGGTCCCGTGTGGCTGGTGGTCTTTTACTTTGGTTGTCTGGCCGCCAGCATCTGTCTCCTGG
 AGGGCGATGGTGAACAGACCACCGCCGAGAGCCCGAGGTCAGATCTCGGCGCTCGGCGG
 GCGGAGTTTGTGACGACATCGCGCACATTGGAGCTGTCCATGGTCTCCAGTCCCGCGGCGCGAG
 GTCAGCCGGGAGTTCTCTGGAGGTTACCTCGCAGAGACGGGTCAAGGCGCGACAGTGTGAGAT
 GGTATCTGATTTCAAGGGCATGTTGGAGGCGGAGTCTGATGGCTTGCAGGAGGCGCAGCCCGG
 GGGGCCACGATGTTCCCGCGGGGCGGAGGGGAGGCGGAAGCTGGGGGTGTGTTTCAAGCGG
 TGACGCGGGCGGGCCCCCGGAGGTAGGGGGGTTCCGGCCCCACAGGCATGGGCGGCAGGGGCAC
 GTCTTCGCGCGCGCGGGCAGGGGCTGGTGCTGGTCCGAAGAGCGCTTGCCTGCGCGACGACGC
 GACGGTTGGTGTCTGTATCTGGCGCCTCTGAGTGAAGACCACGGGTCCCGTGACCTTGAACCTGA
 AAGAGAGTTCGACAGAATCAATCTCGGCATCGTTGACAGCGGCCTGGCGCAGGATCTCCTGCACGT
 CGCCCGAGTTGCTCTGGTAGGCGATTTCTGCCATGAACTGCTCGATCTCTTCTCCTGGAGATCTCC
 TCGTCCGGCGCGCTCCACGGTGGCCGCCAGGTCGTTGGAGATGCGACCCATGAGCTGCGAGAAGG
 CGTTGAGTCCGCCCTCGTTCCAGACCCGGCTGTAGACCACGCCCCCTCGGCGTCGCGGGCGCGCA
 TGACCACCTGGGCCAGGTTGAGCTCCACGTGTGCGGTGAAGACGGCGTAGTTGCGCAGGCGCTGGA
 AAAGGTAGTTCAGGGTGGTGGCGGTGTGCTCGGCGACGAAGAAGTACATGACCCAGCGCCGAAC
 GTGGATTCAATTGATGTCCCCAAGGCCTCCAGGCGCTCCATGGCCTCGTAGAAGTCCACGGCGAAG
 TTGAAAACTGGGAGTTGCGAGCGGACACGGTCAACTCCTCCTCCAGAAGACGGATGAGCTCGGC
 GACAGTGTGCGCACCTCGCGCTCGAAGGCCACGGGGGGCGCTTCTTCTCTTCCACCTTCTTCC
 ATGATTGCTTCTTCTTCTCCTCAGCCGGGACGGGAGGGGGCGGCGGGGAGGGGGCGCGGCG
 GCGGCGGGCGGCGCACCGGGAGGCGGTGATGAAGCGCTCGATCATCTCCCCCGCATGCGGGCGCA
 TGGTCTCGGTGACGGCGCGGCCGTTCTCCCGGGGGCGCAGCTCGAAGACGCCGCCTCTCATTTTCG
 CGCGGGGCGGGCGGCCGTGAGGTAGCGAGACGGCGCTGACTATGCATCTTAAACAATTGCTGTGTA
 GGTACGCCCAAGGGACCTGATTGAGTCCAGATCCACCGGATCCGAAAACCTTTGGAGGAAAGC
 GTCTATCCAGTCGCAGTCGCAAGGTAGGCTGAGCACCGTGGCGGGCGGGGGCGGGTTCGGGAGAGT
 TCCTGGCGGAGATGCTGCTGATGATGTAATTAAGTAGGCGGTCTTGAAGAGGCGGATGGTGGAC
 AGGAGCACCATGTCTTTGGGTCCGGCCTGTTGGATGCGGAGGCGGTTCGCCATGCCCAAGGCTC
 TTCTGACACCGGCGAGGTTCTTGTAGTAATCTTGCATGAGTCTTTCCACCCGCACTTCTTCTTC
 CTCTTCTCATCTCGCCGGTGGTTCTCGCGCCGCCATGCGCGTGACCCCAAGCCCCTGACGCGC
 TGCAGCAGGGCCAGTTCGGCGACCACCGCTCGGCCAAGATGGCCTGCTGTACCTGAGTGGGGT
 CCTCTGAAGTCATCCATGTCCACGAAGCGGTGGTAGGCACCCGTGTTGATGGTGTAGGTGCAGTT
 GGCCATGACGGACCAGTTGACGGTCTGGTGTCCCGCTGCGAGAGCTCCGTGTACCGCAGGCGCGA
 GAAGGCGCGGGAATCGAACACGTAGTCGTTGCAAGTCCGCACCAGATACTGGTAGCCACCAGGA

AGTGCGGCGGAGGTTGGCGATAGAGGGGCCAGCGCTGGGTGGCGGGGGCGCCGGGCGCCAGGTCT
TCCAGCATGAGGCGGTGGTATCCGTAGATGTACCTGGACATCCAGGTGATGCCTGCGGCGGTGGTG
GTGGCGCGCGCGTAGTCGCGGACCCGGTCCAGATGTTTCGCAGGGGGGAGAAAGTGTCCATGGTC
GGCACGCTCTGGCCGGTGAGGCGCGCGCAGTCGTTGACGCTCTATACACACAAAAACGAAAGC
GTTTACAGGGCTTTCGTTCTGTAGCCTGGAGGAAAGTAAATGGGTGGGTGGCGGTGTGCCCGGT
TCGAGACCAAGCTGAGCTCAGCCGGCTGAAGCCGCAGCTAACGTGGTATTGGCAGTCCCCTCTCGA
CCCAGGCCCTGTATCCTCCAGGATACGGTCGAGAGCCCTTTTGCTTTCTTGCCAAAGCGCCCGTGGC
GCGATCTGGGATAGATGGTCGCGATGAGAGGACAAAAGCGGCTCGCTTCCGTAGTCTGGAGAAAC
AATCGCCAGGGTTGCGTTGCGGCGTACCCCGGTTTCGAGCCCCTATGGCGGCTTGGATCGGCCGGAA
CCGCGGCTAACGTGGGCTGTGGCAGCCCCGTCCTCAGGACCCCGCCAGCCGACTTCTCCAGTTACG
GGAGCGAGCCCCCTTTGTTTTTTTTATTTTTTAGATGCATCCCCTGCTGCGGCAGATGCGCCCCCTGC
CCCGCCCCGATCAGCAGCAACAGCAGGATGCAGACCCCTCTCCTCTCCCCCGCCCGTCA
CCACGGCCGCGGCGCGGCTGTCGCGTGGGGGGCGCGCTGGAGTCAGATGAGCCACCGCGGCGG
CGACCTAGGCAGTATCTGGACTTGAAGAGGGCGAGGGACTGGCGCGGCTGGGGGCGAGCTCTCC
AGAGCGCCACCCGCGGGTGCAGTTGAAAAGGGACGCGCTGAGGCGTACCTGCCGCGGCAAAACC
TGTTTCGCGACCGCGGGGGCGAGGAGCCGAGGAGATGCGGGACTGCAGGTTCCAAGCGGGGCGC
GAGCTGCGCCGCGGCTTGGACAGACAGCGCCTGCTGCGCGAGGAGGACTTTGAGCCCCGACACGCA
GACGGGCATCAGCCCCGCGCGCGCACGTGGCCGCGGCCGACCTGGTGACCGCCTACGAGCAGA
CGGTGAACCAGGAGCGCAACTTCCAAAAAGCTTCAACAACCACGTGCGCACGCTGGTGCCGCGC
GAGGAGGTGACCCTGGGTCTCATGCATCTGTGGGACCTGGTGGAGGCGATCGTGCAGAACCCAG
CAGCAAGCCCCTGACCGCGCAGCTGTTCTGGTGGTGCAGCACAGCAGGGACAACGAGGCCTTCA
GGGAGGCGCTGCTGAACATCACCGAGCCGAGGGGGCGCTGGCTCCTGGACCTGATAAACATCCTG
CAGAGCATAGTGGTGCAGGAGCGCAGCCTGAGCCTGGCCGAGAAGGTGGCGGCCATTAACCTATTC
TATGCTGAGCCTGGGCAAGTTCTACGCTCGAAGATCTACAAGACCCCTACGTGCCCATAGACAA
GGAGGTGAAGATAGACAGCTTCTACATGCGCATGGCGCTGAAGGTGCTAACCTGAGCGACGACC
TGGGAGTGTACCGCAACGAGCGCATCCACAAGGCCGTGAGCGCCAGCCGGCGGCGGAGCTGAGC
GACCGCGAACTGATGCACAGTCTGCAGCGCGCGCTGACCGGCGCGGGCGAGGGCGACAGGGAGGT
CGAGTCTACTTTGACATGGGGGCGACCTGCACTGGCAGCCGAGCCGCGCCCTGGAAGCGGC
GGGGGCGTACGGCGGCCCTGGCGGCCGATGACGAGGAAGAGGAGGACTATGAGCTAGAGGAG
GGCGAGTACCTGGAGGACTGACCTGGCTGGTGGTGGTTTTGGTATAGATGCAAGATCCGAACGTGGC
GGACCCGGCGGTCCGGGCGGCGCTGCAGAGCCAGCCGTCCGGCATTAACTCCTCTGACGACTGGGC
CGCGGCCATGGGTGCATCATGGCCCTGACCGCGCGCAACCCGAGGCCTTACGGCAGCAGCCTCA
GGCTAACCGGTGGCGGCCATCTTGAAGCGGTAGTGCCCGCGCGCTCCAACCCACCCACGAGA
AGGTGCTGGCCATAGTCAACGCGCTGGCGGAGAGCAGGGCCATCCGGGCAGACGAGGCCGACTG
GTGTACGATGCGTGTGTCAGCGGTTGGCGCGGTACAACAGCGGCAACGTGCAGACCAACCTGGA
CCGCTGGTGCAGGACGTGCGCGAGGCCGTTGGCGCAGCGCGAGCGCTTGCATCAGGACGGCAACC
TGGGCTCGCTGGTGGCGCTAAACGCCTTCTTAGCACCCAGCCGGCCAACGTACCGCGGGGGCAGG
AGGACTACACCAACTTCTTGGAGCGCTGCGGCTGATGGTGACCGAGGTCCCTCAGAGCGAGGTGT
ACCAGTCGGGGCCCCGACTACTTCTTCCAGACCAGCAGACAGGGCTTGCAAACCGTGAACCTGAGCC
AGGCTTTCAAGAACCTGCGGGGGCTGTGGGGAGTGAAGGCGCCACCGGCGACCGGGCTACGGTG
TCCAGCCTGCTAACCCCAACTCGCGCCTGCTGCTGCTGCTGATCGCGCCCTTACGGACAGCGGG
AGCGTCTCGCGGGAGACCTATCTGGGCCACCTGCTGACGCTGTACCGCGAGGCCATCGGGCAGGCG
CAGGTGGACGAGCACACCTTCCAGGAGATCACAGCGTGAGCCACGCGCTGGGGCAGGAGGACAC
GGCAGCCTGCAGGCGACCCTGAACTACCTGCTGACCAACAGGCGGCAGAAGATTTCCACGCTGC
ACAGCCTGACCCAGGAGGAGGAGCGCATCTTGCCTACGTGCAGCAGAGCGTGAGCCTGAACCTG
ATGCGCGACGGCGTGACGCCAGCGTGGCGCTGGACATGACCGCGCGCAACATGGAACCGGGCAT
GTACGCTTCCCAGCGGCCGTTTCATCAACCGCCTGATGGACTACTTGCATCGGGCGGCGGCCGTGAA
CCCCGAGTACTTACCAATGCCATTCTGAATCCCCACTGGATGCCCCCTCCGGGTTTCTACAACGGG
GACTTCGAGGTGCCTGAGGTCAACGATGGGTTCCCTCTGGGATGACATGGATGACAGTGTGTTCTCC
CCAACCCGCTGCGCGCCGCGTCTCTGCGATTGAAGGAGGGCTCTGACAGGGAAGGACCAAGGAG
TCTGGCCTCCTCCCTGGCTCTGGGGGCGGTGGGCGCCACGGGCGCGGCGGCGGGGCGAGCAGCC
CCTTCCCAGCCTGGCGGACTCTCTGAATAGCGGGCGGGTGAGCAGGCCCGCTTGCTAGGCGAGG
AGGAGTATCTGAACAACCTCCCTGCTGCAGCCCCTGAGGGACAAAACGCTCAGCGGCAGCAGTTT
CCAACAATGGGATAGAGAGCCTGGTGGACAAGATGTCCAGATGGAAGACGTATGCGCAGGAGTA
CAAGGAGTGGGAGGACCGCCAGCCGCGGCCCTGCCGCCCTAGACAGCGCTGGCAGCGGCGCG
CGTCCAACCGCCGTGGAGGACGGGCCCCGAGGACGATGACTCTGCAGATGACAGCAGCAGCGTG
TTGGACCTGGGCGGGAGCGGAAACCCCTTTCGACCTCGGCCACGCCTGGGCAAGATGTTTTAA
AAGAGAAAAATAAAAACCTACCAAGGCCATGCGCAGCAGCGTTGGTTTTTTGTTCCCTTCTTAGT
ATGCGGCGCGCGCGATGTTTCGAGGAGGGGCTCCCCCTTACGAGAGCGCGATGGGAATTTCT
CCTGCGGCGCCCCGTCAGCCTCCCTACGTGCTCCTCGGTACCTGCAACCTACAGGGGGGAGAAAT
AGCATCTGTTACTCTGAGCTGCAGCCCCTGTACGATACCACCAGACTGTACCTGGTGGACAACAAG
TCCGCGGACGTGGCCTCCCTGAACTACCAGAACGACCACAGCGATTTTTTTGACCACGGTGATCCAA

AAACAACGACTTCACCCCAACCGAGGCCAGTACCCAGACCATAAACCTGGACAACAGGTTCGAACTG
GGGCGGCGACCTGAAGACTATCCTGCACACCAATATGCCCAACGTGAACGAGTTCATGTTACCAA
CTCTTTAAGGCGCGGGTGTATGGTGGCGCGGAGCAGGGGGAGGCGAAGTACGAGTGGGTGGACT
TCACGCTGCCCCGAGGGCAACTACTCAGAGACCATGACTCTCGACCTGATGAACAATGCGATCGTGG
AACACTATCTGAAAGTGGGCAGGCAGAACGGGGTGAAGGAGAGCGATATCGGGGTCAAGTTTGAC
ACCAGAACTTCCGTCTGGGCTGGGACCCTGTGACCGGGCTGGTCATGCCGGGGGTCTACACCAAC
GAGGCCTTTATCCCGATATAGTGCTCCTGCCCGGCTGTGGGGTGGACTTCACCCAGAGCCGGCTG
AGCAACCTGCTGGGCGTTCGCAAGCGGCAACCTTTCCAGGAGGGTTTCAAGATCACCTATGAGGAT
CTGGAGGGGGGCAACATTCCCAGCTCCTTGATCTGGACGCCTACGAGGAGAGCTTGAACCCGA
GGAGAGCGCTGGCGACAGCGGCGAGAGTGGCGAGGAGCAAGCCGGCGGCGGCGGCGAGCGCGTGC
GTAGAAAACGAAAGTACTCCCAGTGGCGGCGGACGCTGCGGAGGTGCGAGCCGGAGGCCATGCA
GCAGGACGCAGAGGAGGGCGCGCAGGACATGAACAATGGGGAGATCAGGGGCGACACTTTC
GCCACCCGGGCGAAGAAAAAGAGGCGAGGACGCGGCGGCGGCGACGCGGAAGCCGAAACCGAGG
CAGAGGCAGAGCCGAGACCGAAGTTATGGAAGACATGAATGATGGAGAACGTAGGGGTGACAC
GTTTGCCACCCGGGGCGAAGAGAAGGCGGCGGAGGCAGAAGCCGCGGCTGAGGAGGCGGCTGCG
GCTGCGGCCAAGGCTGAGGCTGCGGCTGAGGCTAAGGTCGAAGCCGATGTTGCGGTTGAGGCTCA
GGCTGAGGAGGAGGCGGCGGCTGAAGCAGTTAAGGAAAAGGCCAGGCAGAGCAGGAAGAGAAA
AAACCTGTCATTCAACCTCTAAAAGAAGATAGCAAAAAGCGCAGTTACAACGTCATTGAGGGCAG
CACCTTTACCCAATACCGCAGCTGGTACCTGGCTTACAACACTACGGCGACCCGGTCAAGGGGGTGC
CTCGTGGACCTGCTCTGCACGCCGACGTCACCTGCGGCTCCGAGCAGATGTACTGGTCGCTGCC
AAACATGATGCAAGACCCGGTGACCTTCCGTTCCACGCGGCAGGTTAGCAACTTTCCGGTGGTGGG
CGCCGAACTGCTGCCAGTACACTCCAAGAGTTTTTACAACGAGCAGGCCGTCTACTCCAGCTGAT
CCGCCAGGCCACCTCTCTGACCCACGTGTTCAATCGCTTTCCCGAGAACCAGATTTTGGCGCGCCCG
CCGGCCCCACCATCACCACCGTCAGTGAACGTTTCTGCCCTCACAGATCACGGGACGCTACCG
CTGCGAACAGCATCTCAGGAGTCCAGCGAGTGACCATTACTGACGCCAGACCCGGACCTGCCCC
TACGTTTACAAGGCCTTGGGCATAGTCTCGCCGCGCTCCTCTCCAGTCGCACTTTTTAAAACACAT
CCACCCACACGCTCCAAAATCATGTCCGTAATCTCGCCAGCAACAACACCGGCTGGGGGCTG
CGCGCACCCAGCAAGATGTTTGGAGGGGCAAGGAAGCGCTCCGACCAGCACCCCGTGCAGCTGCG
CGGCCACTACCGCGCGCCCTGGGGTGCACACAAGCGCGGGCGCACAGGGCGCACCACTGTGGATG
ATGTCATTGACTCCGTAGTGGAGCAGGCGCGCCACTACACACCCGGCGCGCCGACCGCCTCCGCCG
TGTCCACCGTGGACCAGGCGATCGAAAGCGTGGTACAGGGGGCGCGGCACTATGCCAACCTTAAA
AGTCGCCGCCGCGCGTGGCGCGCCGCCATCGCCGGAGACCCGGGCTACTGCCGCCGCGCGCCTT
ACCAAGGCTCTGCTCAAGCGCGCCAGGCGAACTGGCCACCCGGGCCCATGAGGGCCGACGCGCG
GGCTGCCGCTGCCGAGCGCGCCGTCGCCCGCGGACGAAGGCGCGCGGCGCTGCCCGCCCG
CCGCCATTTCCAGCTTGGCCTCGACGCGCGCGTAAACATATACTGGGTGCGGACTCGTGTGAGCG
GCACACGTGTGCCCGTGCCTTTGCCCCCACGGAATTAGCACAAAGACAACATACACTGAGTC
TCCTGCTGTTGTATCCAGCGGCGACCGTACGACGCGCGACATGTCCAAGCGCAAAATTAAG
AAGAGATGCTCCAGGTCATCGCGCCGAGATCTATGGGCCCCGAAGAAGGAGGAGGAGGATTAC
AAGCCCCGCAAGCTAAAGCGGGTCAAAAAGAAAAAGAAAGATGATGACGTTGACGAGGCGGTGG
AGTTTGTCCGCCATGGCGCCAGGCGCCCTGTGCAGTGGAAAGGGTCGGCGCGTGCAGCGAGTCC
TGCGCCCCGGCACCGCGGTGGTCTTTACGCCCGGCGAGCGTTCACGCGCACTTTCAAGCGGGTGT
ACGATGAGGTGTACGGCGACGAGGATCTGTTGGAGCAGGCCAACCATCGATTTGGGGAGTTTGCAT
ATGGGAAACGGCCTCGCGAGAGTCTAAAAGAGGACCTGCTGGCGTACCGCTGGACGAGGGCAAT
CCCACCCGAGTCTGAAGCCGGTGACCCTGCAACAGGTGCTGCCTTTGAGCGCGCCAGCGAGCAG
AAGCGAGGGTTAAAGCGCGAGGGCGGGACCTGGCACCCACCGTGCAGTTGATGGTGCCCAAGCG
GCAGAAGCTGGAGGACGTGCTGGAGAAAATGAAAGTAGAGCCCGGGATCCAGCCCGAGATCAAG
GTCCGCCCTATCAAGCAGGTGGCGCCCGGCTGGGAGTCCAGACCGTGGACGTTAGGATTCCCACG
GAGGAGATGGAACCCAAACCGCCACTCCCTCTTCGGCAGCAAGCGCCACCACCGGCGCCGCTTC
GGTAGAGGTGCAGACGGACCCCTGGGTACCCGCGCCACTATCGCCGTCGCCCGCCCGCCCCCGTTC
GCGCGGACGCAAGAGAAATTATCCAGCGGCCAGCGCGCTTATGCCCCAGTATGCGCTGCATCCATC
CATCGCGCCACCCCGGCTACCGCGGGTACTCGTACCGCCCGCGCAGATCAGCCGGCACTCGCGG
CCGCCGCCCGCTGCGACCACAACCAGCCGCCCGCGTCCGCCCGCCGCCAGCCAGTGTGACCCC
CGTGTCTGTAAGGAAGGTGGCTCGCTCGGGGAGCACGCTGGTGGTGCCAGAGCGCGCTACCACCC
CAGCATCGTTTTAAAGCCGGTCTCTGTATGGTCTTGCAGATATGGCCCTCACTTGTGCCTTCGCTT
CCCGGTGCCGGGATAACCGAGGAAGAACTACCGCCGAGGGGCATGGCGGGCAGCGGTCTCCGCG
GCGGCCGTCGCCATCGCCGGCGCGCAAAGAGCAGGCGCATGCGCGGCGGTGTTGCCCTGCTG
GTCCCGTACTCGCCGCGGATCGCGCGCTGCCCGGATCGCCTCCGTGCCCTCGAGGCTCC
CAGAAACATGACTCTTGCAACCTTGCAAGCTTGCAATTTTTGGAGGAAAAAATAAAAAAGTCTAGA
CTCTCACGCTCGTTGGTCTGTGACTATTTTGTAGAAAAAAGATGGAAGACATCAACTTTGCGTGC
CTGGCCCCGCTCACGGCTCGCGCCGTTTATGGGAGACTGGACAGATATCGGCACCAGCAATATG
AGCGGTGGCGCCTTACAGTGGGGCAGTCTGTGGAGCGGCCTTAAAAATTTTGGTTCCACCATTAAG
AACTATGGCAACAAAGCGTGGAACAGCAGCACGGGTCAGATGCTGAGAGACAAGTTGAAAGAGC

AGAACTTCCAGGAGAAGGTGGCGCAGGGCCTGGCCTCTGGCATCAGCGGGGTGGTGGACATAGCT
 AACCAGGCCGTGCAGAAAAAGATAAACAGTCATCTGGACCCCCGCCCTCAGGTGGAGGAAACGCC
 TCCAGCCATGGAGACGGTGTCTCCGAGGGCAAAGGCGAAAAGCGCCCCGGCCCCGACAGGGAAG
 AGACCCTGGTGTACACACCGAGGAGCCGCCCTTTACGAGGAGGCAGTCAAGGCCGGCCTGCC
 ACCACTCGCCCCATAGCTCCCATGGCCACCGGTGTGGTGGGTACAGGCAACACACCCCCGCAACA
 CTAGATCTGCCCCCGCCGTCCGAGCCGACTCGCCAGCCAAAGGCGGTGACGGTGTCCGCTCCCTCC
 ACTTCCGCCGCCAACAGAGTGCCTCTGCGCCGCGCTGCGAGCGGCCCCCCGGCCTCGCGAGTCAGC
 GGCAACTGGCAGAGCACACTGAACAGCATCGTGGGCCTGGGAGTGAGGAGTGTGAAGCGCCGCCG
 TTGCTACTGAATGAGCAAGCTAGCTAACGTGTTGTATGTGTGTATGCGTCCTATGTGCGCCGCCAGA
 GGAGCTGTTGAGCCGCCGCGCCGTCTGCACTCCAGCGAATTTCAAGATGGCGACCCCATCGATGA
 TGCCTCAGTGGTTCATATGCACATCTCGGGCCAGGACGCTTCGGAGTACCTGAGCCCCGGGTGG
 TGCATTGCGCCCGCCACAGACACTTCAACATGAGTAACAAGTTCAAGAACCCCACTGTGG
 CGCCACCCAGATGTGACCACGGACCGTTCGACGCGCTGACGCTGCGGTTTATCCCCGTGGATC
 GGGAGGACACCGCTTACTCTTACAAGGCGCGTTTACGCTGGCCGTGGGCGACAACCGCGTGCTGG
 ACATGGCCTCCACTTACTTTGACATCCGGGGGGTGGTGGACAGGGGCCCACTTTTAAGCCCTACT
 CGGGCACTGCCTACAACCCCTGGCCCCAAGGGCGCCCCAATTCTTGTGAGTGGGAACAAGAGG
 AAAATCAGGTGGTTCGCTGCAGATGATGAACTTGAAGATGAAGAAGCGCAAGCACAAGAGGAAGCC
 CCTGTGAAAAAATTCATGTATATGCTCAGGCGCCTCTTTCTGGCGAAAAGATTTCCAAGGATGGT
 ATCCAAATAGGTACTGAAGTTCGTAGGAGATACATCTAAGGACACTTTTGCAGATAAAAACATTCCAA
 CCCGAACCTCAGATAGGCGAGTCTCAGTGGAACGAGGCTGATGCCACAGCAGCAGGAGGTAGAGT
 TTTGAAAAAGACTACCCCTATGAGACCTTGTATGGATCCTATGCCAGGCCTACCAATGCCAACGG
 GGGTCAAGGAATTATGGTTGCCAATGAACAAGGAGTGTGGAGTCTAAAGTAGAAATGCAATTTTT
 CTCTAACACCACAACCCCTAATGCGCGGGATGGAACCGGCAATCCCGAACCAAGGTGGTGTGTGA
 CAGCGAAGATGTCCACTTGAATCTCCCGATACTCATCTGTCTTACAAGCCAAAAAGGATGATGT
 TAATGCCAAAATCATGTTGGGTGAGCAAGCCATGCCCAACAGACCCAACCTCATTGGATTTAGAGA
 TAATTTTATTGGGCTTATGTTTTACAACAGCACCCGTAACATGGGAGTGTGGCGGGTCAGGCCTC
 TCAGTTGAATGCTGTGGTGGACTTGCAGGATAGAAACACAGAACTGTCATATCAGCTTCTGCTTGA
 TTCAATTGGGGATAGAACCAGATACTTCTCCATGTGGAACCAGGCAGTGGATAGCTATGATCCAGA
 TGTCAGAATTATTGAAAACCATGGGACTGAGGATGAACTGCCCACTACTGCTTCCCTTTGGGCGG
 CATAGGAGTTACTGATACTTATCAAGGGATAAAAAATACCAATGGCAATGGTCAGTGGACCAAAG
 ATGATCAGTTTCGCGGACCGCAACGAAATAGGGGTGGGAAACAACCTTCGCCATGGAGATCAACATC
 CAGGCCAACCTTTGGAGAACTTCTCTATGCAAACGTGGGGCTTACCTGCCAGACAAGCTCAAG
 TACAACCCCAACCATGGTGGACATCTCTGACAACCCCAACACCTATGACTACATGAACAAGCGGGTG
 GTGGCCCCCTGGCCTGGTGGACTGCTTTGTCAATGTGGGAGCCAGGTGGTCCCTGGACTACATGAGC
 AACGTCAACCCCTTCAACACCACCGAATGCGGGTTCGCGTACCCTCCATGATCCTGGGCAAC
 GGGCGCTATGTCCTTTACATCCAGTACCCAGAACTTCTTTGCCATCAAGAACCTCCTGCTCC
 TGCCCGGCTCCTACACCTACGAGTGGAACCTTCAAGGAAGGATGTGAACATGGTCCACAGAGCTCTC
 TGGGCAATGACCTTAGGGTGGATGGGGCCAGCATCAAGTTTACAGCATCACCCCTATGCTACAT
 TTTTCCCCATGGCCCACAACACCGCCTCCACGCTTGGAGCCATGCTGAGAAACGACACCAACGACC
 AGTCTTTAATGACTACCTCTCTGGGGCCAACATGCTCTACCCAATCCAGCCAAGGCCACCAACG
 TGCCCATCTCCATCCCCTCTCGCAACTGGGCCGCTTTAGAGGCTGGGCCTTTACCCGCTTAAGAC
 CAAGGAGACCCCTCCCTGGGCTCGGGTTTTGATCCCTACTTTGTTTACTCGGGATCCATCCCCTAC
 CTGGATGGCACCTTCTACCTCAACCACACTTTCAAGAAGATATCCATCATGTATGACTCCTCCGTCA
 GCTGGCCGGGCAACGACCGCTTGTCAACCCCAATGAGTTCGAGGTCAAGCGCGCCGTGGACGGC
 GAGGGCTACAACGTGGCCCAGTGCAACATGACCAAGGACTGGTTCCTGGTGCAGATGCTGGCCAA
 CTACAACATAGGCTACCAGGGCTTTTACATCCAGAGAGCTACAAGGACAGGATGTACTCCTTCTT
 CAGAAATTTCCAACCCATGAGCCGACAGGTGGTGGACGAGACCAATTACAAGGACTATCAAGCCA
 TTGGCATCACCCACCAGCACAACAACCTCGGGTTTCGTGGGCTACCTGGCGCCCACCATGCGCGAGG
 GTCAGGCCTACCCCGCAACTTCCCCTACCCCTTGATAGGCAAGACCGCGGTGACAGCGTCAACC
 AGAAAAAGTTCTCTGCGACCCGACCCCTCTGGCGCATCCCCTTCTTAGCAACTTCATGTCCATGGG
 TCGCTCACGGACCTGGGCCAAAACCTGCTTTATGCCAACTCTGCCATGCGCTGGACATGACTTTT
 GAGGTGGACCCCATGGACGAGCCACCCCTTCTCTATATTGTGTTTGAAGTGTTCGACGTGGTCAGA
 GTGCACCAGCCGACCGCGGTGTCATCGAGACCGTGTACCTGCGTACGCCCTTCTCAGCCGGCAAC
 GCCACCACCTAAGGAGACAGCGCCGCCGCGCTGCATGACGGGTTCCACCGAGCAAGAGCTCAG
 GGCCATTGCCAGAGACCTGGGATGCGGACCCTATTTTTTGGGCACCTATGACAAACGCTTCCCGGG
 CTTTATCTCCCGAGACAAGCTCGCCTGCGCATTGTCAACACGGCCGCGCGAGACCGGGGGCGT
 GCACTGGCTGGCCTTTGGCTGGGACCCGCTCCAAAACCTTGCTACCTCTTTGACCCCTTTGGCTTC
 TCCGATCAGCGCCTCAGGCAGATTTATGAGTTGAGTACGAGGGGCTGCTGCGCCGAGCGCGCTC
 GCCTCCTCGCCGACCGCTGCATCACCCCTTGAAGAAGTCCACCGAAACCGTGCAGGGGGCCCACTCG
 GCCGCTGCGGTCTCTTCTGTTGCATGTTTTTGCACGCTTTGTGCACTGGCCTCAGAGTCCCATGG
 ATTGCAACCCCAACATGAACTTGTAAAGGGAGTGCCCAACGCCATGCTCCAGAGCCCCCAGGTCC
 AGCCACCCCTGCGCCGCAACCAGGAACAGCTTTACCGCTTCTGGAGCGCCACTCCCCCTACTTCC

GCAGCCACAGCGCGCATCCGGGGGGCCACCTCTTTTTGCCACTTGCAAGAAAACATGCAAGACG
 GAAAATGATGTACAGCATGCTTTAATAAATGTAAAGACTGTGCACTTTAATTATACACGGGCTCT
 TTCTGGTTATTTATTCAACACCCGCGTCGCCATTTAGAAATCGAAAGGGTTCTGCCGTGCGTCGCCG
 TCGCCACGGGCAGAGACACGTTGCGATACTGGAAGCGGCTCGCCACTTGAACTCGGGCACCAC
 CATGCGGGGCAGTGGTTCCTCGGGGAAGTTCTCGCTCCACAGGGTGCGGGTCAGCTGCAGCGCGCT
 CAGGAGGTGCGGAGCCGAGATCTTGAAGTCGAGTTGGGGCCGGAACCCTGCGCGCGGAGTTGC
 GGTACACGGGGTTGCAGCACTGGAACACCAGCAGGGCCGGATTATTCACGCTGGCCAGCAGGCTC
 TCGTCGCTGATCATGTCGCTGTCCAGATCCTCCGCGTTGCTCAGGGCGAATGGGGTCATCTTGCAGA
 CCTGCCTGCCAGGAAAGGCGGGAGCCCAGGCTTGCCGTTGCAGTCGCAGCGCAGGGGCATTAGC
 AGGTGCCACGCCCCGACTGCGCCTGCGGGTACAACGCGCGCATGAAGGCTTCGATCTGCCTAAAA
 GCCACCTGGTCTTGGCTCCCTCCGAAAAGAACATCCCACAGGACTTGCTGGAGAACTGGTTCCGCG
 GGACAGTGGCATCGTGCAGGCAGCAGCGCGCTCAGTGTGGCAATCTGCACCACGTTGCGACCC
 CACCGTTTTTCACTATCTTGGCCTTGAAGCCTGCTCCTTTAGCGCGCGCTGGCCGTTCTCGCTGG
 TCACATCCATCTATCACCTGTTCCCTGTTGATCATGTTTGTCCCGTGCAGACACTTTAGGTCGCC
 TCCGCTGGGTGCAGCGGTGCTCCACAGCGCGCAACCGGTGGGCTCCCAATTCTTGTGGGTACC
 CCCGCGTAGGCCTGCAGGTAGGCCTGCAGGAAGCGCCCCATCATGGTCAATAAAGGTCTTCTGGCTC
 GTAAAGGTGAGCTGCAGGCCGCGATGCTCTTCGTTACGCCAGGTCTTGCAGATGGCGGCCAGCGCC
 TCGGTCTGCTCGGGCAGCATCTTAAAAATTTGTCTTTCAGGTGCTTATCCACGTGGTACTTGTCCATCA
 TGGCACGCGCCGCTCCATGCCCTTCTCCAGGCGGACACCATGGGCAGGCTTAGGGGGTTTTATCA
 CTTCCAGCGGGCAGGACACCGTACTTTTCGATTTCTTCTTCCCTCCCTCTTCCCGCGCGCGCCCC
 GCTGTTGCGCGCTTTACCGCTGCACCAAGGGGTGCTCTTTCAGGCAAGCGCCGCACCGAGCGCTT
 GCCGCCCTTGACCTGCTTGATCAGTACCGCGGGTGTGCTGAAGCCCACCATGGTCAGCGCCGCTG
 CTCTTCTCGTCTTTCGCTGTCTACCACTATTTCTGGGGAGGGGCTTCTCCGCTCTGCGGCAAGGGC
 GCGGATCGCTTCTTTTTTTTCTTGGGAGCCGCGCGATGGAGTCCGCCACGGCGACCGAGGTGAG
 GCGTGGGGTGGGGTGCAGCGGTACCAGGGCTCGTCGCCCTCGGACTTTCCTCTGACTCCAGG
 CGGCGGGAGTCTGCTTCTTGGGGCGCGCGCTCAGCGGGCGGAGACGGGGACGGGGACGG
 GGACGGGACGCCCTCCACAGGGGGTGGTCTTCGCGCAGACCCGCGGCCGCGCTCGGGGGTCTTCTC
 GCGTGGTCTTGGTCCCGACTGGCCATTGTATCCTCCTCCTCCTAGGCAGAGAGACATAAGGAGTC
 TATCATGCAAGTCGAGAAGGAGGAGAGCTTAACCACCCCTCAGAGACCGCCGATGCGCCCCCG
 TCGCCGTCGCCCCGCTACCGCCGACGCGCCCGCCACACCGAGCGACACCCACGGACCCCCCG
 CCGACGCACCCCTGTTTCGAGGAAGCGGCCGTGGAGCAGGACCCGGGCTTTGTCTCGGCAGAGGAG
 GATTTGCAAGAGGAGGAGAATAAGGAGGAGAAGCCCTCAGTGCCAAAAGATCATAAAGAGCAAG
 ACGAGCAGCAGCAGACGCACACCAGGGTGAAGTCGGGCGGGGGACGGAGGGCATGGCGGCGC
 CGACTACCTAGACGAAGGAAACGACGTGCTCTTGAAGCACCTGCATCGTCAGTCGCGCCATCGTCTG
 CGACGCTCTGCAGAGCGCAGCGAGGTGCCCTCAGCGTGGCGGAGGTACGCCGCGCTACGAGC
 TCAGCCTTTTTCCCCCGGGTGCCCCCGCCGCGAAAACGGCACATGCGAGCCCAACCCGCG
 GCCTCAACTTCTACCCCGCTTTGTGGTGCCCGAGGTCTTGGCCACCTATCACATCTTCTTTCAAAA
 TTGCAAGATCCCCATCTCGTGCCGCGCAACCGTAGCCGCGCCGATAAGATGCTGGCCCTGCGCCA
 GGGCGACCACATACTGATATCGCCGCTTTGGAAGATGTGCCAAAGATCTTCGAGGGTCTGGGGCG
 CAACGAGAAGCGGGCAGCAAACCTCTCTGCAACAGGAAAACAGCGAAAATGAGAGTCACACTGGA
 GCGTGGTGGAGCTGGAGGGCGACAACGCCCGCTGGCGGTGCTCAAGCGCAGCATCGAGGTAC
 CCACTTTGCCTACCCCGCGCTCAACCTGCCCCCAAAGTCATGAACGCGGTTCATGGACGGGCTGAT
 CATGCGCCGCGGCCGCCCCCTCGCTCCAGATGCAAACCTGTCATGAGGAGACCGAGGACGGTCAGC
 CCGTGGTCAGCGACGAGCAGCTGACGCGCTGGCTGGAGAGCGCGGACCCCGCCGAACCTGGAGGAG
 CGGCGCAAGATGATGATGGCCGCGGTGCTGGTACCCTAGAGCTGGAGTGTCTGCAGCGCTTCTC
 GGTGACCCCGAGATGCAGAGAAAGGTGAGGAGACCCTACACTACACCTTCCGCCAGGGCTACGT
 GCGCCAGGCTTGCAAGATCTCCAACGTGGAGCTCAGCAACCTGGTGTCTACCTGGGCATCTTGCA
 TGAAAACCGCCTTGGGCAGAGCGTGTACACTCCACCCTGCGCGGGGAGGCGCGCCGCGACTACG
 TGCGCGACTGCGTTTACCTCTTCTCTGCTACACCTGGCAGACGGCCATGGGGGTCTGGCAGCAGT
 GCCTGGAGGAGCGCAACCTCAAGGAGCTGGAGAAGCTTCTGCAGCGCGCGCTCAAAGACCTCTGG
 ACGGGCTTCAACGAGCGCTCGGTGGCCGCGCGCTAGCCGACCTCATCTTCCCGAGCGCCTGCTC
 AAAACCCTCCAGCAGGGGCTGCCGACTTACCAGCCAAAGCATGTTGCAAAAATTTAGGAACTTT
 ATCTGGAGCGTTCTGGCATCCTACCCGCCACCTGCTGCGCCCTGCCAGCGACTTTGTCCCCCTCG
 TGTACCGCGAGTGCCCCCGCGCTGTGGGGCCACTGCTACCTGTTCCAACCTGGCCAACCTACCTGT
 CTACCACGCGGACCTCATGGAGGACTCCAGCGGCGAGGGGCTCATGGAGTGCCACTGCCGCTGCA
 ACCTCTGCACGCCCCACCGTCCCTGGTCTGCAACACGAAACTGCTCAGCGAGAGTCAGATTATCG
 GTACCTTCGAGTACAGGGTCCGTCTCTCAGACAGAAAGTCCGCGGCTCCGGGGCTAAAACCTCA
 CTCCGGGGTGTGGACTTCCGCTACCTGCGCAAATTTGTACCTGAAGACTACCACGCCCCAGAAA
 TCAGGTTTTACGAGGACCAATCCCGCCCGCCAAAGGCGGAGCTGACCGCTCGTTCATACCCAGG
 GCGAGATCTAGGCAATTGCAAGCCATCCAAAAAGCCCGCCAAGAGTTTTGTGAAGAGGGGT
 CGGGGGGTGATCTGGACCCCCAGTCGGGTGAGGAGCTCAACCCGTTCCCCCGCTGCCACCGCCG
 CGGGACCTTGTCTCCAGGATAAGCATCGCCATGGCTCCAGAAAAGAAGCAGCAGCGCCGCGCG

TGCCGCCGCCACATGCTGGAGGAAGAGGAGGAATACTGGGACAGTCAGGCAGAGGAGGTTTCG
 GACGAGGAGGAGCCGGAGACGGAGATGGAAGAGTGGGAGGAGGACAGCTTAGACGAGGAGGCTT
 CCGAAGCCGAAGAGGCAGGCGCAACACCGTCACCCTCGGCCGACGCCCCCTCGCAGGCGCCCCCG
 AAGTCCGCTCCAGCATCAGCAGCAACAGCAGCGCTATAACCTCCGCTCCTCCACCGCCGCGACCC
 ACGGCCGACCGCAGACCCAACCGTAGATGGGACACCACCGGAACCGGGGCCGGTAAGTCTCCGG
 GAGAGGCAAGCAAGCGCAGCGCCAAGGCTACCGCTCGTGGCGCGCTCACAAGAACGCCATAGTCG
 CTTGCTTGCAAGACTGCGGGGGGAACATCTCCTTCGCCCCCGCTTCTGCTCTTCCACCACGGTGT
 GGCTTCCCCCGTAACGTCTGCATTACTACCGTCATCTCTACAGCCCCTACTGCGGGCGCAGTGAG
 CCAGAGGCGGCCAGCGGCGGCGGCCCGTTTCGGTGCCTAGGAAGACCCAGGGCAAGACTTCAG
 CCAAGAAACTCGCGGCACCGCGGCGAACGCGGTTCGCGGGGGCCCTGCGCCTGACGGTGAACGAA
 CCCCTGTGACCCCGGAACAGGAAACCGAATCTTCCCCACTCTCTATGCCATCTTCCAGCAGAGC
 AGAGGCGAGACTCAGAACTGAAAGTAAAAAACAGGTCTCTGCGCTCCCTCACCCGACTGTCT
 GTATCACAAGAGCGAAGACCAGCTTCGGCGCACGTGGAGGACGCTGAGGCACCTTTCAGCAAAT
 ACTGCGCGCTCACTCTTAAGGACTAGCTCCGCGCCCTTCTCGAATTTAGGCGGGAAACGCTACGTC
 ATCGCAGCGCCCGCTCATGAGCAAGGACATTCCCACGCCATACATGTGGAGCTATCAGCCGCGA
 TGGGACTCGCGGGCGGCCTCCCAAGACTACTCCACCCGCATGAACTGGCTCAGTGCCGGCCAC
 ACATGATCTCACAGTTAATGACATCCGCACCCATCGAAACCAAATATTGGTGAAGCAGGCGGCA
 ATTACCACCACGCCCCGAATAATCCCAACCCAGGGAGTGGCCCGCGTCCCTGGTGTATCAGGAA
 ATTCCCGGCCACCACCGTACTACTTCCGCGTGATTCCCAGGCCGAAGTCCAAATGACTAACTCA
 GGGGCACAGCTCGCGGGCGGCTGTCGTCACAGGGTTCGCGCCTCCTCGCCAGGGTATAACTCACCTG
 GAGATCCGAGGCAGAGGTATTCAGCTCAACGACGAGTTCGGTTCGCTCCTCGCTCGGTCTCAGACT
 GACGGGACCTTCCAGATAGCCGGAGCCGGCCGATCTTCTTCCAGCCCCGCCAGGCGTACCTGACT
 CTGCAGAGCTCGTCTCGGCGCCGCGCTCGGGCGGCATCGGGACTCTCCAGTTCGTGCAGGAGTTT
 GTGCCCTCGGTCTACTTCAACCCCTTCTCGGGCTCTCCCGGTTCGCTACCCGGACCAGTTTATCCCGA
 ACTTTGACGCCGCGAGGGACTCGGTGGACGGCTACGACTGAATGTCGGGTGGACCCGGTGCAGAG
 CAACTTCGCCTGAAGCACCTTGACCACTGCCGCCGCCCTCAGTGCTTTGCCCGCTGTCAGACCGGTG
 AGTTCAGTACTTTTCCCTGCCGACTCGCACCCGGACGGCCCGGCGCACGGGGTTCGCTTTTTCAT
 CCCGAGTCAAGTCCGCTTACCCTAATCAGGGAGTTCACCGCCCGTCCCTACTGGCGGAGTTGGA
 AAAGGGGCTTCTATCCTAACCATTGCCTGCATTTGCTCTAACCTGGATTACACCAAGATCTTTGC
 TGTCAATTTGTGTGCTGAGTATAATAAAGGCTGAGATCAGAATCTACTCGGGCTCCTGTCCCATCCT
 GTCAACGCCACCGTCCAAGCCCCGGCCGATCAGCCCCAGGTGAACCTCACCTGTGGTCTGCACCGG
 CGCTGAGGAAATACCTAGCTTGGTACTACAACAGCACTCCCTTTGTGGTTTACAACAGCTTTGACC
 AGGACGGGTCTCACTGAGGGATAACCTCTCGAACCTGAGCTACTCCATCAGGAAGAACAACACC
 CTCGAGTACTTCTCTTACCTGCCCGGAGACTACCAGTGTGTCACCGCCCTTGCACCCACCC
 ACCTGTTGATCGTAACGACTCTCTTCCGAGAACAGACTCAATAACTCCTCTCCGCAATTCCCCAG
 AACAGGAGGTGAGTCAAGAAACCCCGGTAAAGAAGGGTGGACAAGAGTTAACACTTGTGGGGT
 TTCTGGTATATGTGACGCTGGTGGTGGCTCTTTTGATTAAGCTTTTCCCTTCATGTCTGAACTATCC
 CTCTTCTTTATGAACAACCTCGACTAGTGCTAACGGGACCCTACCCAACGAATCGGGATTGAATAT
 CGGTAACCAGGTTGCAGTTTCACTTTTGATTACCTTCATAGTCTCTTCCCTGCTAGTGCTGTGCTTC
 TGTGCTGCGGATCGGGGGCTGCTGCATCCACGTTTATATCTGGTGGTGGCTGTTTGAAGGTTCCG
 AGACCACCGCAGGTAGAATAATGCTGCTTACCCTCTTTGCTGCTGGCGCTGGCTGCCAGCTGCCAAG
 CCTTTTCCGAGGCTGACTTCATAGAGCCCCAGTGCAATATCACTTATAAATCTGAACGTGCCATCTG
 TACTATTCTAATCAAATGTGTTACTCAACACGATAAGGTGACTGTTAAATACAAAGATCAATTTAA
 AAAAGACGCACTTTACAGCAGCTGGCAACCAGGAGATGATCAAAAATACAATGTAACCGTCTTCC
 AGGGCAAACCTCCAAAACCTTACAATTACAATTTCCCATTTGAGCAGATGTGTGACTTTGTCATGTA
 CATGAAAAGCAGTACAAGCTGTGGCCTCCAACCTCCCAGGGCTGTGTGAAAATCCAGGCTCTTT
 CTGTATGATCTCTCTGTGTAACCTGTGCTGGCACTAATACTCACGTTCTGTATCTCAGATTTAAT
 CAAGGCAAAGCTTATTGATGAAAAGAAAATGCCATAATCGCTCAACGCTTGATTGCTAACACCGG
 GTTTTTATCCGAGAATGATTGGAATCACCTACTAATCACCTCCCTCCTTGCATTGCCCATGGGT
 TGAACGAATCGAAGTCCCTGTGGGGGCCAATGTTACCCTGGTGGGGCCTGTCGGCAATGCTACAT
 TAATGTGGGAAAAATATACTAAAAATCAATGGGTTTCTTACTGCACTAACAAAAACAGCCACAAGC
 CCAGAGCCATCTGCGATGGGCAAAATCTAACCTTGATTGATGTTCAATTGCTGGATGCGGGGCTACT
 ATTATGGGCAGCTGGGTACAATGATTAATTACTGGAGACCCACAGAGATTACATGCTTACGTTAG
 TAAAGGTCCCATTAGCAGCCCAACCACCCTTACCACACCCACTACCACCACTACTCCCACCA
 CCAGCACTGCCGCCAGCCTCCTCATAGCAGAACAACCACTTTTATCAATTCGAAGTCCCCTCCCC
 CCACATTGCCGGCGGGCCCTCCGCTCAGACTCCGAGACCACCGAGATCTGCTTCTGCAAATGCTC
 TGACGCCATTGCCAGGATTTGGAAGATCACGAGGAAGATGAGCATGACTACGCAGATGCATGCC
 AGCATCAGAGGCGAGAAGCGTACCGGTGGCCCTAAAACAGTATGCAGACTCCCACACACCACCC
 AACCTTCCCTCACCTTCCAGAACGCAAGTTTCTGGGGGAAAATGAAACTCTGCCTCTTTCCATAC
 TAGCTCTGACATCTGTTGCTATTTGGCCGCTCTGCTGGTGGTCTTATGCTCTATATGCTACCTGATC
 TGCTGCAGAAAAGAAAAATCTCACGGCCATGCTCACCAGCCCCCTCATGCACTTCCCTTACCCTCCA
 GAGCTGGGCGACCACAACTTTAAGTCTGCAGTAGCTATCTGCCATCCCTTGTGAGTGCAGACGCG

ATGAGCCCCACTAATCTAACAGCCTCTGGACTTACAACATTGTCTCTTAATGAGACCACCGTCCTC
 AAGACCTGTACGATGGTGTCTCCGCGCTGGTTAACCAGTGGGATCACCTGGGCATATGGTGGCTCC
 TCATAGGAGCAGTGACCCTGTGCCTAATCCTGGTCTGGATCATCTGCTGCATCAAAAAGCAGAAGAC
 CCAGGCGGGCGGCCATCTACAGGCCCTTCGTCATCACACCTGAAGATAATGATGATGATGACACCA
 CCTCCAGGCTGCAGAGCCTAAAGCAGCTACTCTTCTCTTTTACAGCATGGTAAATTGAATCATGCC
 CGCATTTTCATCTACTTGCTTCTCCTTCCACTTTTTCTGGGCTCCTCTACATTGGCCACTGTGTCCCA
 CATCGAGGTAGACTGCCTCACGCCCTTACAGTCTACCTGCTTTTCGGCTTTGTCATCTGCACCTTT
 GTCTGCAGCGTTATCACTGTAGTGATCTGCTTCATACAGTGCATCGACTACATCTGTGTGCGGGTGG
 CCTACTTTAGACACCACCCCAAGTATCGCAACAGGGACATAGCGGCTCTCCTAAGACTTGTTAAA
 TCATGGCCAAATTACCTGTGATTGGTCTTCTGATTATCTGCTGCGTCCTAGCCGCGATTGGGACTCA
 ACCTAATACCACCACCGCTCCCAGAAAGAGACATGTATCCTGCAGCTTCAAGCGTCCCTGGAA
 TATACCCCAATGCTTTACTGTATGAACCTGAAATCTCTTTGGCTTGGTACTTCAGCGTCACCCGCCCT
 CTCATCTTCTGCAGTACGGTTATTGCTCTTGCCATCTACCCTTCCCTTAACCTGGGCTGGAATGTGT
 CAACTCTATGGAATATCCACCTTCCAGAACAGACCTGCCAGACCTGGTTGTTCTAAACGCGTTT
 CCTCCTCCTCCAGTTCAAATCAGTTTCGCCCTCCGTCCCCTACGCCCACTGAGGTCAGCTACTTTA
 ATCTAACAGGCGGAGATGACTGAAAACCTAGACCTAGAAAATGGACGGTCTCTGCAGCGAGCAACG
 CACACTAGAGAGGCGCCGGCAAAAAGCAGAGCTCGAGCGTCTTAAACAAGAGCTCCAAGACGCCG
 TGGCCATACACCAGTGCAAAAAAGGGCTCTTCTGTCTGGTAAAAACAGGCCACGCTCACCTATGAAA
 AAACAGGTGACACCACCGCTAGGATACAAGCTGCCACACAGCGCCAAAAGTTTGCCCTTATGA
 TAGGTGAACAACCCATCACCGTCACCCAGCACTCCGTGGAGACAGAAGGCTGCATTATGCTCCCT
 GCAGGGGCGCTGACTGCCTCTACACCTTGATCAAAACCTCTGCGGTCTCAGAGACCTTATCCCTT
 CAATTGATCATAACTGTAATCAATAAAAAATCACTTACTTGAAATCTGATAGCAAGACTCTGTCCA
 ATTTTTTCAGCAACACTTCTTCCCCTCCTCCCAACTCTGGTACTCTAGGCGCCTCCTAGCTGCAAA
 CTTCTCCACAGTCTGAAGGGAATGTCAGATTCTCCTCCTGTCCCTCCGCACCCACGATCTTCATG
 TTGTTACAGATGAAACGCGCGAGATCGTCTGACGAGACCTTCAACCCCGTGTACCCCTACGATAAC
 GAGATCGCTCCGACTTCTGTCCCTTCTTACCCTCCCTTTGTATCATCCGCAGGAATGCAAGAAA
 ATCCAGCTGGGGTGCTGTCCCTGCACCTGTGAGAGCCCTTACCACCCACAATGGGGCCCTGACTC
 TAAAAATGGGGGGCGGCCTGACCCTGGACAAGGAAGGAATCTCACTTCCAAAACATCACCAGT
 GTCGATCCCCCTCTCAAAAAAAGCAAGAACAACATCAGCCTTCAGACCGCCGCACCCCTCGCCGTC
 AGCTCCGGGGCCCTAACCCCTTTTTGCCACTCCCCCCTAGCGGTCAGTGGCGACAACCTTACTGTGC
 AGTCTCAGGCCCTCTTACTTTGGAAGACTCAAACTAACTCTGGCCACCAAGGACCCCTAACTG
 TGTCCGAAGGCAAACCTTGTCTAGAAACAGAGCCTCCCTGCATGCAAGTGACAGCAGTAGCCTGG
 GCCTTAGCTCAGGCCCCACTTAGCATTAAACAATGACAGCCTAGGACTAGACATGCAAGCGCCCA
 TCAGCTCTCAGATGGAAAACCTGGCTCTAACAGTGGCGGCCCTTAACTGTGGCCGAGGGTATCA
 ATGCTTTGGCAGTAGCCACAGGTAATGGTATTGGACTAAATGAAACCAACACACACTGCAGGCA
 AAACCTGGTCGCGCCCTAGGCTTTGATACCAACGGCAACATTAAGCTAAGCGTCGCAGGAGGATG
 AGGCTAAACAATAACACACTGATACTAGATGTAACCTACCCATTTGAGGCTCAAGGCCAACTGAGC
 CTAAGAGTGGGCTCGGGCCACTATATGTAGATTCTAGTAGTCATAACCTAACCATTAGATGCCTT
 AGGGGATTGTATGTAACATCTTCTAACAACCAAAAACGGTCTAGAGGCCAACATTAACCTAACA
 AGGCCTTGTGTATGACGGAAATGCCATAGCAGTTAATGTTGGCAAAGGGCTGGAATACAGCCCTAC
 TGGCACAACAGAAAAACCTATACAGACTAAAATAGGTCTAGGCATGGAGTATGACACTGAGGGAG
 CCATGATGACAAAACCTAGGCTCTGGACTAAGCTTTGACAATTCAGGAGCCATTGTGGTGGGAAACA
 AAAATGATGACAGGCTTACTTTGTGGACCACCCGGACCCATCGCCCAACTGTCAGATTTACTCTG
 AAAAAGATGCTAAACTAACCTTGGTACTGACTAAATGTGGCAGTCAGGTTGTAGGCACAGTATCTA
 TTGCCGCTCTTAAAGGTAGCCTTGTGCCAATCACTAGTGCAATCAGTGTGGTTCAGATATACCTAAG
 GTTTGTATGAAAATGGGGTGCTGATGAGTAACTCTTCACTTAATGGCGAATACTGGAATTTTAGAAA
 CGGAGACTCAACTAATGGCACACCATATACAAACGCAGTGGGTTTTATGCCTAATCTACTGGCCTA
 TCCTAAAGGTCAAACCTACAACCTGCAAAAAGTAACATTGTGAGCCAGGCTACATGAACGGGGACG
 AACTAAACCCATGACATTTACAATCAACTTCAATGGCCTTAGTGAAACAGGGGATACCCCTGTCA
 GTAAATATTCCATGACATTTCTCATGGAGGTGGCCAAATGGAAGCTACATAGGGCACAAATTTGTAA
 CAACTCCTTTACTTTCTCCTACATCGCCAAGAATAAAGAAAGCACAGAGATGCTTGTTTTTGATT
 TCAAAATTGTGTGCTTTTATTTATTTCAAGCTTACAGTATTTCCAGTAGTCATTAGAATAGAGCTT
 AATTAACTGCATGAGAACCCTTCCACATAGCTTAAATTATCACCAGTGCAAAATGGAAAAAATCA
 ACATACCTTTTTATCCAGATATCAAAGAACTCTAGTGGTCAGTTTTTCCCCACCCTCCAGCTCACA
 GAATACACAGTCTTTTCCCCCGGCTGGCTTTAAACAACACTATCTCATTGGTAACAGACATATTTT
 TAGGTGTAATAATCCACACGGTCTCTTGGCGGGCCAAACGCTGGTCTGTGATGTTAATAAACTCCC
 CAGGCAGCTCTTCAAGTTCACGTCGCTGTTCAACTGCTGAAGCGCTCGCGGCTCCGAGCTCGCCTC
 TAGCGAGGCAACCGCACACCCGACTCTTGATCTATAAAGGAGTAGAGTACATAATCCCCATAA
 GAATAGGGCGGTGATGCAGCAACAAGCGCGCAGCAACTCCTGCCGCCCTCTCCGTACGACAG
 GAATGCAACGGGGTGGTGGTCTCCTCCGCGATAATCCGCACCGCTCGCAGCATCAGCATCCTCGTC
 CTCCGGGCACAGCAGCGCATCCTGATCTCACTGAGATCGGCGCAGTAAGTGCAGCACAAACCAA
 GATGTTATTTAAGATCCCACAGTGCAAAGCACTGTACCCAAAGCTCATGGCGGGAAGGACAGCCCC

CACGTGACCATCGTACCAGATCCTCAGGTAAATCAAATGACGACCTCTCATAAACACGCTGGACAT
 ATACATCACCTCCTTGGGCATGAGCTGATTCACCACCTCTCGATACCACAGGCATCGCTGATTAATT
 AAAGACCCCTCGAGCACCATCCTGAACCAGGAAGCCAGCACCTGACCCCCCGCCAGGCACTGCAG
 GGACCCCGGTGAATCGCAGTGGCAGTGAAGACTCCAGCGCTCGTAGCCGTGAACCATAGAGCTGG
 TCATTATATCCACATTTGGCACAACACAGACACACTTTTCATACACTTTTTTCATGATTAGCAGCTCCTC
 TTAGTCAAGACCATATCCCAAGGAATCACCCACTCTTGAATCAAGGTAAATCCACACAGCAGGG
 CAGGCCTCTCACATAACTCACGTTATGCATAGTGAGCGTGTGCAATCTGGAAATACCGGATGATC
 TTCCATCACCGAAGCCCGGTCTCCGTCTCAAAGGGAGGTAACCGTCCCTCGTGTAGGGACAGTG
 GCGGGATAATCGAGATCGTGTGAACGTAGAGTCATGCCAAAGGGAACAGCGGACGTACTCATAT
 TTCTCCAGCAGAACCAAGTGCAGCGCTGGCAGCTATCCCTGCGTCTTCTGTCTCGCCGCTGCCCC
 GCTCGGTGTAGTGTGTAATACAGCCACTCCCTCAGACCGTCAAGGCGTCCCTGGCGTCCGGAT
 STATAACAACACCGTCTGCAGCGCCGCTGATGACATCCACCACCGTAGAGTATGCCAAGCCCA
 GCCACGAAATGCACTACTTTGACAGCGAGAGATGAGGAGCGGGAAGAGATGGAAGAACCAT
 GATAGTAAAAGAAGTTTATTCCAATCGATCCTCTACAATGTCAAAGTGTAGATCTATCAGATGGC
 ACTGGTCTCCTCCGCTGAGTCGATCAAAAATAACAGCTAAACCACAAAACAACAGATTGGTCAAAT
 GCTGCACAAGGGCTTGCAGCATAAAAATCGCCTCGAAAGTCCACCGCAAGCATAACATCAAAGCCA
 CCGCCCTATCATGATCTATGATAAAAACCCACAGCTATCCACCAGACCCATATAGTTTTTCATCTC
 TCCATCGTGAATAAATATTTACAAGCTCCTCCTTTAAATCACCTCCAACCAATTCAAAAAGTTGAG
 CCAGACCGCCCTCCACCTTCATTTTCAGCATGCGCATCATGATTGCAAAAATTCAGGCTCCTCAGAC
 ACCTGTATAAGATTGAGAAGCGGAACGTTAACATCAATGTTTCGCTCGCGAAGATCGCGCCTCAGT
 GCAAGCATGATATAATCCACAGGTCGGAGCGGATCAGCGAGGACATCTCCCCGCCAGGAACCAA
 STCAACGGAGCCTATGCTGATTATAATACGCATATTCGGGGCTATGCTAACCAGCACGGCCCCCAA
 ATAGGCGTACTGCATAGGCGGCGACAAAAGTGAACAGTTTGGGTTAAAAAATCAGGCAAACACT
 CGCGCAAAAAGCAAGAACATCATAACCATGCTCATGCAAATAGATGCAAGTAAGCTCAGGAACG
 ACCACAGAAAATGCACAATTTTTCTCTCAAACATGACTGCGAGCCCTGCAAAAATAAAAAAGA
 AACATTACACAAGAGTAGCCTGTCTTACAATGGGATAGACTACTCTAACCAACATAAGACGGGCCA
 CGACATCGCCCGCTGGCCATAAAAAAATTATCCGTGTGATTA AAAAAGAAGCACAGATAGCTGG
 CCAGTCATATCCGGAGTCATCACGTGCGAACCCGTGTAGACCCCGGGTTGGACACATCGGCCAAA
 CAAAGAAAGCGGCCAATGTATCCCGGAGGAATGATAACACTAAGACGAAGATACAACAGAATAAC
 CCCATGGGGGGGAATAACAAAGTTAGTAGGTGAATAAAAACGATAAACACCCGAAACTCCCTCCT
 GCGTAGGCAAAATAGCGCCCTCCCTTCCAAAACAACATACAGCGCTTCCACAGCAGCCATGACAA
 AAGACTCAAAACACTCAAAAGACTCAGTCTTACCAGGAAAATAAAAAGCACTCTCACAGCACCAGC
 ACTAATCAGAGTGTGAAGAGGGCCAAGTGCCGAACGAGTATATATAGGAATTA AAAATGACGTAA
 ATGTGTAAGGTCAAAAACCGCCAGAAAATACACAGACCAACGCCCCGAAACGAAAACCCGCG
 AAAAAATACCCAGAAGTTCTCAACAACCCACTTCCGCTTTCCACGATACGTCACTTCTCTCAA
 AAATAGCAAACATACATTTCCACATGTAACAAAACCAACCCCTCCCTTGTCCACCGCCACAAC
 TACATAATCACAACGTCAAAGCCTACGTACCCGCCCCGCTCGCCCCGCCACCTCATTATCAT
 ATTTGCCCTCAATCCAAAATAAGGTATATTATTGATGATG

В настоящем описании также предложен рекомбинантный аденовирус шимпанзе, полученный из серотипа 20 (rChAd20), содержащий вектор в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена рекомбинантная модифицированная осповакцина Анкара (rMVA), содержащая вектор в соответствии с настоящим описанием.

Вектор может представлять собой вектор, предназначенный для экспрессии полинуклеотида или гетерологичного полинуклеотида в соответствии с настоящим описанием в любом хозяине, таком как бактерия, дрожжи или млекопитающее. Как правило, приемлемые экспрессионные векторы могут реплицироваться в организмах-хозяевах либо в виде эписом, либо в виде неотъемлемой части хромосомной ДНК хозяина. Обычно экспрессионные векторы содержат селективные маркеры, такие как вызывающие резистентность к ампициллину, резистентность к гигромицину, резистентность к тетрациклину, резистентность к канамицину или резистентность к неомицину, чтобы обеспечивать обнаружение таких клеток, трансформированных или трансдуцированных желаемыми последовательностями ДНК. Примерами векторов являются плазмиды, космиды, фаги, вирусные векторы, транспозоны или искусственные хромосомы.

Векторы в соответствии с настоящим описанием могут быть кольцевыми или линейными. Они могут быть получены с возможностью наличия системы репликации, функционирующей в прокариотической или эукариотической клетке-хозяине. Системы репликации могут быть получены, например, из ColE1, SV40, 2μ плазмиды, λ, вируса бычьей папилломы и т.п.

Рекомбинантные экспрессионные векторы могут быть сконструированы либо для временной экспрессии, либо для стабильной экспрессии, либо для обоих. Кроме того, рекомбинантные экспрессионные векторы могут быть получены для конститутивной экспрессии или для индуцируемой экспрессии.

Кроме того, рекомбинантные экспрессионные векторы могут быть сконструированы так, чтобы включать ген-самоубийцу. Термин "ген-самоубийца" относится к гену, который вызывает гибель клетки,

экспрессирующей ген-самоубийцу. Ген-самоубийца может представлять собой ген, который придает чувствительность агенту, например, лекарственному средству, на клетке, в которой экспрессируется ген, и вызывает гибель клетки, когда клетка находится в контакте с агентом или подвергается воздействию этого агента. Гены-самоубийцы известны в данной области и включают, например, ген тимидинкиназы (TK) вируса простого герпеса (HSV), цитозиндезаминазу, пуриин-нуклеозидфосфорилазу и нитроредуктазу.

Векторы могут также содержать селективные маркеры, хорошо известные в данной области. Селективные маркеры включают в себя маркер положительной и отрицательной селекции. Маркерные гены включают в себя резистентность к биоцидам, например резистентность к антибиотикам, тяжелым металлам и т.д., комплементацию в аукоотрофном хозяине для обеспечения прототрофности и т.п. Примеры маркерных генов включают в себя гены резистентности к антибиотикам (например, ген резистентности к неомицину, ген резистентности к гигромицину, ген резистентности к канамицину, ген резистентности к тетрациклину, ген резистентности к пенициллину, ген резистентности к гистидинолу, ген резистентности к гистидинолу х), гены глутамин синтазы, HSV-TK, производные HSV-TK для ганцикловирной селекции или ген бактериальной пурииннуклеозидфосфорилазы для селекции по 6-метилпурину (Gadi et al., 7 Gene Ther. 1738-1743 (2000)). Нуклеотидная последовательность, кодирующая селективный маркер или сайт клонирования, может располагаться выше или ниже нуклеотидной последовательности, кодирующей интересующий полипептид или сайт клонирования.

Известны подходящие векторы; многие из них коммерчески доступны для создания рекомбинантных конструкторов. Следующие векторы представлены в качестве примера. Бактериальные: pBs, phagescript, PsiX174, pBluescript SK, pBs KS, pNH8a, pNH16a, pNH18a, pNH46a (Stratagene, Ла-Холья, г. Сан-Диего, штат Калифорния, США); pTrc99A, pKK223-3, pKK233-3, pDR540 и pRIT5 (Pharmacia, г. Уппсала, Швеция). Эукариотические: pWLneo, pSV2cat, pOG44, PXR1, pSG (Stratagene), pSVK3, pBPV, pMSG and pSVL (Pharmacia). Транспозоновые векторы: Транспозон "Спящая красавица" сна и транспозон PiggyBac.

В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой вирусный вектор. Вирусные векторы получают из вирусных геномов природного происхождения, которые, как правило, модифицируют так, чтобы они были не способны к репликации, т.е. не реплицировались. Нереплицирующимся вирусам необходимо предоставление белков в транс-конфигурации для репликации. Как правило, эти белки стабильно или временно экспрессируются в линии вирусных продуцирующих клеток, тем самым допуская репликацию вируса. Таким образом, вирусные векторы являются, как правило, инфекционными и нереплицирующимися. Вирусные векторы могут представлять собой аденовирусные векторы, векторы на основе адено-ассоциированного вируса (AAV) (например, AAV 5-го типа и 2-го типа), альфавирусные векторы (например, вирус венесуэльского лошадиного энцефалита (VEE), вирус Синдбис (SIN), вирус леса Семлики (SFV) и химеры VEE-SIN), векторы на основе вируса герпеса (например, векторы, полученные из цитомегаловирусов, таких как цитомегаловирус резуса (RhCMV)), векторы на основе аренавируса (например, векторы на основе вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV)), векторы на основе вируса кори, векторы на основе поксвируса (например, вирус осповакцины, модифицированный вирус осповакцины Анкара (MVA), NYVAC (производное от штамма осповакцины Копенгаген) и векторы на основе авипоксвируса: векторы на основе каннарипокса (ALVAC) и вируса оспы кур (FPV)), векторы на основе вируса везикулярного стоматита, ретровирусные векторы, лентивирусные векторы, вирусоподобные частицы, бакуловирусные векторы и бактериальные споры.

Аденовирусные векторы

Аденовирусные векторы могут быть получены из аденовируса человека (Ad), а также из аденовирусов, которые инфицируют другие виды, такие как бычий аденовирус (например, бычий аденовирус 3, BAdV3), аденовирус собаки (например, CAdV2), аденовирус свиньи (например, PAdV3 или 5) или аденовирус человекообразных обезьян, таких как шимпанзе (Pan), горилла (Gorilla), орангутан (Pongo), бонобо (Pan paniscus) и обычный шимпанзе (Pan troglodytes). Как правило, аденовирусы человекообразных обезьян природного происхождения выделяют из образцов кала соответствующих человекообразных обезьян.

Векторы на основе аденовируса человека могут быть получены из различных аденовирусных серотипов, например, из серотипов аденовируса человека hAd5, hAd7, hAd11, hAd26, hAd34, hAd35, hAd48, hAd49 или hAd50 (серотипы также обозначены как Ad5, Ad7, Ad11, Ad26, Ad34, Ad35, Ad48, Ad49 или Ad50).

Векторы на основе аденовирусов человекообразных обезьян могут быть получены из различных аденовирусных серотипов, например из серотипов аденовируса человекообразных обезьян GAd20, Gad19, GAd21, GAd25, GAd26, GAd27, GAd28, GAd29, GAd30, GAd31, ChAd3, ChAd4, ChAd5, ChAd6, ChAd7, ChAd8, ChAd9, ChAd10, ChAd11, ChAd16, ChAd17, ChAd19, ChAd20, ChAd22, ChAd24, ChAd26, ChAd30, ChAd31, ChAd37, ChAd38, ChAd44, ChAd55, ChAd63, ChAd73, ChAd82, ChAd83, ChAd146, ChAd147, PanAd1, PanAd2 или PanAd3.

Аденовирусные векторы известны в данной области. Последовательности большинства

человеческих и не относящихся к человеку аденовирусов известны, а другие могут быть получены с помощью стандартных процедур. Пример геномной последовательности Ad26 представлен в каталоге GenBank Accession под № EF153474 и под SEQ ID NO: 1 в международной патентной публикации № WO 2007/104792. Пример геномной последовательности Ad35 представлен на фиг. 6 в международной патентной публикации № WO 2000/70071. Векторы на основе Ad26 описаны, например, в международной патентной публикации № WO 2007/104792. Векторы на основе Ad35 описаны, например, в патенте США № 7270811 и международной патентной публикации № WO2000/70071. Векторы на основе ChAd3, ChAd4, ChAd5, ChAd6, ChAd7, ChAd8, ChAd9, ChAd10, ChAd11, ChAd16, ChAd17, ChAd19, ChAd20, ChAd22, ChAd24, ChAd26, ChAd30, ChAd31, ChAd37, ChAd38, ChAd44, ChAd63 и ChAd82 описаны в WO2005/071093. Векторы на основе PanAd1, PanAd2, PanAd3, ChAd55, ChAd73, ChAd83, ChAd146 и ChAd147 описаны в международной патентной публикации № WO 2010/086189.

Аденовирусные векторы конструируют так, чтобы они включали по меньшей мере одну функциональную делецию или полное удаление продукта гена, необходимого для репликации вируса, такого как одна или более аденовирусных областей E1, E2 и E4, тем самым делая аденовирус неспособным к репликации. Делеция области E1 может содержать делеции E1A, E1B 55K, E1B 21K или любой их комбинации. Аденовирусы с недостаточной репликацией размножают путем получения белков, кодируемых удаленной(ыми) областью(ями), транс-продуцирующими клетками с использованием плазмид хелперов или конструирования продуцирующей клетки для экспрессии необходимых белков. Аденовирусные векторы также могут иметь делецию в области E3, которая является несущественной для репликации, и, следовательно, такая делеция не обязательно должна быть дополненной. Аденовирусный вектор в соответствии с настоящим описанием может содержать функциональную делецию или полное удаление области E1 и по меньшей мере части области E3. Аденовирусный вектор в соответствии с настоящим описанием может дополнительно содержать функциональную делецию или полное удаление области E4 и/или области E2. Подходящими для использования продуцирующими клетками являются клетки сетчатки человека иммортализованные E1, например, клетки 911 или PER.C6 (см., например, патент США № 5994128), преобразованные E1 амниоциты (см., например, EP 1230354), E1-преобразованные клетки A549 (см., например, международную патентную публикацию № WO 1998/39411, патент США № 5891690); примерами векторов, которые могут быть использованы, являются Ad26, содержащие функциональную кодирующую область E1, достаточную для репликации вируса, делецию в кодирующей области E3 и делецию в кодирующей области E4, при условии, что открытая рамка считывания 6/7 E4 не удалена (см., например, патент США № 9750801).

В некоторых вариантах осуществления аденовирусный вектор представляет собой вектор аденовируса человека (Ad). В некоторых вариантах осуществления вектор Ad получают из Ad5. В некоторых вариантах осуществления вектор Ad получают из Ad11. В некоторых вариантах осуществления вектор Ad получают из Ad26. В некоторых вариантах осуществления вектор Ad получают из Ad34. В некоторых вариантах осуществления вектор Ad получают из Ad35. В некоторых вариантах осуществления вектор Ad получают из Ad48. В некоторых вариантах осуществления вектор Ad получают из Ad49. В некоторых вариантах осуществления вектор Ad получают из Ad50.

В некоторых вариантах осуществления аденовирусный вектор представляет собой вектор аденовируса человекообразных обезьян (GAd). В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из GAd20. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из GAd19. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из GAd21. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из GAd25. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из GAd26. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из GAd27. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из GAd28. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из GAd29. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из GAd30. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из GAd31. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd4. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd5. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd6. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd7. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd8. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd9. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd20. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd22. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd24. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd26. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd30. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd31. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd32. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd33. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd37. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd38. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd44. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd55. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd

получают из ChAd63. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd68. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd73. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd82. В некоторых вариантах осуществления вектор GAd получают из ChAd83.

Полипептид или гетерологичный полипептид в соответствии с настоящим описанием может быть вставлен в сайт или область (область вставки) вектора, которые не влияют на вирусную жизнеспособность полученного рекомбинантного вируса. Полипептид или гетерологичный полипептид в соответствии с настоящим описанием может быть вставлен в удаленную область E1 в параллельной (транскрибированной от 5' к 3') или антипараллельной (транскрибированной в направлении от 3' к 5' относительно основной цепи вектора) ориентации. Кроме того, соответствующие регуляторные элементы транскрипции, которые способны направлять экспрессию полипептида или гетерологичного полипептида в соответствии с настоящим описанием в клетках-хозяевах млекопитающих, для применения которых получен вектор, могут быть функционально связаны с полипептидом или гетерологичным полипептидом настоящего описания. "Оперативно связанные" последовательности включают в себя как последовательности управления экспрессией, которые примыкают к нуклеотидным последовательностям, которые они регулируют, так и регуляторные последовательности, которые действуют в транс-конфигурации или на расстоянии, позволяющем управлять регулируемой нуклеотидной последовательностью.

Рекомбинантные аденовирусные частицы могут быть получены и размножены в соответствии с любой общепринятой методикой в данной области техники (например, международная патентная публикация № WO 1996/17070) с использованием комплементарной клеточной линии или вируса хелперов, который поставляет в транс-конфигурации отсутствующие вирусные гены, необходимые для репликации вируса. Клеточные линии 293 (Graham et al., 1977, J. Gen. Virol. 36: 59-72), PER.C6 (см., например, патент США № 5994128), E1 A549 и 911 обычно применяют для дополнения делеций E1. Были созданы другие клеточные линии, комплементарные дефектным векторам (Yeh, et al., 1996, J. Virol. 70: 559-565; Kroughak and Graham, 1995, Human Gene Ther. 6: 1575-1586). Wang, et al., 1995, Gene Ther. 2: 775-783; Lusky, et al., 1998, J. Virol. 72: 2022-203; EP 919627 и международная патентная публикация № WO 1997/04119). Аденовирусные частицы могут быть выделены из супернатанта культуры, а также из клеток после лизиса и при необходимости дополнительно очищены в соответствии со стандартными методиками (например, хроматография, ультрацентрифугирование, как описано в международной патентной публикации № WO 1996/27677, международной патентной публикации № WO 1998/00524, международной патентной публикации № WO 1998/26048 и в международной патентной публикации № WO 2000/50573). Конструирование и способы размножения аденовирусных векторов также описаны, например, в патенте США № 5559099, 5837511, 5846782, 5851806, 5994106, 5994128, 5965541, 5981225, 6040174, 6020191 и 6113913.

Поксвирусные векторы

Поксвирусные (Poxviridae) векторы могут быть получены из вируса натуральной оспы (вариолы), вируса осповакцины, вируса коровьей оспы или вируса оспы обезьян. Примерами вирусов осповакцины являются вирус осповакцины Копенгаген (W), аттенуированный вирус осповакцины Нью-Йорк (NYVAC), ALVAC, TROVAC и модифицированный вирус осповакцины Анкара (MVA).

MVA происходит из кожного штамма осповакцины Анкара (вирус хориоалантоисной осповакцины Анкара (CVA)), который сохранялся в Институте вакцинации, Анкара, Турция многие годы и использовался в качестве основы для вакцинации людей. Однако в связи с часто серьезными поствакцинальными осложнениями, связанными с вирусами осповакцины (VACV), предпринималось несколько попыток получить более ослабленную, более безопасную вакцину против вируса натуральной оспы.

MVA получали с помощью 516 последовательных пассажей на фибробластах куриного эмбриона вируса CVA (см. Meyer et al., J. Gen. Virol., 72: 1031-1038 (1991) и патент США № 10,035,832). Вследствие этих длительных пассажей полученный вирус MVA удалил около 31 т. п. н. из геномной последовательности и, следовательно, описывался как высоко рестриктированный к птичьим клеткам (Meyer, H. et al., Mapping of deletions in the genome of the highly attenuated vaccinia virus MVA and their influence on virulence, J. Gen. Virol. 72, 1031-1038, 1991; Meisinger-Henschel et al., Genomic sequence of chorioallantois vaccinia virus Ankara, the ancestor of modified vaccinia virus Ankara, J. Gen. Virol. 88, 3249-3259, 2007). Сравнение генома MVA с его родительским геномом (CVA) позволило выявить 6 основных делеций геномной ДНК (делеции I, II, III, IV, V и VI) с полным количеством пар оснований 31,000. (Meyer et al., J. Gen. Virol. 72:1031-8 (1991)). В различных моделях на животных было показано, что полученный в результате MVA был в значительной степени невирулентный (Mayr, A. & Danner, K. Vaccination against pox diseases under immunosuppressive conditions, Dev. Biol. Stand. 41: 225-34, 1978). Поскольку для ослабления MVA использовали множество пассажей, существует ряд различных штаммов или изолятов в зависимости от числа пассажей в клетках CEF, таких как MVA 476 MG/14/78, MVA-571, MVA-572, MVA-574, MVA-575 и MVA-BN. MVA 476 MG/14/78 описан, например, в международной патентной публикации № WO 2019/115816A1. Штамм MVA-572 депонирован в Европейской коллекции

культур клеток животных ("ECACC"), Агентство по защите здоровья, Отдел микробиологии, Porton Down, Salisbury SP4 0JG, United Kingdom (Великобритания), под номером депонирования ECACC 94012707 от 27 января 1994 г. Штамм MVA-575 депонирован в ECACC под номером депонирования ECACC 00120707 от 7 декабря 2000 г.; Штамм MVA-Bavarian Nordic (MVA-BN) депонирован в ECACC под номером депонирования V00080038 от 30 августа 2000 г. Геномные последовательности MVA-BN и MVA-572 доступны в GenBank (учетные номера DQ983238 и DQ983237 соответственно). Геномные последовательности других штаммов MVA могут быть получены с использованием стандартных способов секвенирования.

Векторы и вирусы в соответствии с настоящим описанием могут быть получены из любого штамма MVA или дополнительных производных штамма MVA. Дополнительным примером штамма MVA является депонированный VR-1508, депонированный в Американской коллекции типовых культур (ATCC), г. Манассас, штат Вирджиния. 20108, США.

Термин "производные" MVA относится к вирусам, показывающим по существу такие же характеристики, как и у исходного MVA, но показывающим различия в одной или более частях их геномов.

В некоторых вариантах осуществления вектор MVA получают из MVA 476 MG/14/78. В некоторых вариантах осуществления вектор MVA получают из MVA-571. В некоторых вариантах осуществления вектор MVA получают из MVA-572. В некоторых вариантах осуществления вектор MVA получают из MVA-574. В некоторых вариантах осуществления вектор MVA получают из MVA-575. В некоторых вариантах осуществления вектор MVA получают из MVA-BN.

Полинуклеотид или гетерологичный полинуклеотид в соответствии с настоящим описанием может быть вставлен в сайт или область (область вставки) вектора MVA, которые не влияют на вирусную жизнеспособность полученного рекомбинантного вируса. Такие области можно легко идентифицировать путем тестирования сегментов вирусной ДНК на области, которые обеспечивают рекомбинантное образование, не оказывая существенного влияния на вирусную жизнеспособность рекомбинантного вируса. Ген тимидинкиназы (ТК) представляет собой область вставки, которая может применяться и присутствовать во многих вирусах, например во всех исследованных геномах поксвирусов. Кроме того, MVA содержит 6 сайтов естественной делеции, каждый из которых может быть использован в качестве мест вставки (например, делеция I, II, III, IV, V и VI; см., например, патент США № 5185146 и патент США № 6440442. В качестве места вставки можно также использовать одну или более межгенных областей (IGR) MVA, таких как IGR IGR07/08, IGR 44/45, IGR 64/65, IGR 88/89, IGR 136/137 и IGR 148/149 (см., например, патентные публикации США № 2018/0064803). Дополнительные подходящие места вставки описаны в международной патентной публикации № WO 2005/048957.

Рекомбинантные поксвирусные частицы, такие как гMVA, получают, как описано в данной области (Piccini, et al., 1987, *Methods of Enzymology* 153: 545-563; патент США № 4769330; патент США № 4772848; патент США № 4603112; патент США № 5100587 и патент США № 5179993). В примере способа последовательности ДНК для вставки в вирус может быть помещена в конструктор плазмиды *E. coli*, в который была вставлена ДНК, гомологичная участку ДНК MVA. Отдельно вставляемую последовательность ДНК может быть лигирована с промотором. Связь промотор-ген может быть расположена в конструкторе плазмиды так, чтобы связь промотор-ген фланкировалась с обоих концов ДНК, гомологичной последовательности ДНК, фланкирующей область ДНК MVA, содержащую несущественный локус. Полученный в результате конструктор плазмиды может быть амплифицирован путем размножения внутри бактерий *E. coli* и выделен. Выделенная плазида, содержащая вставляемую последовательность гена ДНК, может быть трансфицирована в клеточную культуру, например фибробластов куриного эмбриона (CEF), одновременно с инфицированием культуры MVA. Рекомбинация между гомологичной ДНК MVA в плазмиде и вирусным геномом соответственно может генерировать MVA, модифицированный посредством присутствия чужеродных последовательностей ДНК. частицы гMVA могут быть выделены из супернатанта культуры или из культивируемых клеток после этапа лизиса (например, химический лизис, замораживание/размораживание, осмотический шок, обработка ультразвуком и т.п.). Для удаления загрязняющего вируса дикого типа можно использовать последовательные циклы очистки бляшкообразования. Затем вирусные частицы могут быть очищены с помощью методик, известных специалистам в данной области (например, хроматографические способы или ультрацентрифугирование на хлориде цезия или градиенте сахарозы).

Другие вирусные векторы и рекомбинантные вирусы

Другие вирусные векторы включают векторы, полученные из человеческих аденоассоциированных вирусов, таких как AAV-2 (аденоассоциированный вирус типа 2). Привлекательной особенностью AAV векторов является то, что они не экспрессируют каких-либо вирусных генов. Единственными вирусными последовательностями ДНК, включенными в AAV векторы, являются инвертированные концевые повторы (ITR) длиной 145 п. н. Таким образом, как и при иммунизации депротенизированной ДНК, единственным экспрессируемым геном является ген антигена или химерного антигена. Кроме того, известно, что AAV векторы трансдуцируют как делящиеся, так и не делящиеся клетки, такие как дендритные клетки, полученные из моноцитов периферической крови человека, со стойкой экспрессией

трансгена, а также с возможностью перорального и интраназального введения для создания иммунитета слизистых оболочек. Более того, необходимое количество ДНК, по-видимому, намного меньше на несколько порядков величины, с максимальными ответами при дозах от 10^{10} до 10^{11} частиц или копий ДНК в отличие от доз в 50 мкг или приблизительно 10^{15} копий депротенизированной ДНК. AAV векторы упаковывают путем совместной трансфекции подходящей клеточной линии (например, человеческие клетки 293) ДНК, содержащейся в конструктах, кодирующих химерный белок AAV ITR, и хелперной плазмиды AAV ACG2, содержащей кодирующую область AAV (гены AAV *rep* и *cap*) без ITR. Затем клетки инфицируют аденовирусом Ad5. Векторы могут быть очищены от клеточных лизатов с помощью способов, известных в данной области (например, такого как ультрацентрифугирование в градиенте плотности хлористого цезия), и проверены на отсутствие выявляемых репликационно-компетентных AAV или аденовирусов (например, с помощью биоанализа цитопатического эффекта).

Также можно применять ретровирусные векторы. Ретровирусы представляют собой класс интегративных вирусов, которые реплицируются с использованием кодируемой вирусом обратной транскриптазы для репликации вирусного РНК-генома в двухцепочечную ДНК, интегрированную в хромосомную ДНК инфицированных клеток (например, клетки-мишени). Такие векторы включают векторы, полученные из вирусов мышинного лейкоза, особенно Moloney (Gilboa, et al., 1988, Adv. Exp. Med. Biol. 241: 29) или штаммы Friend FB29 (международная патентная публикация № WO 1995/01447). Как правило, ретровирусный вектор лишен всех или части вирусных генов *gag*, *pol* и *env* и сохраняет 5' и 3' LTR и последовательность капсидирования. Эти элементы могут быть модифицированы для повышения уровня экспрессии или стабильности ретровирусного вектора. Такие модификации включают замену ретровирусной последовательности капсидирования одним из ретротранспозонов, таких как VL30 (см., например, патент США № 5747323). Полинуклеотиды в соответствии с настоящим описанием могут быть вставлены ближе к 3'-концу от последовательности капсидирования, например, в противоположном направлении относительно ретровирусного генома. Ретровирусные частицы получают в присутствии вируса хелпера или в соответствующей дополнительной (упаковочной) клеточной линии, которая содержит интегрированные в ее геном ретровирусные гены, для которых ретровирусный вектор является дефектным (например, *gag/pol* и *env*). Такие клеточные линии описаны в известном уровне техники (Miller and Rosman, 1989, BioTechniques 7: 980; Danos and Mulligan, 1988, Proc. Natl. Acad. Sci. ПРИМЕР 85 6460; Marowitz, et al., 1988, Virol. 167: 400). Продукт гена *env* отвечает за связывание вирусной частицы с вирусными рецепторами, присутствующими на поверхности клетки-мишени, и, таким образом, определяет диапазон хозяев ретровирусной частицы. Таким образом, упаковочную линию клеток, такую как клетки PA317 (ATCC CRL 9078) или 293E16 (WO 97/35996), содержащие амфотропный белок оболочки, можно использовать для инфицирования человеческих и других видов клеток-мишеней. Ретровирусные частицы выделяют из супернатанта культуры и могут необязательно дополнительно очищать в соответствии со стандартными методиками (например, хроматография, ультрацентрифугирование).

Регуляторные элементы

Полинуклеотид или гетерологичный полинуклеотид в соответствии с настоящим описанием может быть функционально связан с одним или более регуляторными элементами в векторе. Регуляторные элементы могут содержать промоторы, энхансеры, сигналы полиаденилирования, репрессоры и т.п.

Некоторые из широко используемых энхансерных и промоторных последовательностей в экспрессионных векторах и вирусных векторах представляют собой, например, промоторы человеческого цитомегаловируса (hCMV), ранний/поздний промотор осповакцины P7.5, CAG, SV40, мышинного CMV (mCMV), EF-1 и hPGK. Благодаря своей высокой эффективности и умеренному размеру приблизительно 0,8 т.п.н. промотор hCMV представляет собой один из наиболее часто используемых промоторов. Промотор hPGK характеризуется малым размером (прибл. 0,4 т.п.н.), но он менее эффективен, чем промотор hCMV. С другой стороны, промотор CAG, состоящий из элемента раннего энхансера цитомегаловируса, промотора, первого экзона и интрона гена бета-актина курицы и акцептора сплайсинга гена бета-глобулина кролика, может направлять очень сильную экспрессию гена, сопоставимую с промотором hCMV, но его большой размер делает его менее подходящим для вирусных векторов, где ограничения пространства могут быть важными проблемами, например, для аденовирусных векторов (AdV), аденоассоциированных вирусных векторов (AAV) или лентивирусных векторов (LV).

Дополнительными промоторами, которые могут быть использованы, являются основной немедленно-ранний промотор Aotine Herpesvirus 1 (промотор AoHV-1), описанный в международной патентной публикации № WO 2018/146205. Промотор может быть функционально связан с последовательностью репрессорного оператора, с которой может связываться репрессорный белок, чтобы подавлять экспрессию промотора в присутствии репрессорного белка. В некоторых вариантах осуществления последовательность репрессорного оператора представляет собой последовательность TetO или последовательность CuO (см., например, US 9790256).

В некоторых случаях может быть желательно экспрессировать по меньшей мере два отдельных полипептида из одного вектора. В данном случае каждый полинуклеотид может быть функционально

связан с одной и той же или разными промоторными и/или энхансерными последовательностями, или можно использовать хорошо известные бицистронные экспрессионные системы, например, с использованием внутреннего сайта посадки рибосом (IRES) из вируса энцефаломиокардита. Альтернативно можно использовать двунаправленные синтетические промоторы, такие как промотор hCMV-rhCMV и другие промоторы, описанные в международной патентной публикации № WO 2017/220499.

Сигналы полиаденилирования могут быть получены из SV40 или бычьего гормона роста (BGH).

Векторы в соответствии с настоящим описанием могут быть получены с использованием известных методик.

Примеры регуляторных элементов, которые могут быть включены в вектор, содержат ранний/поздний промотор осповакцины P7.5 (SEQ ID NO: 630), TetOCMV промотор (SEQ ID NO: 628), полиаденильный сайт BGH (SEQ ID NO: 629), Т-клеточный энхансер (SEQ ID NO: 546).

В настоящем описании также предложен выделенный вирусный вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 и 447, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор содержит гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457 и 458, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен выделенный вирусный вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор содержит гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 276, 382, 334, 338, 270, 254, 310, 326, 272, 306, 252, 246, 262, 266, 318, 256, 278, 298, 286, 448, 450, 453, 455, 380, 344, 212, 350, 214, 216, 222, 220, 226, 346, 354, 236, 224, 168, 172, 20, 24 и 178, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор содержит гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498 и 499.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор содержит гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 и 540.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой аденовирусный вектор.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получают из аденовируса человека.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получают из Ad26.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получают из аденовируса человекообразных обезьян.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получают из GAd20.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получают из ChAd20.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой поксвирусный вектор.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получают из модифицированного вируса осповакцины Анкара (MVA).

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получают из GAd19.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получают из GAd21.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получают из GAd25.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получают из GAd26.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получают из GAd27.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получают из GAd28.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получают из GAd29.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получают из GAd30.

В некоторых вариантах реализации вирусный вектор получен из GAd31.

В настоящем описании также предложен серотип 26 рекомбинантного аденовируса человека (rAd26), содержащий вирусный вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептида, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 и 447, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления rAd26 содержит вирусный вектор, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457 и 458, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен rAd26, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления rAd26 содержит гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 276, 382, 334, 338, 270, 254, 310, 326, 272, 306, 252, 246, 262, 266, 318, 256, 278, 298, 286, 448, 450, 453, 455, 380, 344, 212, 350, 214, 216, 222, 220, 226, 346, 354, 236, 224, 168, 172, 20, 24 и 178, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления rAd26 содержит гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498 и 499, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления rAd26 содержит гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 и 540, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен рекомбинантный аденовирус человекообразных обезьян (rGAd), содержащий вирусный вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281,

283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 и 447, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления gGAd содержит вирусный вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457 и 458, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен gGAd, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления gGAd содержит гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 276, 382, 334, 338, 270, 254, 310, 326, 272, 306, 252, 246, 262, 266, 318, 256, 278, 298, 286, 448, 450, 453, 455, 380, 344, 212, 350, 214, 216, 222, 220, 226, 346, 354, 236, 224, 168, 172, 20, 24 и 178, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления gGAd содержит гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498 и 499, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления gGAd содержит гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 и 540, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен рекомбинантный модифицированный вирус осповакцины Анкара (гMVA), содержащий вирусный вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептида, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 и 447, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления гMVA содержит вирусный вектор, содержащий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168, 170, 172, 174, 176, 178, 180, 182, 184, 186, 188, 190, 192, 194, 196, 198, 200, 202, 204, 206, 208, 210, 212, 214, 216, 218, 220, 222, 224, 226, 228, 230, 232, 234, 236, 238, 240, 242, 244, 246, 248, 250, 252, 254, 256, 258, 260, 262, 264, 266, 268, 270, 272, 274, 276, 278, 280, 282, 284, 286, 288, 290, 292, 294, 296, 298, 300, 302, 304, 306, 308, 310, 312, 314, 316, 318, 320, 322, 324, 326, 328, 330, 332, 334, 336, 338, 340, 342, 344, 346, 348, 350, 352, 354, 356, 358, 360, 362, 364, 366, 368, 370, 372, 374, 376, 380, 382, 384, 386, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457 и 458, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен гMVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептида, выбранных из

группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления гMVA содержит гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 276, 382, 334, 338, 270, 254, 310, 326, 272, 306, 252, 246, 262, 266, 318, 256, 278, 298, 286, 448, 450, 453, 455, 380, 344, 212, 350, 214, 216, 222, 220, 226, 346, 354, 236, 224, 168, 172, 20, 24 и 178, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления гMVA содержит гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498 и 499, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления гMVA содержит гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 и 540, а также их фрагментов.

Клетки в соответствии с настоящим описанием

В настоящем описании также предложена клетка, содержащая или трансдуцированная одним или более векторами в соответствии с настоящим описанием или одним или более рекомбинантными вирусами в соответствии с настоящим описанием. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой клетку-хозяина..

Подходящие клетки включают прокариотические и эукариотические клетки, например, клетки млекопитающих, дрожжи, грибы и бактерии (такие как *E. coli*), такие как Нек 293, CHO, PER.C6, PER.C6 TetO или эмбриональные фибробласты курицы (CEF). Клетка может быть использована *in vitro*, например, для исследования или продукции полипептидов или вирусов, или клетка может быть использована *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой мышечную клетку. В некоторых вариантах осуществления клетка представляет собой антигенпредставляющую клетку (АПК). Подходящие антигенпредставляющие клетки включают дендритные клетки, В-лимфоциты, моноциты и макрофаги.

Термины "трансдуцированный", "трансформированный" или "трансфицированный" относятся к введению полинуклеотидов, гетерологичных полинуклеотидов или векторов в соответствии с настоящим описанием внутрь клетки. Введенный полинуклеотид может быть интегрирован или не интегрирован в хромосомную ДНК, составляющую геном клетки. Термин "клетка" относится к исходной клетке и любому потомству или клональной клеточной линии, полученной из исходной клетки.

Клетки, трансфицированные полинуклеотидами или векторами в соответствии с настоящим описанием, как правило, могут быть получены из хранилищ клеточных культур, таких как АТСС. АПК могут быть получены из периферической крови при помощи лейкофереза и центрифугирования в градиенте плотности "FICOLL/HYPAQUE" (поэтапное центрифугирование при помощи Ficoll и дисперсных градиентов плотности Percoll). АПК могут быть выделены, культивированы и сконструированы с использованием известных способов. Например, незрелые и зрелые дендритные клетки можно получить из мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) с использованием известных способов. В примере способа выделенные PBMC предварительно обрабатывают для истощения Т- и В-клеток с помощью иммуномагнитной методики. Обедненные лимфоцитами PBMC затем культивируют в среде RPMI 9 например, приблизительно 7 дней) с добавлением человеческой плазмы (предпочтительно аутологичной плазмы) и GM-CSF/IL-4 с получением дендритных клеток. Дендритные клетки являются неадгезивными по сравнению с их моноцитарными клетками-предшественниками. Таким образом, примерно на 7 день неприкрепившиеся клетки собираются для дальнейшей обработки. Дендритные клетки, полученные из ПКМК в присутствии GM-CSF и IL-4, являются незрелыми, поскольку они могут утратить неадгезивное свойство и вернуться к судьбе макрофагов клеток при удалении стимулов цитокинов из культуры. Дендритные клетки в незрелом состоянии эффективны в процессинге нативных белковых антигенов для ограниченного пути MHC класса II (Romani, et al., J. Exp. Med. 169: 1169, 1989). Дальнейшее созревание культивированных дендритных клеток достигается путем культивирования в течение 3 дней в кондиционированной макрофагами среде (CM), которая содержит необходимые факторы созревания. Зрелые дендритные клетки менее способны захватывать новые белки для представления, но гораздо лучше стимулируют рост и дифференциацию покоящихся Т-клеток (как CD4, так и CD8). Зрелые дендритные клетки могут быть выявлены по их изменению морфологии, такому как образование более подвижных цитоплазматических отростков; благодаря отсутствию их адгезии; благодаря присутствию по крайней мере одного из последующих маркеров: CD83, CD68, HLA-DR или CD86; или в результате потери Fc-рецепторов, таких как CD115 (обзор в публикации Steinman, Annu. Rev. Immunol. 9: 271, 1991). Зрелые дендритные клетки могут быть собраны и проанализированы с использованием типичных методов и приборов цитофлюорографии и сортировки клеток, таких как FACSscan и FACStar. Первичные антитела, используемые для проточной цитометрии, являются специфичными к антигенам клеточной поверхности зрелых дендритных клеток и

доступны в продаже. Вторичные антитела могут представлять собой биотинилированные Ig с последующим добавлением стрептавидина, конъюгированного с FITC или PE. Векторы и рекомбинантные вирусы в соответствии с настоящим описанием можно вводить в клетки, включая АПК, с использованием способов, известных в данной области, включая, без ограничений, трансфекцию, электропорацию, слияние, микроинъекцию, доставку на основе вируса или доставку на основе клеток.

Вакцины и фармацевтические композиции в соответствии с настоящим описанием

Полипептиды или гетерологичные полипептиды, или их фрагменты, или кодирующие их полинуклеотиды могут быть доставлены субъекту с использованием любого известного средства доставки, подходящего для введения субъекту. Ожидается, что полипептиды, гетерологичные полипептиды или их фрагменты будут иммуногенными у субъекта независимо от используемого средства доставки. Ожидается, что различные вирусные штаммы будут одинаково эффективны для опосредования доставки полипептидов или гетерологичных полипептидов у человеческих индивидов и, следовательно, могут быть взаимозаменяемыми. Например, ожидается, что различные штаммы MVA, описанные в настоящем документе, будут в равной степени эффективными в усилении иммунных ответов против антигенов, кодируемых одной и той же трансгенной кассетой. Аналогично ожидается, что различные аденовирусные штаммы будут взаимозаменяемыми без каких-либо изменений или с минимальными изменениями их способности усиливать иммунные ответы против антигенов, кодируемых одной и той же трансгенной кассетой. Полинуклеотид может представлять собой ДНК, или РНК, или их производные. РНК может быть представлена в виде олигонуклеотидной РНК, тРНК (транспортной РНК), мРНК (малой ядерной РНК), рРНК (рибосомальной РНК), мРНК (матричной РНК), антисмысловой РНК, миРНК (малая интерферирующая РНК), самореплицирующейся РНК, рибозимов, химерных последовательностей или производных этих групп.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая полинуклеотид в соответствии с настоящим описанием.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой ДНК.

В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой РНК.

В некоторых вариантах осуществления РНК представляет собой мРНК или самореплицирующуюся РНК.

В некоторых вариантах осуществления РНК представляет собой самореплицирующуюся РНК.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид в соответствии с настоящим описанием.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид представляет собой ДНК.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид представляет собой РНК.

В некоторых вариантах осуществления РНК представляет собой мРНК или самореплицирующуюся РНК.

В некоторых вариантах осуществления РНК представляет собой самореплицирующуюся РНК.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая полипептид в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полипептид в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая вектор в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гAd26 в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гMVA в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гGAd в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гGAd20 в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая ChAd20 в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая клетку в соответствии с настоящим описанием.

Получение вакцинных композиций хорошо известно. Вакцины могут содержать или могут входить в состав фармацевтической композиции, содержащей вакцину и фармацевтически приемлемый эксципиент. Термин "фармацевтически приемлемый" относится к эксципиенту, который в применяемых дозах и концентрациях не вызовет нежелательных или вредных эффектов у субъектов, которым его вводят, и включает в себя носитель, буферы, стабилизаторы и другие материалы, хорошо известные специалистам в данной области. Определенные свойства носителя или другого материала могут зависеть от пути введения, например, внутримышечным, подкожным, пероральным, внутривенным, кожным, интрамукозальным (например, в слизистую кишечника), интраназальным или внутривентральным путем.

Могут быть включены жидкие носители, такие как вода, керосин, животные или растительные масла, минеральное масло или синтетическое масло. Также могут быть включены физиологический солевой раствор, раствор декстрозы или другого сахара, или гликоли, такие как этиленгликоль, пропиленгликоль или полиэтиленгликоль. В качестве примера вирусного состава представлен мировой стандарт аденовируса (Hoganson et al., 2002): 20 mM трис pH 8, 25 mM NaCl, 2.5% глицерина; или 20 mM трис, 2 mM MgCl₂, 25 mM NaCl, сахарозы 10% мас./об., полисорбата-80 0.02% мас./об.; или 10-25 mM цитратного буфера с pH 5.9-6.2, 4-6% (мас./мас.) гидроксипропил-бета-циклодекстрина (HBCD), 70-100 mM NaCl, 0.018-0.035% (мас./мас.) полисорбата-80 и необязательно 0.3-0.45% (мас./мас.) этанола. Можно использовать множество других буферных растворов, и известны примеры подходящих составов для хранения и фармацевтического введения очищенных фармацевтических препаратов.

Вакцина может содержать один или несколько адьювантов. Приемлемые адьюванты включают QS-21, Detox-PC, MPL- SE, MoGM-CSF, TiterMax-G, CRL-1005, GERBU, TERamide, PSC97B, Adjumer, PG-026, GSK-I, GcMAF, B-alecthine, MPC-026, Adjuvax, CpG ODN, Betafectin, Alum и MF59. Другие адьюванты, которые можно использовать, включают лектины, факторы роста, цитокины и лимфокины, такие как альфа-интерферон, гамма-интерферон, тромбоцитарный фактор роста (PDGF), гранулоцитарно-колониестимулирующий фактор (gCSF), гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (gMCSF), фактор некроза опухоли (TNF), эпидермальный фактор роста (EGF), IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 или агонисты TLR.

Термины "адьювант" и "иммуностимулятор" используются в настоящем документе взаимозаменяемо и определяются как одно или более веществ, вызывающих стимуляцию иммунной системы. В данном контексте адьювант используется для усиления иммунного ответа на вакцины или вирусные векторы, описанные в настоящем документе.

В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция в соответствии с настоящим изобретением может представлять собой вакцину в соответствии с настоящим описанием.

Аналогичным образом, полинуклеотиды, гетерологичные полинуклеотиды, полипептиды и гетерологичные полипептиды в соответствии с настоящим описанием могут быть приготовлены в виде фармацевтических композиций, содержащих полинуклеотиды, гетерологичные полинуклеотиды, полипептиды и гетерологичные полипептиды, а также фармацевтически приемлемые эксципиенты.

Наборы

В настоящем описании также предложен набор, содержащий одну или более вакцин в соответствии с настоящим описанием.

В настоящем описании также предложен набор, содержащий один или более рекомбинантных вирусов в соответствии с настоящим описанием. Наборы можно использовать для облегчения выполнения способов, описанных в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит реагенты для облегчения введения вакцин в соответствии с настоящим описанием в клетку, такие как составы на основе липидов или вирусные упаковочные материалы.

В одном варианте осуществления набор содержит гAd26 в соответствии с настоящим описанием. В одном варианте осуществления набор содержит гMVA в соответствии с настоящим описанием. В одном варианте осуществления набор содержит гGAd в соответствии с настоящим описанием. В некоторых вариантах осуществления набор содержит гAd26 в соответствии с настоящим описанием и гMVA в соответствии с настоящим описанием. В некоторых вариантах осуществления набор содержит гGAd в соответствии с настоящим описанием и гMVA в соответствии с настоящим описанием. В одном варианте осуществления набор содержит гAd26 в соответствии с настоящим описанием и гGAd в соответствии с настоящим описанием. В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или более полинуклеотидов в соответствии с настоящим описанием. В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или более гетерологичных полинуклеотидов в соответствии с настоящим описанием. В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или более полипептидов в соответствии с настоящим описанием. В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или более гетерологичных полипептидов в соответствии с настоящим описанием. В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или более векторов в соответствии с настоящим описанием. В некоторых вариантах осуществления набор содержит одну или более клеток в соответствии с настоящим описанием.

Невирусные носители

Наночастицы

Полипептиды или гетерологичные полипептиды или их фрагменты, кодирующие их полинуклеотиды или векторы, содержащие полинуклеотиды в соответствии с настоящим описанием, могут быть присоединены к наночастицам для доставки субъекту. Доставка полипептидов, или гетерологичных полипептидов, или их фрагментов, кодирующих их полинуклеотидов или векторов, содержащих полинуклеотиды, с использованием наночастиц может устранить необходимость включения вируса или адьюванта в состав композиции вакцины. Полинуклеотид может представлять собой ДНК или РНК. Наночастицы могут содержать сигналы иммунной опасности, которые способствуют эффективной индукции иммунного ответа на пептиды. Наночастицы могут индуцировать активацию и

созревание дендритных клеток (DC), необходимых для устойчивого иммунного ответа. Наночастицы могут содержать не собственные компоненты, которые улучшают поглощение наночастиц и, следовательно, пептидов клетками, такими как антигенпрезентирующие клетки.

Диаметр наночастиц обычно составляет от около 1 до около 100 нм, например от около 20 нм до около 40 нм. Наночастицы со средним диаметром от 20 до 40 нм могут облегчать поглощение наночастицы цитозолем (см., например, WO 2019/135086). Примерами наночастиц являются полимерные наночастицы, неорганические наночастицы, липосомы, липидные наночастицы (LNP), иммуностимулирующий комплекс (ISCOM), вирусоподобные частицы (VLP) или самособирающийся белок. Наночастицы могут представлять собой наночастицы фосфата кальция, наночастицы кремния или наночастицы золота. Полимерные наночастицы могут содержать один или более синтетических полимеров, таких как поли(d, l-лактида-ко-гликолид) (PLG), поли(d, l-лактид-ко-гликолевая кислота) (PLGA), поли(G-глутаминовая кислота) (g-PGA) или поли(этиленгликоль) (PEG), или полистирол, или один или более природных полимеров, таких как полисахарид, например пуллулан, альгинат, инулин и хитозан. Применение полимерных наночастиц может быть выгодным благодаря свойствам полимеров, которые могут быть включены в наночастицу. Например, перечисленные выше натуральные и синтетические полимеры могут обладать хорошей биосовместимостью и биоразлагаемостью, нетоксичностью и/или способностью к переработке с получением желаемых форм и размеров. Полимерная наночастица может также образовывать гидрогелевые наночастицы, гидрофильные трехмерные полимерные сети с благоприятными свойствами, включая гибкий размер ячейки, большую площадь поверхности для мультивалентной конъюгации, высокое содержание воды и высокую сорбционную емкость для антигенов. Полимеры, такие как поли-L-молочная кислота (PLA), PLGA, PEG, и полисахариды подходят для формирования гидрогелевых наночастиц. Неорганические наночастицы, как правило, имеют жесткую структуру и содержат оболочку, в которой инкапсулирован антиген, или ядро, к которому может быть ковалентно присоединен антиген. Ядро может содержать один или более атомов, таких как золото (Au), серебро (Ag), атомы меди (Cu), Au/Ag, Au/Cu, Au/Ag/Cu, Au/Pt, Au/Pd или Au/Ag/Cu/Pd или фосфат кальция (CaP).

Наночастицы могут представлять собой липосомы. Липосомы, как правило, образуются из биоразлагаемых нетоксичных фосфолипидов и содержат самособирающуюся фосфолипидную бислою оболочку с водным ядром. Липосомы могут представлять собой однослойную везикулу, содержащую один фосфолипидный бислой, или многослойную везикулу, содержащую несколько концентрических фосфолипидных оболочек, разделенных слоями воды. Как следствие, липосомы можно оптимизировать для включения либо гидрофильных молекул в водное ядро, либо гидрофобных молекул в фосфолипидные бислои. Липосомы могут инкапсулировать антигены, такие как полипептиды, гетерологичные полипептиды или их фрагменты в соответствии с настоящим изобретением, в ядро для доставки. Липосомы и липосомные составы можно приготовить стандартными способами и хорошо известными в данной области, см., например, Remington's; Akimaru, 1995, *Cytokines Mol. Ther.* 1: 197-210; Alving, 1995, *Immunol. Rev.* 145: 5-31; Szoka, 1980, *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.* 9: 467; патент США № 4235871; патент США № 4501728; и патент США № 4837028. Липосомы могут содержать нацеливающую молекулу для нацеливания комплексов липосомы на определенный тип клеток. Нацеливающая молекула может содержать партнера по связыванию (например, лиганд или рецептор) для биомолекулы (например, рецептор или лиганд) на поверхности кровеносного сосуда или клетки, обнаруживаемой в ткани-мишени. Заряд липосом является важным фактором, определяющим выведение липосом из крови, при этом отрицательно заряженные липосомы быстрее захватываются ретикулоэндотелиальной системой (Juliano, 1975, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 63: 651) и, таким образом, имеют более короткий период полужизни в кровотоке. Включение производных фосфатидилэтаноламина увеличивает время циркуляции за счет предотвращения агрегации липосомы. Например, встраивание N-(омега-карбоксии)ациламинофосфатидилэтаноламинов в большие однослойные везикулы L-альфа-дистеароилфосфатидилхолина резко увеличивает продолжительность жизни липосомальной циркуляции *in vivo* (см., например, Ahl, 1997, *Biochim. Biophys. Acta* 1329: 370-382). Как правило, липосомы получают с содержанием от около 5 до 15 мол.% отрицательно заряженных фосфолипидов, таких как фосфатидилглицерин, фосфатидилсерин или фосфатидилинозитол. Добавленные отрицательно заряженные фосфолипиды, такие как фосфатидилглицерин, также служат для предотвращения спонтанной агрегации липосом и, таким образом, сведения к минимуму риска образования недостаточных по размеру липосомальных агрегатов. Упрочняющие мембрану агенты, такие как сфингомиелин или насыщенный нейтральный фосфолипид, в концентрации по меньшей мере около 50 мол.% и от 5 до 15 мол.% моносиалилганглиозида также могут придавать желательные липосомные свойства, такие как жесткость (см., например, патент США № 4837028). Кроме того, суспензия липосом может содержать липид-защитные агенты, которые защищают липиды от свободнорадикальных и липид-пероксидазных повреждений при хранении. Предпочтительными являются липофильные гасители свободных радикалов, такие как альфа-токоферол, и водорастворимые железоспецифические хелаторы, такие как ферриоксанин.

Наночастицы могут представлять собой липидные наночастицы (LNP). LNP аналогичны

липосомам, но имеют немного отличающиеся функции и состав. LNP разработаны для инкапсулирования полинуклеотидов, таких как ДНК, мРНК, миРНК и кРНК. Традиционные липосомы содержат водное ядро, окруженное одним или более липидными бислоями. LNP могут иметь мицеллообразную структуру, инкапсулируя молекулы лекарственных препаратов в неводном ядре. LNP, как правило, содержат катионный липид, некаатионный липид и липид, который предотвращает агрегацию частицы (например, PEG-липидный конъюгат). LNP подходят для системного применения, поскольку они демонстрируют увеличенную продолжительность жизни циркуляции после внутривенной инъекции и накапливаются в дистальных участках (например, участках, физически отделенных от места введения). LNP могут иметь средний диаметр от около 50 до около 150 нм, например от около 60 до около 130 нм, или от около 70 до около 110 нм, или от около 70 до около 90 нм, и являются по существу нетоксичными. Получение загруженных полинуклеотидами LNP описано в патенте США №№ 5976567; 5981501; 6534484; 6586410; 6815432; патентной публикации WO 96/40964. Полинуклеотид, содержащий LNP, описан, например, в WO 2019/191780.

Полинуклеотиды, гетерологичные полинуклеотиды, полипептиды и гетерологичные полипептиды в соответствии с настоящим описанием могут включать в себя многослойные везикулы гетерогенных размеров. Например, образующие везикулу липиды можно растворить в подходящем органическом растворителе или системе растворителей и высушить под вакуумом или в инертном газе с образованием тонкой липидной пленки. При желании пленку можно повторно растворить в подходящем растворителе, таком как третичный бутанол, а затем лиофилизировать с образованием более однородной липидной смеси, которая находится в более легко гидратированной порошковой форме. Данную пленку покрывают водным раствором полипептидного комплекса и позволяют ей гидратироваться, как правило, в течение периода времени от 15 до 60 мин, перемешивая. Распределение по размерам полученных многослойных везикул можно сдвинуть в сторону меньших размеров путем гидратации липидов при более энергичном перемешивании или путем добавления солибилизирующих детергентов, таких как дезоксихолат. Среда для гидратации может содержать нуклеиновую кислоту в концентрации, необходимой во внутреннем объеме липосом в конечной суспензии липосом. Подходящие липиды, которые можно применять для образования многослойных везикул, включают DOTMA (Feigner, et al., 1987, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 7413-7417), DOGS или Transfectain™ (Behr, et al., 1989, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86: 6982-6986), DNERIE или DORIE (Feigner, et al., Methods 5: 67-75), DC-CHOL (Gao and Huang, 1991, BBRC 179: 280-285), DOTAP™ (McLachlan, et al., 1995, Gene Therapy 2: 674-622), Lipofectamine™ и глицеролипидные соединения (см., например, EP 901463 и WO 98/37916).

Наночастица может представлять собой иммуностимулирующий комплекс (ISCOM). ISCOM представляют собой каркасные частицы, которые обычно образуются из коллоидных сапонин-содержащих мицелл. ISCOM могут содержать холестерин, фосфолипид (такой как фосфатидилэтаноламин или фосфатидилхолин) и сапонин (такой как Quil A из дерева *Quillaia saponaria*).

Наночастица может представлять собой вирусоподобную частицу (VLP). VLP представляют собой самособирающиеся наночастицы, не содержащие инфекционной нуклеиновой кислоты, которые образуются в результате самосборки биосовместимого капсидного белка. Как правило, диаметр VLP составляет от около 20 до около 150 нм, например от около 20 до около 40 нм, от около 30 до около 140 нм, от около 40 до около 130 нм, от около 50 до около 120 нм, от около 60 до около 110 нм, от около 70 до около 100 нм или от около 80 до около 90 нм. Преимуществом VLP является то, что они используют возможности развитой вирусной структуры, которая естественным образом оптимизирована для взаимодействия с иммунной системой. Оптимизированный естественным образом размер наночастиц и повторяющийся структурный порядок означают, что VLP индуцируют мощные иммунные ответы даже в отсутствие адьюванта.

Наночастицы могут содержать репликоны, которые кодируют полипептиды или гетерологичные полипептиды в соответствии с настоящим описанием. Репликоны могут представлять собой ДНК или РНК.

Термин "репликон" относится к вирусной нуклеиновой кислоте, которая способна направлять генерацию собственных копий и включает РНК, а также ДНК. Например, для получения одноцепочечного РНК-транскрипта, составляющего репликон артеривируса, можно использовать версии двухцепочечной ДНК геномов артеривируса. Как правило, репликон вируса содержит весь геном вируса. Термин "субгеномный репликон" относится к вирусной нуклеиновой кислоте, которая содержит что-либо меньшее, чем полный комплемент генов и других признаков вирусного генома, но все же способна направлять создание самих копий. Например, субгеномные репликоны артеривируса могут содержать большинство генов неструктурных белков вируса, но в них отсутствует большинство генов, кодирующих структурные белки. Субгеномные репликоны способны направлять экспрессию всех вирусных генов, необходимых для репликации вирусного субгенома (репликация субгеномного репликона), без продукции вирусных частиц.

Термин "РНК-репликон" (или "самореплицирующаяся РНК") относится к РНК, содержащей всю генетическую информацию, необходимую для направления ее собственной амплификации или

саморепликации в пределах пермиссивной клетки. Чтобы направлять свою собственную репликацию, молекула РНК 1) кодирует полимеразу, репликазу или другие белки, которые могут взаимодействовать с белками вируса или клетки-хозяина, нуклеиновыми кислотами или рибонуклеотидными белками для катализирования процесса амплификации РНК; и 2) содержат цис-действующие последовательности РНК, необходимые для репликации и транскрипции кодируемой репликоном РНК. Самореплицирующуюся РНК, как правило, получают из геномов РНК-вирусов с положительной цепью и ее можно использовать в качестве основы для введения инородных последовательностей в клетки-хозяева путем замены вирусных последовательностей, кодирующих структурные или неструктурные гены, или вставки инородных последовательностей, кодирующих структурные или неструктурные гены, на 5'-конце или 3'-конце. Инородные последовательности также могут быть введены в субгеномные области альфавирусов. Самореплицирующаяся РНК может быть упакована в рекомбинантные вирусные частицы, такие как рекомбинантные альфа-вирусные частицы, или альтернативно доставлена хозяину с помощью липидных наночастиц (LNP). Самореплицирующаяся РНК может составлять по меньшей мере 1 т. п. н., или по меньшей мере 2 т. п. н., или по меньшей мере 3 т. п. н., или по меньшей мере 4 т. п. н., или по меньшей мере 5 т. п. н., или по меньшей мере 6 т. п. н., или по меньшей мере 7 т. п. н., или по меньшей мере 8 т. п. н., или по меньшей мере 10 т. п. н., или по меньшей мере 12 т. п. н., или по меньшей мере 15 т. п. н., или по меньшей мере 17 т. п. н., или по меньшей мере 19 т. п. н., или по меньшей мере 20 т. п. н., или может составлять 100 п. о.-8 т. п. н. или 500 п. о.-8 т. п. н. или 500 п. о.-7 т. п. н. или 1-7 т. п. н. или 1-8 т. п. н. или 2-15 т. п. н. или 2-20 т. п. н. или 5-15 т. п. н. или 5-20 т. п. н. или 7-15 т. п. н. или 7-18 т. п. н. или 7-20 т. п. н. по размеру. Самореплицирующиеся РНК описаны, например, в WO 2017/180770, WO 2018/075235, WO 2019143949A2.

Другие молекулы, подходящие для образования комплексов с полинуклеотидами, гетерологичными полинуклеотидами, полипептидами и гетерологичными полипептидами в соответствии с настоящим изобретением, включают катионные молекулы, такие как полиамидоамин (Haensler and Szoka, 1993, Bioconjugate Chem. 4: 372-379), дендритный полилизин (международная патентная публикация № WO 1995/24221), полиэтилен иринин или полипропилен h-нин (международная патентная публикация № WO 1996/02655), полилизин (патент США № 5595897), хитозан (патент США № 5744166), ДНК-желатин коацерваты (см., например, патент США № 6207195; патент США № 6025337; патент США № 5,972,707) или DEAE декстран (Lopata, et al., 1984, Nucleic Acid Res. 12: 5707-5717), дендримеры (см., например, WO 1996/19240) или полиэтиленимин (PEI) (см., например, Sun et al., 2014, Mol Med Rep. 10(5):2657-2662).

Комплексы неоантиген предстательной железы/HLA

В настоящем описании также предложен белковый комплекс, содержащий неоантиген предстательной железы и HLA. В настоящем описании также предложен белковый комплекс, содержащий фрагмент неоантигена предстательной железы и HLA. В настоящем описании также предложен белковый комплекс, содержащий вариант неоантигена предстательной железы и HLA. В настоящем описании также предложен белковый комплекс, содержащий вариант фрагмента неоантигена предстательной железы и HLA.

В некоторых вариантах осуществления неоантиген предстательной железы содержит полипептид SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент неоантигена предстательной железы содержит аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620 и 621.

В некоторых вариантах осуществления фрагмент неоантигена предстательной железы содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 377, 378, 415, 417, 418, 420, 502, 518, 526, 527, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 74, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804,

805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 487, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980 или 548.

В некоторых вариантах осуществления HLA представляет собой HLA класса I. В некоторых вариантах осуществления HLA представляет собой HLA класса II. В некоторых вариантах осуществления HLA представляет собой HLA-A. В некоторых вариантах осуществления HLA представляет собой HLA-B. В некоторых вариантах осуществления HLA представляет собой HLA-C. В некоторых вариантах осуществления HLA представляет собой HLA-DP. В некоторых вариантах осуществления HLA представляет собой HLA-DQ. В некоторых вариантах осуществления HLA представляет собой HLA-DR. В некоторых вариантах осуществления HLA представляет собой HLA-A*01:01, A*02:01, A*03:01, A*24:02, B*07:02 или B*08:01.

Комплекс неоантигена предстательной железы и HLA можно использовать, например, для выделения когнатных Т-клеток *in vitro* или *in vivo*. Комплекс неоантигена предстательной железы и HLA также может быть конъюгирован с обнаруживаемой меткой и использован в качестве агента обнаружения для обнаружения, визуализации или выделения когнатных TCR или Т-клеток, экспрессирующих когнатный TCR. Комплекс неоантигена предстательной железы и HLA также может быть конъюгирован с цитотоксическим агентом и использован для истощения или уменьшения числа клеток, экспрессирующих когнатный TCR. Комплекс может находиться в своей нативной конфигурации, или в альтернативном варианте осуществления может быть создан неоантиген предстательной железы и/или HLA.

Концепции конструирования включают ковалентное связывание пептида с HLA, например, путем применения ковалентных линкеров, которые могут быть расщепляемыми. Комплекс неоантигена предстательной железы и HLA может представлять собой мономер или мультимер. Комплекс неоантигена предстательной железы и HLA может связываться с токсином или агентом обнаружения. Различные инженерные концепции включают в себя экспрессию комплекса в виде ковалентной цепи неоантигена- $\beta 2$ - $\alpha 2$ - $\alpha 1$ - $\beta 1$ предстательной железы или цепи неоантигена- β предстательной железы, например, в виде растворимого комплекса. Между неоантигеном предстательной железы и HLA можно использовать линкеры длиной по меньшей мере 15 аминокислот. В альтернативном варианте осуществления комплекс может быть экспрессирован как ковалентно связанный одноцепочечный неоантиген- $\beta 1$ - $\alpha 1$ предстательной железы. Комплекс неоантиген предстательной железы/HLA может также экспрессироваться в виде полноразмерных цепей HLA $\alpha\beta$, с которыми неоантиген предстательной железы ковалентно связан с N-концом α -цепи, или в альтернативном варианте осуществления неоантиген предстательной железы связан с $\alpha\beta$ -цепью посредством нековалентных взаимодействий. Различные форматы экспрессии описаны в US 5976551, US 5734023, US 5820866, US 7141656B2, US 6270772B1 и US 7074905B2. Кроме того, HLA можно экспрессировать в виде одноцепочечного конструкта, который мутирован в цепи $\alpha 1$ или стабилизирован дисульфидными связями посредством доменов $\alpha 2$ и $\beta 2$, как описано в US 8377447B2 и US 8828379B2. Неоантиген предстательной железы или его фрагмент можно связывать с HLA посредством чувствительных к свету или чувствительных к периодату расщепляемых линкеров, как описано в US 9079941B2. Комплексы неоантиген предстательной железы и HLA могут быть сконструированы в мультимерном формате. Мультимерные форматы могут быть получены путем присоединения реакционноспособной боковой цепи к С-концу α или β -цепи HLA для облегчения перекрестного сшивания двух или более комплексов неоантигена предстательной железы и HLA, как описано в US 7074904B2. В альтернативном варианте последовательность распознавания биотинилирования BirA может быть встроена в С-конец α -или β -цепи HLA, который затем биотинилировали, а мультимер образуется путем связывания с авидином/стрептавидином, как описано в US 563536. Мультимерные комплексы неоантигена предстательной железы и HLA могут быть дополнительно получены с использованием Fc-слияний, связывания комплексов неоантигена предстательной железы и HLA в декстрановых носителях, олигомеризации посредством полых спиральных доменов, использования дополнительных биотинилированных пептидов или конъюгации комплексов неоантигена предстательной железы и HLA с наночастицами или хелатирующим носителем, как описано в US 6197302B1, US 6268411B1, US 20150329617A1, EP 1670823B1, EP 1882700B1, EP 2061807B1, US 20120093934A1, US 20130289253A1, US 20170095544A1, US 20170003288A1 и WO 2017015064A1.

Белковые молекулы, которые связываются с неоантигенами предстательной железы или комплексами неоантиген предстательной железы/HLA

В настоящем описании также предложена белковая молекула, содержащая антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с полипептидом SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447 или их фрагментами. Белковая молекула незначительно связывается с белком дикого типа, из которого получен неоантиген.

В настоящем описании также предложена белковая молекула, содержащая антигенсвязывающий домен, который специфически связывается с комплексом неоантиген предстательной железы/HLA, причем неоантиген предстательной железы содержит полипептид с SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

Иллюстративные фрагменты содержат аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620 или 621.

Другие примеры фрагментов содержат аминокислотные последовательности SEQ ID NO: 377, 378, 415, 417, 418, 420, 502, 518, 526, 527, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 74, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 487, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980 или 548.

HLA может включать класс I или класс II.

HLA может содержать HLA-A, HLA-B или HLA-C.

HLA может содержать HLA-DP, HLA-DQ или HLA-DR.

HLA может содержать аллели класса HLA-A*01:01, A*02:01, A*03:01, A*24:02, B*07:02 или B*08:01.

В некоторых вариантах осуществления белковая молекула представляет собой антигенсвязывающий фрагмент антитела.

В некоторых вариантах осуществления белковая молекула представляет собой мультиспецифическую молекулу. В некоторых вариантах осуществления белковая молекула представляет собой биспецифическую молекулу. В некоторых вариантах осуществления белковая молекула представляет собой триспецифическую молекулу. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифическая молекула связывает два или более разных неоантигенов предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления мультиспецифическая молекула связывается с неоантигеном предстательной железы и комплексом Т-клеточного рецептора (TCR). В некоторых вариантах

осуществления мультиспецифическая молекула связывается с двумя или более различными неоантигенами предстательной железы и комплексом Т-клеточного рецептора (TCR).

В некоторых вариантах осуществления белковая молекула представляет собой антитело.

В некоторых вариантах осуществления белковая молекула представляет собой мультиспецифическое антитело. В некоторых вариантах осуществления белковая молекула представляет собой биспецифическое антитело. В некоторых вариантах осуществления белковая молекула представляет собой триспецифическое антитело. В некоторых вариантах осуществления белковая молекула представляет собой перенаправляющую Т-клетки молекулу.

В случаях когда неоантиген предстательной железы в соответствии с настоящим описанием является частью внеклеточного домена белка, неоантиген предстательной железы можно использовать в качестве связанного с опухолью антигена для рекрутинга Т-клеток для опухолей или нацеливания на CAR-T и других видов клеточной терапии опухоли с использованием антигенсвязывающих доменов, которые селективно связываются с неоантигеном предстательной железы на опухолевых клетках.

В случаях, когда неоантиген предстательной железы является частью внутриклеточного домена, в качестве терапевтических средств могут использоваться антигенсвязывающие домены, имеющие возможность доставки во внутриклеточные компартменты, конъюгированные с цитотоксическим агентом или терапевтическим агентом. В альтернативном варианте осуществления в качестве терапевтических средств можно использовать клетки, сконструированные таким образом, чтобы экспрессировать когнатный TCR, который связывается с комплексом неоантигена предстательной железы и HLA.

В некоторых вариантах осуществления белковая молекула представляет собой альтернативный каркас.

В некоторых вариантах осуществления белковая молекула представляет собой химерный антигенный рецептор (CAR).

В некоторых вариантах осуществления белковая молекула представляет собой Т-клеточный рецептор (TCR).

Связывание белковой молекулы с неоантигеном предстательной железы или комплексом неоантигена предстательной железы и HLA в соответствии с настоящим описанием можно определить экспериментально с использованием любого приемлемого способа. Такие способы могут включать применение оборудования ProteOn XPR36, Biacore 3000 или KinExA, ИФА или анализы конкурентного связывания, известные специалистам в данной области. Измеренное значение связывания может изменяться при измерении в различных условиях (например, осмолярности, pH). Таким образом, измерения аффинности и других параметров связывания (например, K_D , K_{on} , K_{off}), как правило, проводятся в стандартизированных условиях и с использованием стандартизированного буферного раствора, такого как буферный раствор, описанный в настоящем документе. Специалистам в данной области будет понятно, что внутренняя ошибка измерений аффинности, например, с применением оборудования Biacore 3000 или ProteOn (измеряемая как среднеквадратичное отклонение (CO)), как правило, может составлять 5-33% для измерений, проводимых в границах типичных пределов обнаружения. Термин "несущественный" относится к связыванию, которое в 100 раз меньше по сравнению с измеренным связыванием белковой молекулы с неоантигеном предстательной железы в соответствии с настоящим описанием. Белковую молекулу в соответствии с настоящим описанием можно дополнительно охарактеризовать в зависимости от ее активности и функции с применением известных способов и описанных в настоящем документе, таких как способность белковых молекул уничтожать клетки, экспрессирующие неоантигены предстательной железы или комплексы неоантигена предстательной железы и HLA.

Антитела и антигенсвязывающие домены

Антитела и антигенсвязывающие домены, которые специфически связываются с неоантигенами предстательной железы или комплексами неоантигена предстательной железы и HLA, можно создавать с помощью известных способов. Такие антитела могут включать в себя молекулы иммуноглобулина любого типа (например, IgG, IgE, IgM, IgD, IgA и IgY), класса (например, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 и IgA2) или подкласса.

Например, для создания моноклональных антител можно применять способ гибридом по Kohler and Milstein, Nature 256:495, 1975. В способе гибридомы мышь или другое животное-хозяина, например хомяка, крысу или обезьяну, иммунизируют одним или более неоантигенами предстательной железы или комплексами неоантигена предстательной железы и HLA с последующим слиянием спленоцитов от иммунизированных животных с клетками миеломы с использованием стандартных способов с получением клеток гибридомы (Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice, pp.59-103 (Academic Press, 1986)). Колонии, возникающие из одиночных клеток иммортализованной гибридомы, подвергают скринингу для определения продукции антител с желательными свойствами, такими как специфичность связывания и аффинности для неоантигена предстательной железы в соответствии с настоящим описанием.

Для получения антител можно использовать различных животных-хозяев. Например, можно

использовать мышей Balb/c, крыс, или цыплят для получения антител, содержащих пару VH/VL, а для создания антител только с тяжелой цепью (VHH) можно использовать лам и альпак с использованием стандартных протоколов иммунизации. Антитела, полученные от нечеловекоподобных животных могут быть гуманизированы с применением разнообразных методик для создания последовательностей, имеющих большее сходство с человеческими последовательностями.

Примеры методик гуманизации, включающих в себя отбор человеческих акцепторных каркасов, известны и включают в себя прививание CDR (патент США № 5225539), прививание SDR (патент США № 6818749), изменение поверхности (Padlan, (1991) *Mol Immunol* 28:489-499), изменение поверхности определяющих специфичность остатков (патентная публикация США № 2010/0261620), адаптацию человеческого каркаса (патент США № 8748356) и супергуманизацию (патент США № 7709226). В этих способах CDR исходных антител переносят на человеческие каркасы, которые можно выбирать на основании их общей гомологии с исходными каркасами, на основании сходства длины CDR или идентичности канонической структуры либо их комбинации.

Гуманизированные антитела могут быть дополнительно оптимизированы для улучшения их селективности или аффинности к требуемому антигену посредством включения измененных остатков, поддерживающих каркас, с сохранением аффинности связывания (обратных мутаций) такими методиками, которые описаны в международных патентных публикациях № WO1090/007861 и WO1992/22653, или посредством встраивания вариации в любую из CDR, например, для улучшения аффинности антитела.

Для получения человеческих антител против неоантигенов предстательной железы или комплексов неоантигена предстательной железы и HLA можно применять трансгенных животных, несущих в своем геноме локусы иммуноглобулинов (Ig) человека, таких как мыши или крысы, которые описаны, например, в патенте США № 6150584, международной патентной публикации № WO 99/45962, международных патентных публикациях № WO 2002/066630, WO 2002/43478, WO 2002/043478 и WO 1990/04036, Lonberg et al. (1994) *Nature* 368:856-9; Green et al. (1994) *Nature Genet.* 7:13-21; Green & Jakobovits (1998) *Exp. Med.* 188:483-95; Lonberg and Huszar (1995) *Int Rev Immunol* 13:65-93; Bruggemann et al., (1991) *Eur J Immunol* 21:1323-1326; Fishwild et al., (1996) *Nat Biotechnol* 14:845-851; Mendez et al., (1997) *Nat Genet* 15:146-156; Green (1999) *J Immunol Methods* 231:11-23; Yang et al., (1999) *Cancer Res* 59:1236-1243; Bruggemann and Taussig (1997) *Curr Opin Biotechnol* 8:455-458. Эндогенные локусы иммуноглобулинов у таких животных можно разрывать или удалять, и в геном животного можно встраивать по меньшей мере один полный или частичный локус иммуноглобулина человека посредством гомологичной или негомологичной рекомбинации, с применением трансхромосом или с применением минигенов. Для получения человеческих антител, направленных против выбранного антигена, с применением описанной выше технологии можно обратиться к таким компаниям, как Regeneron (http://_www_regeneron_com), Harbour Antibodies (http://_www_harbourantibodies_com), Open Monoclonal Technology, Inc. (OMT) (http://_www_omtinc_net), KyMab (http://_www_kymab_com), Trianni (http://_www.trianni_com) и Ablexis (http://_www_ablexis_com).

Человеческие антитела можно выбирать из библиотеки фагового дисплея, причем фаг сконструирован с возможностью экспрессии человеческих иммуноглобулинов или их участков, таких как Fab, одноцепочечные антитела (scFv), домены антител или неспаренные либо спаренные переменные области антител (Knappik et al., (2000) *J Mol Biol* 296:57-86; Krebs et al., (2001) *J Immunol Meth* 254:67-84; Vaughan et al., (1996) *Nature Biotechnology* 14:309-314; Sheets et al., (1998) *PITAS (USA)* 95:6157-6162; Hoogenboom and Winter (1991) *J Mol Biol* 227:381; Marks et al., (1991) *J Mol Biol* 222:581). Антитела в соответствии с настоящим описанием могут быть выделены, например, из библиотеки фагового дисплея, экспрессирующей переменные области тяжелой и легкой цепей антитела в виде гетерологичных полипептидов с белком оболочки бактериофага pIX, как описано в публикации Shi et al., (2010) *J Mol Biol* 397:385-96 и в международной патентной публикации № WO 09/085462). В библиотеках можно проводить скрининг на связывание фагов с неоантигеном предстательной железы или комплексом неоантиген предстательной железы/HLA, и полученные положительные клоны могут быть дополнительно охарактеризованы, из лизатов клонов могут быть выделены Fab и экспрессированы в виде полноразмерных IgG. Такие способы использования фагового дисплея для выделения человеческих антител описаны, например, в патенты США № 5223409, 5403484, 5571698, 5427908, 5580717, 5969108, 6172197, 5885793; 6521404; 6544731; 6555313; 6582915 и 6593081. Антитела можно дополнительно тестировать на предмет их связывания с комплексом HLA/неоантиген или только с неоантигеном.

Получение иммуногенных антигенов и продукция моноклональных антител могут быть выполнены с применением любой приемлемой методики, такой как продукция рекомбинантного белка или химический синтез пептидов. Иммуногенные антигены можно вводить животным в форме очищенного белка или белковых смесей, включающих в себя целые клетки или клеточные либо тканевые экстракты, или антиген может быть образован *de novo* в организме животного из нуклеиновых кислот, кодирующих указанный антиген или его часть.

Антигенсвязывающие домены, которые специфически связываются с неоантигеном предстательной

железы или комплексами неоантиген предстательной железы/HLA, также могут быть получены из антител, описанных в настоящем документе. Антигенсвязывающие домены включают одноцепочечные антитела, Fab-фрагменты, Fv-фрагменты, одноцепочечные Fv-фрагменты (scFv), домены VH_H, VH, VL, альтернативные каркасы (например, антигенсвязывающие домены, не относящиеся к антителам), двухвалентный фрагмент антитела, например (Fab)₂'-фрагмент, F(ab')-фрагменты, дисульфид-связанные Fv (sdFv), интратритела, минитела, диатела, триатела и декатела.

Биспецифические и мультиспецифические антитела, которые специфически связывают неоантиген предстательной железы или комплексы неоантиген предстательной железы/HLA и второй антиген можно создавать, используя известные способы. Второй антиген может представлять собой комплекс Т-клеточного рецептора (комплекс TCR). Второй антиген может представлять собой CD3 в пределах комплекса TCR. Биспецифические и мультиспецифические антитела, которые специфически связывают неоантиген предстательной железы или комплексы неоантиген предстательной железы/HLA в соответствии с настоящим описанием и второй антиген, могут быть сконструированы в любой мультивалентном формате с использованием любого известного формата антигенсвязывающих доменов, который специфически связывает неоантигены предстательной железы или комплексы неоантиген предстательной железы/HLA и второй антиген. Антигенсвязывающий домен, который специфически связывает неоантиген предстательной железы или комплекс неоантиген предстательной железы/HLA, может быть конъюгирован с одним или более Fc-доменами или их фрагментом или необязательно с другими каркасами, такими как фрагменты, увеличивающие период полужизни, включая альбумин, ПЭГ или трансферрин.

Мультиспецифические антитела, которые специфически связывают два или более неоантигенов предстательной железы, могут обеспечивать преимущество в отношении улучшенной специфичности нацеливания на опухолевые клетки, экспрессирующие неоантигены предстательной железы.

Антигенсвязывающие домены, которые специфически связываются с неоантигеном предстательной железы или комплексами неоантиген предстательной железы/HLA, можно конструировать в полноразмерные мультиспецифические антитела, которые созданы с помощью обмена Fab-плечами, в которых замены вводят в два моноспецифических двухвалентных антитела в пределах константного участка Ig домена CH₃, который способствует обмену Fab-плечами *in vitro*. В этих способах два моноспецифических бивалентных антитела конструируют так, чтобы они имели определенные замены в домене CH₃, способствующие стабильности гетеродимера; антитела инкубируют вместе в восстановительных условиях, достаточных для обеспечения подверженности цистеинов в шарнирной области изомеризации дисульфидной связи; получая таким образом биспецифическое антитело в результате обмена плечами Fab. Условия инкубации можно оптимально возвращать к невозстанавливающим. Примерами восстанавливающих агентов, которые можно использовать, являются 2-меркаптоэтиламин (2-MEA), дитиотреитол (DTT), дитиозритрит (DTE), глутатион, трис(2-карбоксиил)фосфин (TCSEF), L-цистеин и бета-меркаптоэтанол, предпочтительно восстанавливающий агент выбирают из группы, состоящей из 2-меркаптоэтиламина, дитиотреитола и трис(2-карбоксиил)фосфина. Например, можно использовать инкубирование в течение по меньшей мере 90 мин при температуре по меньшей мере 20°C в присутствии по меньшей мере 25 мМ 2-MEA или в присутствии по меньшей мере 0,5 мМ дитиотреитола при уровне pH 5-8, например при pH=7,0 или при pH=7,4.

Мутации CH₃, которые можно использовать, включают в себя такие технологии, как мутации "выступ во впадину" (Genentech), электростатически спариваемые мутации (Chugai, Amgen, NovoNordisk, Oncomed), сконструированное посредством обмена цепей доменное тело (SEEDbody) (EMD Serono) и другие асимметричные мутации (например, Zymeworks).

Мутации "выступ во впадину" описаны, например, в WO 1996/027011 и включают в себя мутации на границе раздела области CH₃, в которой аминокислоту с небольшой боковой цепью (впадина) вводят в первую область CH₃, а аминокислоту с большой боковой цепью (выступ) вводят во вторую область CH₃, что приводит к предпочтительному взаимодействию между первой областью CH₃ и второй областью CH₃. Примерами мутаций в области CH₃, образующих выступ и впадину, являются T366Y/F405A, T366W/F405W, F405W/Y407A, T394W/Y407T, T394S/Y407A, T366W/T394S, F405W/T394S и T366W/T366S_L368A_Y407V.

Образование гетеродимера тяжелой цепи можно стимулировать путем использования электростатических взаимодействий посредством замены положительно заряженных остатков в первой области CH₃ и отрицательно заряженных остатков во второй области CH₃, как описано в US 2010/0015133, US 2009/0182127, US 2010/028637 или US 2011/0123532.

Другими асимметричными мутациями, которые можно применять для стимуляции гетеродимеризации тяжелых цепей, являются L351Y_F405A_Y407V/T394W, T366I_K392M_T394W/F405A_Y407V, T366L_K392M_T394W/F405A_Y407V, L351Y_Y407A/T366A_K409F, L351Y_Y407A/T366V_K409F, Y407A/T366A_K409F, или T350V_L351Y_F405A_Y407V/T350V_T366L_K392L_T394W, как описано в US 2012/0149876 or US2013/0195849 (Zymeworks).

Мутации SEEDbody включают замещение выбранных остатков IgG остатками IgA для стимуляции гетеродимеризации тяжелых цепей, как описано в US20070287170.

Другие примеры мутаций, которые могут быть использованы, представляют собой R409D_K370E/D399K_E357K, S354C_T366W/Y349C_T366S_L368A_Y407V, Y349C_T366W/S354C_T366S_L368A_Y407V, T366K/L351D, L351K/Y349E, L351K/Y349D, L351K/L368E, L351Y_Y407A/T366A_K409F, L351Y_Y407A/T366V_K409F, K392D/D399K, K392D/E356K, K253E_D282K_K322D/D239K_E240K_K292D, K392D_K409D/D356K_D399K, как описано в WO 2007/147901, WO 2011/143545, WO 2013157954, WO 2013096291 и US 2018/0118849.

Мутации Duobody® (Genmab) описаны, например, в US 9150663 и US 2014/0303356 и включают в себя мутации F405L/K409R, дикого типа/F405L_R409K, T350I_K370T_F405L/K409R, K370W/K409R, D399AFGHILMNRSTVWY/K409R, T366ADEFHILMQVY/K409R, L368ADEGHNRSTVQ/K409AGRH, D399FHKRQ/K409AGRH, F405IKLSTVW/K409AGRH и Y407LWQ/K409AGRH.

Дополнительные биспецифические или мультиспецифические структуры, в которые могут быть встроены антигенсвязывающие домены, которые специфически связываются с неоантигеном предстательной железы или комплексами неоантиген предстательной железы/HLA, включают иммуноглобулины с двойным варибельным доменом (DVD) (международная патентная публикация № WO 2009/134776; DVD представляет собой полноразмерные антитела, содержащие тяжелую цепь, имеющую структуру VH1-линкер-VH2-CH, и легкую цепь, имеющую структуру VL1-линкер-VL2-CL; где линкер необязателен), структуры, включающие различные димеризационные домены для соединения двух плеч антител с разной специфичностью, такие как "лейциновая застежка" или коллагеновые димеризационные домены (международная патентная публикация № WO 2012/022811, патент США № 5932448; патент США № 6833441), два или более доменных антитела (dAb), конъюгированных вместе, диатела, антитела, имеющие только тяжелую цепь, такие как антитела верблюжьего типа и сконструированные антитела верблюжьего типа, антитела с двойным нацеливанием (DT)-Ig (GSK/Domantis), антитело "два в одном" (Genentech), поперечно сшитые Mab (Karmanos Cancer Center), mAb2 (F-Star) и CovX-тело (CovX/Pfizer), IgG-подобные биспецифические антитела (InnClone/Eli Lilly), Ts2Ab (MedImmune/AZ) и BsAb (Zymogenetics), HERCULES (Biogen Idec) и TvAb (Roche), слитые белки ScFv/Fc (Academic Institution), SCORPION (Emergent BioSolutions/Trubion, Zymogenetics/BMS), перенацеливающиеся антитела с двойной аффинностью (Fc-DART) (MacroGenics) и Dual(ScFv)2-Fab (National Research Center for Antibody Medicine, Китай), антитела "двойного действия" или Bis-Fab (Genentech), Dock-and-Lock (DNL) (ImmunoMedics), двухвалентное биспецифическое антитело (Biotecnol) и Fab-Fv (UCB-Celltech). Антитела на основе ScFv, диател и доменные антитела включают в себя, без ограничений, биспецифический T-клеточный активатор (BiTE) (Micromet), тандемное диатело (Tandab) (Affimed), перенацеливающиеся антитела с двойной аффинностью (DART) (MacroGenics), одноцепочечное диатело (Academic), TCR-подобные антитела (AIT, ReceptorLogics), слитый белок ScFv и человеческого сывороточного альбумина (Merrimack), COMBODY (Epigen Biotech), нанотела с двойным нацеливанием (Ablynx), доменные антитела с двойным нацеливанием, имеющие только тяжелую цепь.

Альтернативные каркасы

Альтернативные каркасы (также называемые миметиками антител), которые специфически связываются с неоантигеном предстательной железы или комплексами неоантиген предстательной железы/HLA, могут быть получены с использованием различных каркасов, известных в данной области и описанных в настоящем документе. Альтернативными каркасами могут быть монотела, выполненные с возможностью включения фибронектинового домена типа III (Fn3) фибронектина или тенасцина в качестве белкового каркаса (патент США № 6673901; Патент США № 6348584) или синтетические домены FN3, такие как тенкон, как описано в патентной публикации США № 2010/0216708 и патентной публикации № 2010/0255056. Дополнительные альтернативные каркасы включают Adnectin™, an iMab, an Anticalin®, an EETI-II/AGRP, домен Куница, тиоредоксин-пептидный аптамер, Affibody®, a DARPin, Affilin, Tetranection, Fynomer и Avimer. Альтернативными каркасами являются одноцепочечные полипептидные каркасы, которые содержат высокоструктурное ядро, связанное с варибельными доменами с высокой конформационной толерантностью, позволяющее вставлять, удалять или производить другие замены в пределах варибельных доменов. Библиотеки, внедряющие разнообразие в один или более варибельных доменов, а в некоторых случаях в структурированную сердцевину, могут быть созданы с использованием известных протоколов, и полученные библиотеки могут быть подвергнуты скринингу на предмет связывания с неоантигеном настоящего описания, а идентифицированные связывающие вещества могут быть дополнительно охарактеризованы на предмет их специфичности с использованием известных способов. Альтернативный каркас может быть получен из белка A, в частности его Z-домена (аффитела), ImE7 (иммунные белки), BPTI/APPI (домены Куница), RAS-связывающего белка AF-6 (PDZ-домены), хариботоксина (токсин скорпиона), CTLA-4, Min-23 (ноттинсы), липокалина (антикалина), неокарзиностатина, фибронектинового домена, консенсусного домена с анкириновыми повторами или тиоредоксина (Skerra, A., "Alternative Non-Antibody Scaffolds for

Molecular Recognition" *Curr. Opin. Biotechnol.* 18:295-304 (2005); Hosse et al., "A New Generation of Protein Display Scaffolds for Molecular Recognition," *Protein Sci.* 15:14-27 (2006); Nicaise et al., "Affinity Transfer by CDR Grafting on a Nonimmunoglobulin Scaffold," *Protein Sci.* 13:1882-1891 (2004); Nygren and Uhlen, "Scaffolds for Engineering Novel Binding Sites in Proteins," *Curr. Opin. Struc. Biol.* 7:463-469 (1997).

Химерные антигенные рецепторы (CAR)

Могут быть получены CAR, которые связываются с неоантигенами предстательной железы или комплексом неоантигена предстательной железы и HLA, путем включения антигенсвязывающего домена, который специфически связывает неоантигены предстательной железы или комплекс неоантигена предстательной железы и HLA с внеклеточным доменом CAR. Car представляют собой генно-инженерные рецепторы. Эти сконструированные рецепторы могут быть легко вставлены в иммунные клетки, включая Т-клетки, и экспрессированы ими в соответствии с методиками, известными в данной области. С помощью CAR один рецептор может быть запрограммирован как на распознавание специфического антигена, так и на активацию иммунной клетки для атаки и разрушения клетки, несущей этот антиген, при связывании с этим антигеном. Если эти антигены существуют на опухолевых клетках, иммунная клетка, которая экспрессирует CAR, может нацеливаться на опухолевую клетку и уничтожать ее.

CAR, как правило, содержит внеклеточный домен, который связывается с антигеном (например, неоантигеном предстательной железы или комплексом неоантиген предстательной железы/HLA), необязательный линкер, трансмембранный домен и цитозольный домен, содержащий костимулирующий домен и/или сигнальный домен.

Внеклеточный домен в составе CAR может содержать любой полипептид, который специфично связывается с нужным антигеном (например, неоантигеном предстательной железы). Внеклеточный домен может содержать scFv, часть антитела или альтернативную каркасную молекулу. CAR также могут быть сконструированы с возможностью связывания с двумя или более нужными антигенами, которые могут быть расположены в тандеме и разделены линкерными последовательностями. Например, одно или более доменных антител, антител scFv, llama VHH или других фрагментов антител, содержащих только VH, могут быть расположены в тандеме посредством линкера для обеспечения биспецифичности или мультиспецифичности к CAR.

Трансмембранный домен CAR может быть получен из трансмембранного домена CD8, альфа-, бета- или дзета-цепи Т-клеточного рецептора, CD28, CD3-эпсилон, CD45, CD4, CD5, CD8, CD9, CD16, CD22, CD33, CD37, CD64, CD80, CD86, CD134, CD137, CD154, KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1 BB (CD137), 4-1 BBL, GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRFI), CD160, CD19, IL2R-бета, IL2R-гамма, IL7Ra, ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CDI Id, ITGAE, CD103, ITGAL, CDI la, LFA-1, ITGAM, CDI lb, ITGAX, CDI lc, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (Tactile), CEACAM1, CRT AM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKp44, NKp30, NKp46, NKG2D и/или NKG2C.

Внутриклеточный костимулирующий домен CAR может быть получен из внутриклеточных доменов одной или более костимулирующих молекул. Костимулирующие молекулы хорошо известны как молекулы клеточной поверхности, отличные от антигенных рецепторов или Fc-рецепторов, которые обеспечивают второй сигнал, необходимый для эффективной активации и функционирования Т-лимфоцитов при связывании с антигеном. Примерами костимулирующих доменов, которые можно использовать в CAR, являются внутриклеточные домены 4-1BB, CD2, CD7, CD27, CD28, CD30, CD40, CD54 (ICAM), CD83, CD134 (OX40), CD150 (SLAMF1), CD152 (CTLA4), CD223 (LAG3), CD270 (HVEM), CD278 (ICOS), DAP10, LAT, NKD2C SLP76, TRIM, BTLA, GITR, CD226, HVEM и ZAP70.

Внутриклеточный сигнальный домен CAR может быть получен из сигнальных доменов, например, CD3 ζ , CD3 ϵ , CD22, CD79a, CD66d, CD39 DAP10, DAP12, гамма-цепи рецептора I Fc (FCER1G), FcR β , CD38, CD3 γ , CD5, CD226 или CD79B. "Внутриклеточный сигнальный домен" относится к части полипептида CAR, которая участвует в передаче сообщения об эффективном связывании CAR с целевым антигеном во внутреннюю часть иммунной эффекторной клетки для запуска функции эффекторной клетки, например, активации, выработки цитокинов, пролиферации и цитотоксической активности, включая высвобождение цитотоксических факторов в клетку-мишень, связанную с CAR, или других клеточных ответов, запускаемых после связывания антигена с внеклеточным доменом CAR.

Необязательный линкер CAR, расположенный между внеклеточным доменом и трансмембранным доменом, может представлять собой полипептид длиной от около 2 до около 100 аминокислот. Линкер может включать в себя гибкие остатки, такие как глицин и серин, или состоять из них, так что смежные домены белка могут свободно перемещаться относительно друг друга. Можно применять более длинные линкеры, если желательно обеспечить, чтобы два смежных домена не создавали стерических помех друг для друга. Линкеры могут быть расщепляемыми или нерасщепляемыми. Примеры расщепляемых линкеров включают линкеры 2A (например, T2A), 2A-подобные линкеры или их функциональные

эквиваленты, а также их комбинации. Линкер также может быть получен из шарнирной области или части шарнирной области любого иммуноглобулина. Не имеющие ограничительного характера примеры линкеров включают часть человеческой цепи CD8 α , частичный внеклеточный домен CD28, рецептор Fc γ R11a, IgG, IgM, IgA, IgD, IgE, шарнир Ig или его функциональный фрагмент.

Примерами CAR, которые могут быть использованы, являются, например, CAR, содержащий внеклеточный домен, который связывается с неоантигеном предстательной железы по описанию, трансмембранный домен CD8 и сигнальный домен CD3 ζ . Другие примеры CAR содержат внеклеточный домен, который связывается с неоантигеном предстательной железы по описанию, трансмембранный домен CD8 или CD28, костимулирующий домен CD28, 41BB или OX40 и сигнальный домен CD3 ζ .

CAR получают с помощью стандартных методов молекулярной биологии. Внеклеточный домен, который связывается с нужным антигеном, может быть получен из антител или их антигенсвязывающих фрагментов, полученных с использованием технологий, описанных в настоящем документе.

Секвенирование Т-клеточных рецепторов (TCR)

Могут быть получены TCR, которые связываются с комплексами неоантиген предстательной железы/HLA. TCR могут быть идентифицированы на основании связывания Т-клеток с комплексом неоантигена предстательной железы и HLA, выделения Т-клетки и секвенирования TCR, экспрессированного в Т-клетках. Идентифицированные TCR могут быть идентифицированы из $\alpha\beta$ Т-клеток или $\gamma\delta$ Т-клеток. Идентифицированные TCR могут быть дополнительно сконструированы для улучшения их аффинности, стабильности, растворимости и т.п. Аффинность TCR может созревать использованием тех же технологий, что и для аффинного созревания иммуноглобулинов. TCR могут экспрессироваться в виде растворимых TCR, которые были стабилизированы цистеином, и они могут быть стабилизированы с помощью инженерных мутаций на поверхности взаимодействия α/β , например, G192R в α -цепи и R208G в β -цепи. TCR также можно стабилизировать путем конструирования цистеиновых остатков, которые образуют дисульфидные связи в константный домен TCR, путем введения мутаций в гидрофобное ядро, например, в положениях 11, 13, 19, 21, 53, 76, 89, 91 или 94 α -цепи, использования перестановки доменов, включая перестановки между V-доменами α и β цепи, трансмембранными доменами или константными доменами, как описано в US 7329731, US 7871817B2, US 7569664, US 9133264, US 9624292, US 20120252742A1, US 2016/0130319, EP 3215164A1, EP 3286210A1, WO 2017091905A1 или US 9884075.

Клетки, экспрессирующие CAR или TCR в соответствии с настоящим описанием

Клетки, экспрессирующие CAR или TCR, которые специфически связываются с неоантигенами предстательной железы комплексов неоантиген предстательной железы/HLA настоящего описания, входят в объем настоящего описания. В настоящем описании также предложены выделенные клетки, содержащие CAR по настоящему описанию или TCR по настоящему описанию. В некоторых вариантах осуществления выделенные клетки трансдуцируют CAR или TCR по настоящему описанию, что приводит к конститутивной экспрессии CAR или TCR по настоящему описанию на поверхности клетки. Клетки, экспрессирующие CAR или TCR по настоящему описанию, могут быть дополнительно сконструированы с возможностью экспрессии одной или более костимулирующих молекул. Примерами костимулирующих молекул являются CD28, ICOS, CBET, GITR, 4-1BB и OX40. Клетки, экспрессирующие CAR или TCR по настоящему описанию, могут быть дополнительно сконструированы таким образом, чтобы продуцировать один или более цитокинов или хемокинов или провоспалительных медиаторов, таких как TNF α , IFN γ , IL-2, IL-3, IL-6, IL-7, IL-11, IL-12, IL-15, IL-17 или IL-21. Клетки могут иметь свой эндогенный локус TCR и/или инактивированный локус HLA с использованием известных технологий редактирования генов. В некоторых вариантах осуществления клетка, содержащая CAR или TCR по настоящему описанию, представляет собой Т-клетку, естественную киллерную (NK) клетку, цитотоксический Т-лимфоцит (CTL), регуляторную Т-клетку (Treg), эмбриональную стволовую клетку человека, лимфоидную клетку-предшественник, клетку-предшественник Т-клеток, плюрипотентную стволовую клетку или индуцированную плюрипотентную стволовую клетку (iPSC), из которых могут быть дифференцированы лимфоидные клетки.

В некоторых вариантах осуществления выделенная клетка, содержащая CAR или TCR по настоящему описанию, представляет собой Т-клетку. Т-клетка может представлять собой любую Т-клетку, такую как культивируемая Т-клетка, например первичная Т-клетка или Т-клетка из культивированной Т-клеточной линии, например, Jurkat, SupT1 и т.д., или Т-клетку, полученную от млекопитающего. При получении от млекопитающего Т-клетку можно получить из любого источника, включая костный мозг, кровь, лимфатический узел, тимус или другие ткани или жидкости. Т-клетки также могут быть обогащенными или очищенными. Т-клетка может представлять собой человеческую Т-клетку. Т-клетка может представлять собой Т-клетку, выделенную из человека. Т-клетка может относиться к любому типу Т-клеток и может относиться к любому этапу развития, включая двойные положительные CD4⁺CD8⁺ Т-клетки, CD8⁺ Т-клетки (например, цитотоксические Т-клетки), хелперные CD4⁺ Т-клетки, например Th1 и Th2, мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК), лейкоциты периферической крови (PBL), инфильтрирующие опухоль клетки, Т-клетки памяти,

интактные Т-клетки и т.п. Т-клетка может представлять собой CD8⁺ Т-клетку или CD4⁺ Т-клетку. Т-клетка может представлять собой αβ Т-клетку или γδ Т-клетку.

В некоторых вариантах осуществления выделенная клетка, содержащая CAR по настоящему описанию или TCR по настоящему описанию, представляет собой NK-клетку.

В некоторых вариантах осуществления выделенная клетка, содержащая CAR или TCR по настоящему описанию, представляет собой αβ Т-клетку.

В некоторых вариантах осуществления выделенная клетка, содержащая CAR или TCR по настоящему описанию, представляет собой γδ Т-клетку.

В некоторых вариантах осуществления выделенная клетка, содержащая CAR по данному описанию или TCR по данному описанию, представляет собой цитотоксический CD8⁺ Т-лимфоцит.

В некоторых вариантах осуществления выделенная клетка, содержащая CAR по настоящему описанию или TCR по настоящему описанию, представляет собой человеческую эмбриональную стволовую клетку.

В некоторых вариантах осуществления выделенная клетка, содержащая CAR по настоящему описанию или TCR по настоящему описанию, представляет собой лимфоидную клетку-предшественник.

В некоторых вариантах осуществления выделенная клетка, содержащая CAR по настоящему описанию или TCR по настоящему описанию, представляет собой плюрипотентную стволовую клетку.

В некоторых вариантах осуществления выделенная клетка, содержащая CAR по настоящему описанию или TCR по настоящему описанию, представляет собой индуцированную плюрипотентную стволовую клетку (iPSC).

Клетки по настоящему описанию могут быть получены путем введения лентивирусного вектора, содержащего необходимый CAR или TCR, в клетки с использованием известных способов. Клетки по настоящему описанию способны реплицироваться *in vivo*, что приводит к длительной персистенции, которая может приводить к устойчивому контролю опухоли.

Конъюгаты с цитотоксическими агентами, лекарственными средствами, поддающимися обнаружению метками и т.п.

Полипептиды, гетерологичный полипептид и связывающие их белковые молекулы могут быть конъюгированы с цитотоксическим агентом, терапевтическими средствами, обнаруживаемыми метками и т.п. Эти молекулы в настоящем документе называются иммуноконъюгатами. Иммуноконъюгаты, содержащие неоантигены предстательной железы, можно использовать для обнаружения, доставки полезной нагрузки или уничтожения клеток, экспрессирующих молекулу HLA, которая связывается с неоантигеном предстательной железы. Иммуноконъюгаты, содержащие антитела, антигенсвязывающие фрагменты или альтернативные каркасы, которые специфически связываются с неоантигеном предстательной железы или комплексом неоантиген предстательной железы/HLA, можно использовать для обнаружения, доставки полезной нагрузки или уничтожения клеток, которые экспрессируют неоантиген предстательной железы на своей поверхности в контексте, или более крупном белке, или в комплексе с HLA, или обнаружения внутриклеточных неоантигенов предстательной железы после лизиса клеток.

В некоторых вариантах осуществления иммуноконъюгат содержит обнаруживаемую метку.

В некоторых вариантах осуществления иммуноконъюгат дополнительно содержит цитотоксический агент.

В некоторых вариантах осуществления иммуноконъюгат содержит терапевтическое средство.

Обнаруживаемые метки включают в себя композиции, которые можно визуализировать с помощью спектроскопических, фотохимических, биохимических, иммунохимических или химических средств. Обнаруживаемые метки могут также включать цитотоксические агенты, цитотоксические агенты могут включать обнаруживаемые метки.

Примеры обнаруживаемых меток включают в себя радиоактивные изотопы, магнитные гранулы, металлические гранулы, коллоидные частицы, флуоресцентные красители, электроноплотные реагенты, ферменты (например, широко используемые в иммуноферментном анализе (ИФА)), биотин, дигоксигенин, гаптены, люминисцентные молекулы, хемилюминисцентные молекулы, флуорохромы, флуорофоры, гасящие флуоресценцию агенты, цветные молекулы, радиоактивные изотопы, сцинтиллирующие средства, авидин, стрептавидин, белок А, белок G, антитела или их фрагменты, полигистидин, Ni²⁺, Flag-маркеры, тус-маркеры, тяжелые металлы, ферменты, щелочная фосфатаза, пероксидаза, люцифераза, доноры/акцепторы электронов, сложные эфиры акридиния и колориметрические субстраты.

Обнаруживаемая метка может испускать сигнал спонтанно, например, когда обнаруживаемая метка представляет собой радиоактивный изотоп. В других случаях обнаруживаемая метка испускает сигнал в результате стимуляции внешним полем.

Примерами радиоактивных изотопов могут быть γ-излучающие, Оже-электрон-излучающие, β-излучающие, альфа-излучающие или позитрон-излучающие радиоактивные изотопы. К примерам радиоактивных изотопов относятся ³H, ¹¹C, ¹³C, ¹⁵N, ¹⁸F, ¹⁹F, ⁵⁵Co, ⁵⁷Co, ⁶⁰Co, ⁶¹Cu, ⁶²Cu, ⁶⁴Cu, ⁶⁷Cu, ⁶⁸Ga,

⁷²As, ⁷⁵Br, ⁸⁶Y, ⁸⁹Zr, ⁹⁰Sr, ^{94m}Tc, ^{99m}Tc, ¹¹⁵In, ¹²³I, ¹²⁴I, ¹²⁵I, ¹³¹I, ²¹¹At, ²¹²Bi, ²¹³Bi, ²²³Ra, ²²⁶Ra, ²²⁵Ac и ²²⁷Ac.

К примерам атомов металлов относятся металлы с атомным номером более 20, например атомы кальция, атомы скандия, атомы титана, атомы ванадия, атомы хрома, атомы марганца, атомы железа, атомы кобальта, атомы никеля, атомы меди, атомы цинка, атомы галлия, атомы германия, атомы мышьяка, атомы селена, атомы брома, атомы криптона, атомы рубидия, атомы стронция, атомы иттрия, атомы циркония, атомы ниобия, атомы молибдена, атомы технеция, атомы рутения, атомы родия, атомы палладия, атомы серебра, атомы кадмия, атомы индия, атомы олова, атомы сурьмы, атомы теллура, атомы йода, атомы ксенона, атомы цезия, атомы бария, атомы лантана, атомы гафния, атомы тантала, атомы вольфрама, атомы рения, атомы осмия, атомы иридия, атомы платины, атомы золота, атомы ртути, атомы таллия, атомы свинца, атомы висмута, атомы франция, атомы радия, атомы актиния, атомы церия, атомы празеодима, атомы неодима, атомы прометия, атомы самария, атомы европия, атомы гадолиния, атомы тербия, атомы диспрозия, атомы гольмия, атомы эрбия, атомы туллия, атомы иттербия, атомы лютеция, атомы тория, атомы протактиния, атомы урана, атомы нептуния, атомы плутония, атомы америкия, атомы кюрия, атомы берклия, атомы калифорния, атомы эйнштейния, атомы фермия, атомы менделевия, атомы нобелия или атомы лоуренсия.

В некоторых вариантах осуществления атомы металла могут представлять собой щелочно-земельные металлы с атомным номером более двадцати.

В некоторых вариантах осуществления атомы металлов могут представлять собой лантаниды.

В некоторых вариантах осуществления атомы металлов могут представлять собой актиниды.

В некоторых вариантах осуществления атомы металла могут представлять собой переходные металлы.

В некоторых вариантах осуществления атомы металла могут представлять собой постпереходные металлы.

В некоторых вариантах осуществления атомы металла могут представлять собой атомы золота, атомы висмута, атомы тантала и атомы гадолиния.

В некоторых вариантах осуществления атомы металла могут представлять собой металлы с атомным номером от 53 (т.е. йод) до 83 (т.е. висмут).

В некоторых вариантах осуществления атомы металла могут представлять собой атомы, приемлемые для магнитно-резонансной томографии.

Атомы металлов могут представлять собой ионы металлов со степенью окисления +1, +2, +3, например Ba²⁺, Bi³⁺, Cs⁺, Ca²⁺, Cr²⁺, Cr³⁺, Cr⁶⁺, Co²⁺, Co³⁺, Cu⁺, Cu²⁺, Cu³⁺, Ga³⁺, Gd³⁺, Au⁺, Au³⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, F³⁺, Pb²⁺, Mn²⁺, Mn³⁺, Mn⁴⁺, Mn⁷⁺, Hg²⁺, Ni²⁺, Ni³⁺, Ag⁺, Sr²⁺, Sn²⁺, Sn⁴⁺ и Zn²⁺. Атомы металлов могут включать в себя оксид металла, такой как оксид железа, оксид марганца или оксид гадолиния.

Приемлемые красители включают в себя любые присутствующие на рынке красители, такие как, например, 5(6)-карбоксифлуоресцеин, малеимид IRDye 680RD или IRDye 800CW, красители на основе комплекса рутения/полипиридил и т.п.

К приемлемым флуорофорам относятся флуоресцеин изотиоцианат (FITC), флуоресцеин тиосемикарбазид, родамин, Texas Red, красители CyDye (например, Cy3, Cy5, Cy5.5), красители Alexa Fluor (например, Alexa488, Alexa555, Alexa594; Alexa647), флуоресцентные красители ближнего ИК-диапазона (NIR) (700-900 нм) и карбоцианиновые и аминотирильные красители.

Иммуноконъюгаты, содержащие обнаруживаемую метку, можно использовать в качестве агента для визуализации.

В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой химиотерапевтический препарат, лекарственное средство, ингибирующий рост агент, токсин (например, токсин бактериального, грибкового, растительного или животного происхождения, обладающий ферментативной активностью, или его фрагменты) или радиоактивный изотоп (т.е. радиоактивный конъюгат).

В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой дауномицин, доксорубин, метотрексат, виндезин, бактериальные токсины, такие как дифтерийный токсин, рицин, гелданамицин, мейтансиноиды или калихеамицин. Цитотоксический агент может индуцировать цитотоксический и цитостатический эффекты посредством механизмов, включающих связывание с тубулином, связывание с ДНК или ингибирование топоизомеразы.

В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой токсин с ферментативной активностью, такой как А-цепь дифтерийного токсина, несвязывающие активные фрагменты дифтерийного токсина, А-цепь экзотоксина (из *Pseudomonas aeruginosa*), А-цепь рицина, А-цепь абрина, А-цепь модецина, альфа-сарцин, белки *Aleurites fordii*, диантиновые белки, белки *Phytolaca americana* (РАPI, РАPII и РАP-S), ингибитор *momordica charantia*, курцин, кротин, ингибитор *sapaonaria officinalis*, гелонин, митогеллин, рестриктоцин, феномицин, эномицин и трикотецены.

В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой радионуклид, такой как ²¹²Bi, ¹³¹I, ¹³¹In, ⁹⁰Y и ¹⁸⁶Re.

В некоторых вариантах осуществления цитотоксический агент представляет собой долостатины или пептидные аналоги и производные долостатина, ауристин или монометилауристин фенилаланин.

Примеры молекул описаны в патентах США № 5635483 и № 5780588. Показано, что долостатины и ауристатины блокируют динамику микротрубочек, гидролиз ГТФ и деление ядра и клетки (Woyke et al (2001) *Antimicrob Agents and Chemother.* 45(12):3580-3584) и обладают противораковой и противогрибковой активностью. Функциональная группа лекарственного средства долостатина или ауристатина может быть присоединена к антителу по изобретению, посредством N (амино) конца или C (карбоксильного) конца функциональной группы пептидного лекарственного средства (WO 02/088172) или посредством любого цистеина, искусственно внедренного в антитело.

Иммуноконъюгаты могут быть получены с использованием известных способов.

В некоторых вариантах осуществления обнаруживаемая метка находится в комплексе с хелатирующим агентом.

Обнаруживаемая метка, цитотоксический агент или терапевтическое средство могут быть связаны непосредственно или опосредованно через линкер с полипептидами, гетерологичными полипептидами или белковыми молекулами, которые связываются с полипептидами или гетерологичными полипептидами. К подходящим линкерам, известным в данной области, относятся, например, протетические группы, нефенольные линкеры (производные N-сукцинимидилбензоатов; додекарборат), хелатирующие группы как макролитических, так и ациклических хелаторов, например производные 1,4,7,10-тетраазаацетилдодекан-1,4,7,10,-тетрауксусной кислоты (DOTA), производные диэтилентриаминпентауксусной кислоты (DTPA), производные S-2-(4-изотиоцианатобензил)-1,4,7-триазаацетилдодекан-1,4,7-триуксусной кислоты (NOTA) и производные 1,4,8,11-тетраазаацетилдодекан-1,4,8,11-тетрауксусной кислоты (TETA), N-сукцинимидил-3-(2-пиридилдитиол) пропионат (SPDP), имиотиолан (IT), дифункциональные производные сложных имидоэфиров (такие как диметиладипимидат HCl), активные сложные эфиры (такие как дисукцинимидил суберат), альдегиды (такие как глутаральдегид), бис-азидные соединения (такие как бис-(п-азидобензоил)гександиамин), производные бис-диазония (такие как бис-(п-диазонийбензоил)этилендиамин), диизоцианаты (такие как толуол 2,6-диизоцианат) и бис-активные фтористые соединения (такие как 1,5-дифтор-2,4-динитробензол) и другие хелатирующие группы. Подходящие пептидные линкеры хорошо известны.

Способы лечения, применения и введения

Различные молекулы настоящего описания, которые можно применять для введения неоантигенов предстательной железы настоящего описания субъекту, например полинуклеотиды, гетерологичные полинуклеотиды, полипептиды, гетерологичные полипептиды, векторы, рекомбинантные вирусы и вакцины настоящего описания, могут применяться для лечения рака предстательной железы у субъекта. Различные молекулы настоящего описания, которые можно применять для введения неоантигенов предстательной железы настоящего описания субъекту, например полинуклеотиды, гетерологичные полинуклеотиды, полипептиды, гетерологичные полипептиды, векторы, рекомбинантные вирусы и вакцины настоящего описания, могут также применяться для профилактики рака предстательной железы у субъекта. Белковые молекулы, которые специфически связываются с неоантигенами предстательной железы настоящего описания или комплексами неоантиген предстательной железы/HLA настоящего описания, можно использовать для лечения или предотвращения рака предстательной железы у субъекта.

Неоантигены рака предстательной железы, определенные в настоящем документе, присутствуют с частотой по меньшей мере около 1% или более, около 2% или более, около 3% или более, около 4% или более, около 5% или более, около 6% или более, около 7% или более, около 8% или более, около 9% или более, около 10% или более, около 11% или более, около 12% или более, около 13% или более, около 14% или более, около 15% или более, около 16% или более, около 17% или более, около 18% или более, около 19% или более, около 20% или более, около 21% или более, около 22% или более, около 23% или более, около 24% или более, около 25% или более, около 26% или более, около 27% или более, около 28% или более, около 29% или более, около 30% или более, около 35% или более, около 40% или более, около 45% или более, около 50% или более, около 55% или более, около 60% или более, около 65% или более или около 70% или более у популяции субъектов, страдающих раком предстательной железы.

В настоящем описании также предложен способ лечения или предотвращения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества одной или более вакцин по настоящему описанию.

В настоящем описании также предложено применение вакцины по настоящему описанию для получения лекарственного средства для лечения или профилактики рака предстательной железы.

В настоящем описании также предложено применение вакцины по настоящему описанию для получения фармацевтической композиции для лечения или профилактики рака предстательной железы.

В настоящем описании также предложена вакцина по настоящему описанию для применения в лечении или профилактике рака предстательной железы.

В настоящем описании также предложен способ лечения или предотвращения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества одной или более фармацевтических композиций по настоящему описанию.

В некоторых вариантах осуществления вакцина содержит rAd26 в соответствии с настоящим описанием.

В некоторых вариантах осуществления вакцина содержит гMVA в соответствии с настоящим описанием.

В некоторых вариантах осуществления вакцина содержит гGAd в соответствии с настоящим описанием.

В некоторых вариантах осуществления вакцина содержит гGAd20 в соответствии с настоящим описанием.

В некоторых вариантах осуществления вакцина содержит гCh20 в соответствии с настоящим описанием.

В некоторых вариантах осуществления вакцина содержит гAd26 в соответствии с настоящим описанием и гMVA в соответствии с настоящим описанием.

В некоторых вариантах осуществления вакцина содержит гGAd20 в соответствии с настоящим описанием и гMVA в соответствии с настоящим описанием.

В некоторых вариантах осуществления вакцина содержит гетерологичный полипептид в соответствии с настоящим описанием.

В некоторых вариантах осуществления вакцина содержит гетерологичный полинуклеотид в соответствии с настоящим описанием.

В некоторых вариантах осуществления вакцина содержит полинуклеотид в соответствии с настоящим описанием.

В некоторых вариантах осуществления вакцина содержит полипептид в соответствии с настоящим описанием.

Предполагается, что термин "рак предстательной железы" включает в себя все типы раковых образований в предстательной железе или онкогенных процессов, метастазирования в тканях или злокачественной трансформации клеток, тканей или органов независимо от типа гистопатологии или стадии инвазивности.

В некоторых вариантах осуществления рак предстательной железы представляет собой аденокарциному.

В некоторых вариантах осуществления рак предстательной железы представляет собой метастатический рак предстательной железы. В некоторых вариантах осуществления рак предстательной железы метастазировал в прямую кишку, лимфатический узел или кость, либо их любую комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления рак предстательной железы представляет собой рецидивирующий или рефрактерный рак предстательной железы.

В некоторых вариантах осуществления рак предстательной железы представляет собой кастрационно-резистентный рак предстательной железы.

В некоторых вариантах осуществления рак предстательной железы чувствителен к андроген-депривационной терапии.

В некоторых вариантах осуществления рак предстательной железы не чувствителен к андроген-депривационной терапии.

В некоторых вариантах осуществления субъект ранее не получал лечение.

В некоторых вариантах осуществления субъект получал андрогенную депривационную терапию.

В некоторых вариантах осуществления у субъекта имеется повышенный уровень простат-специфического антигена (PSA). PSA считается повышенным у пациента, если уровень, как правило, составляет около $\geq 4,0$ нг/мл. В некоторых случаях повышенный уровень PSA может означать уровень $\geq 3,0$ нг/мл. Уровни PSA также можно сравнить с уровнями постандроген-депривационной терапии.

Андроген-депривационные терапии включают абиратерон, кетоконазол, энзалутамид, галетерон, ARN-509 и ортеронел (ТАК-700) или простатэктомия.

В настоящем описании также предложен способ лечения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества первой вакцины, содержащей гAd26 по настоящему описанию, в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту терапевтически эффективного количества второй вакцины, содержащей гMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; таким образом происходит лечение рака предстательной железы у субъекта.

В настоящем описании также предложен способ лечения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества первой вакцины, содержащей гGAd по настоящему описанию в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту терапевтически эффективного количества второй вакцины, содержащей гMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; таким образом происходит лечение рака предстательной железы у субъекта.

В настоящем описании также предложен способ лечения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества первой вакцины, содержащей гGAd20 по настоящему описанию, в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту терапевтически эффективного количества второй вакцины, содержащей гMVA по настоящему описанию,

для бустирования иммунного ответа; таким образом происходит лечение рака предстательной железы у субъекта.

В настоящем описании также предложен способ профилактики рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества первой вакцины, содержащей rAd26 по настоящему описанию, в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту терапевтически эффективного количества второй вакцины, содержащей rMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; таким образом предотвращают рак предстательной железы у субъекта.

В настоящем описании также предложен способ профилактики рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества первой вакцины, содержащей rGAd по настоящему описанию в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту терапевтически эффективного количества второй вакцины, содержащей rMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; таким образом предотвращают рак предстательной железы у субъекта.

В настоящем описании также предложен способ профилактики рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества первой вакцины, содержащей rGAd20 по настоящему описанию, в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту терапевтически эффективного количества второй вакцины, содержащей rMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; таким образом предотвращают рак предстательной железы у субъекта.

В настоящем описании также предложен способ усиления иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту иммунологически эффективного количества первой вакцины, содержащей rAd26 по настоящему описанию, в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту иммунологически эффективного количества второй вакцины, содержащей rMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; тем самым усиливая иммунный ответ у субъекта.

В настоящем описании также предложен способ усиления иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту иммунологически эффективного количества первой вакцины, содержащей rGAd по настоящему описанию, в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту иммунологически эффективного количества второй вакцины, содержащей rMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; тем самым усиливая иммунный ответ у субъекта.

В настоящем описании также предложен способ усиления иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту иммунологически эффективного количества первой вакцины, содержащей rGAd20 по настоящему описанию, в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту иммунологически эффективного количества второй вакцины, содержащей rMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; тем самым усиливая иммунный ответ у субъекта.

В настоящем описании также предложен способ лечения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества первой вакцины, содержащей rAd26 по настоящему описанию, в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту терапевтически эффективного количества второй вакцины, содержащей rMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; таким образом лечение рака предстательной железы у субъекта, причем rAd26 и rMVA содержат гетерологичный полинуклеотид, кодирующий один или более полипептидов SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

В настоящем описании также предложен способ лечения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества первой вакцины, содержащей rGAd по настоящему описанию в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту терапевтически эффективного количества второй вакцины, содержащей rMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; таким образом лечение рака предстательной железы у субъекта, причем rGAd и rMVA содержат гетерологичный полинуклеотид, кодирующий один или более полипептидов SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29,

31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

В настоящем описании также предложен способ лечения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества первой вакцины, содержащей rGAd20 по настоящему описанию, в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту терапевтически эффективного количества второй вакцины, содержащей gMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; таким образом лечение рака происходит лечение рака предстательной железы у субъекта, причем rGAd20 и gMVA содержат гетерологичный полинуклеотид, кодирующий один или более полипептидов SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

В настоящем описании также предложен способ профилактики рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества первой вакцины, содержащей rAd26 по настоящему описанию, в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту терапевтически эффективного количества второй вакцины, содержащей gMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; тем самым предотвращая рак предстательной железы у субъекта, причем rAd26 и gMVA содержат гетерологичный полинуклеотид, кодирующий один или более полипептидов SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

В настоящем описании также предложен способ профилактики рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества первой вакцины, содержащей rGAd по настоящему описанию в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту терапевтически эффективного количества второй вакцины, содержащей gMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; таким образом предотвращая рак предстательной железы у субъекта, причем rGAd и gMVA содержат гетерологичный полинуклеотид, кодирующий один или более полипептидов SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

В настоящем описании также предложен способ профилактики рака предстательной железы у

субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества первой вакцины, содержащей rGAd20 по настоящему описанию, в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту терапевтически эффективного количества второй вакцины, содержащей rMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; таким образом предотвращая рак предстательной железы у субъекта, причем rGAd20 и rMVA содержат гетерологичный полинуклеотид, кодирующий один или более полипептидов SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

В настоящем описании также предложен способ усиления иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту иммунологически эффективного количества первой вакцины, содержащей rAd26 по настоящему описанию, в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту иммунологически эффективного количества второй вакцины, содержащей rMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; тем самым усиливая иммунный ответ у субъекта, причем rAd26 и rMVA содержат гетерологичный полинуклеотид, кодирующий один или более полипептидов с SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

В настоящем описании также предложен способ усиления иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту иммунологически эффективного количества первой вакцины, содержащей rGAd по настоящему описанию, в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту иммунологически эффективного количества второй вакцины, содержащей rMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; тем самым усиливая иммунный ответ у субъекта, причем rGAd и rMVA содержат гетерологичный полинуклеотид, кодирующий один или более полипептидов SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277, 279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

В настоящем описании также предложен способ усиления иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту иммунологически эффективного количества первой вакцины, содержащей rGAd20 по настоящему описанию, в качестве праймирования иммунного ответа; и введение субъекту иммунологически эффективного количества второй вакцины, содержащей rMVA по настоящему описанию, для бустирования иммунного ответа; тем самым усиливая иммунный ответ у субъекта, причем rGAd20 и rMVA содержат гетерологичный полинуклеотид, кодирующий один или более полипептидов SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167, 169, 171, 173, 175, 177, 179, 181, 183, 185, 187, 189, 191, 193, 195, 197, 199, 201, 203, 205, 207, 209, 211, 213, 215, 217, 219, 221, 223, 225, 227, 229, 231, 233, 235, 237, 239, 241, 243, 245, 247, 249, 251, 253, 255, 257, 259, 261, 263, 265, 267, 269, 271, 273, 275, 277,

279, 281, 283, 285, 287, 289, 291, 293, 295, 297, 299, 301, 303, 305, 307, 309, 311, 313, 315, 317, 319, 321, 323, 325, 327, 329, 331, 333, 335, 337, 339, 341, 343, 345, 347, 349, 351, 353, 355, 357, 359, 361, 363, 365, 367, 369, 371, 373, 375, 379, 381, 383, 385, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446 или 447, или их фрагменты.

В некоторых вариантах осуществления субъект предположительно имеет или предположительно у субъекта может развиваться рак предстательной железы.

Вакцины по настоящему описанию, как правило, можно вводить путем внутримышечной или подкожной инъекции. Однако также можно применять и другие способы введения, такие как внутривенный, кожный, внутрикожный или назальный. Внутримышечное введение вакцин может быть выполнено с помощью иглы. Альтернативным вариантом является применение инъекционного устройства без иглы для введения композиции (с использованием, например, Biojector™) или сублимированного порошка композиции агента.

Для внутривенной, кожной или подкожной инъекции или инъекции в пораженное место композиция агента может находиться в форме приемлемого для парентерального введения водного раствора, который не содержит пирогенов и имеет приемлемый pH, изотоничность и стабильность. Специалисты в данной области легко могут получить приемлемые растворы, используя, например, изотонические несущие среды, такие как инъекция хлорида натрия, инъекция раствора Рингера, инъекция раствора Рингера с лактатом. При необходимости можно включить консерванты, стабилизаторы, буферы, антиоксиданты и/или другие добавки. Можно также использовать состав с медленным высвобождением.

Как правило, введение будет иметь профилактическую цель формирования иммунного ответа против неоантигенов предстательной железы до развития симптомов рака предстательной железы.

Вакцины по настоящему описанию вводят субъекту, что приводит к иммунному ответу у субъекта. Количество вакцины, вызывающей обнаруживаемый иммунный ответ, определяется как "иммунологически эффективная доза". Вакцины по настоящему описанию могут индуцировать гуморальный, а также клеточно-опосредованный иммунный ответ. В типичном варианте осуществления иммунный ответ представляет собой защитный иммунный ответ.

Фактическое вводимое количество, а также скорость и динамика введения будут зависеть от характера и тяжести объекта лечения. Назначения лечения, например, решение о дозировке и т.д., находятся в пределах ответственности врачей общей практики и других медицинских специалистов и, как правило, учитывают расстройство, подлежащее лечению, состояние конкретного пациента, место доставки, способ введения и другие известные медработникам факторы.

В одном примере схемы лечения аденовирусный вектор вводят (например, внутримышечно) в объеме от приблизительно 100 мкл до приблизительно 10 мл, содержащем концентрации от приблизительно 10^4 до 10^{12} вирусных частиц/мл. Аденовирусный вектор может вводиться в объеме от 0,25 до 1,0 мл, например в объеме 0,5 мл.

Аденовирус можно вводить человеческому индивиду в количестве от около 10^9 до около 10^{12} вирусных частиц (VP) во время одного введения, более типично в количестве от около 10^{10} до около 10^{12} VP.

В одном примере схемы лечения введение гMVA по настоящему описанию (например, внутримышечно) в объеме, варьирующемся в диапазоне от около 100 мкл до около 10 мл физиологического раствора, содержащего дозу от около 1×10^7 TCID₅₀ до 1×10^9 TCID₅₀ (50%-ная инфицированная тканевая культура) или Inf.U. (Единица инфицирования). гMVA можно вводить в объеме в диапазоне от 0,25 до 1,0 мл.

Стимулирующие композиции можно вводить два или более раз, через недели или месяцы после введения праймирующей композиции, например через от около 1 или 2 недель, или 3 недель, или 4 недель, или 6 недель, или 8 недель, или 12 недель, или 16 недель, или 20 недель, или 24 недель, или 28 недель, или 32 недель, или от одного до двух лет после введения праймирующей композиции. Дополнительные бустерные композиции можно вводить через от 6 недель до 5 лет после стадии бустирования (b), например через 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 или 25 недель, или 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев, или 2, 3, 4 или 5 лет после первоначальной бустерной инокуляции. Необязательно дополнительный бустерный этап (c) можно повторять один или более раз по мере необходимости.

Комбинации неоантигенов предстательной железы для терапии вакциной

Выявленные неоантигены, описанные в настоящем документе, могут быть дополнительно проверены с определением их приоритета для включения в универсальную вакцину против рака простаты. Факторами включения являются, например, более высокая экспрессия в тканях рака предстательной железы в сравнении с нормальной тканью предстательной железы и другими нормальными тканями (такими как печень, почки, поджелудочная железа, яичник, предстательная железа, молочная железа, толстая кишка, желудок, скелетные мышцы и легкие) или невыявляемая экспрессия в нормальных тканях, способность неоантигенов или их фрагментов опосредовать активацию

T-клеток CD8⁺ в известных анализах, связывание с HLA, продемонстрированный *in vivo* процессинг и представление HLA фрагментов пептидов, полученных из неоантигенов, и достаточная распространенность у субъектов с раком предстательной железы.

В процессе валидации 41 неоантигена (SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177), было определено на основании профиля экспрессии, распространенности и иммуногенности *in vitro*, что они особенно полезны для включения в вакцину против рака предстательной железы. Ожидается, что для создания вакцины от рака предстательной железы можно использовать любую комбинацию 41 неоантигена, которую можно доставлять субъекту с использованием любых доступных средств доставки и любой доступной формы, такой как пептиды, ДНК, РНК, репликоны или с использованием вирусной доставки. 41 неоантиген может быть собран в гетерологичные полинуклеотиды, кодирующие гетерологичные полипептиды, в любом порядке неоантигенов, и порядок неоантигенов может отличаться для различных вариантов доставки. Как правило, сборка неоантигенов в конкретный порядок может быть основана на генерировании минимального количества соединительных эпитопов с использованием известных алгоритмов. Примерами порядков неоантигенов являются порядки, обеспечивающие гетерологичные полипептиды SEQ ID NO: 541, 550, 554, 555, 556, 623, 624, 543, 552, 557, 558, 559, 625 или 626, как описано в настоящем документе и во всех других примерах.

В настоящем описании предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, причем гетерологичный полипептид содержит два или более полипептида, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотида, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 276, 382, 334, 338, 270, 254, 310, 326, 272, 306, 252, 246, 262, 266, 318, 256, 278, 298, 286, 448, 450, 453, 455, 380, 344, 212, 350, 214, 216, 222, 220, 226, 346, 354, 236, 224, 168, 172, 20, 24 и 178, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат полипептиды SEQ ID NO: 387, 388, 390, 392, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710 или 711.

В некоторых вариантах осуществления вакцина способна индуцировать клеточный иммунный ответ у пациента, которому вводили вакцину.

В некоторых вариантах реализации клеточный иммунный ответ специфичен к фрагменту одного или более полипептидов с SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 или 177.

В некоторых вариантах осуществления клеточный иммунный ответ представляет собой активацию специфичных к вакцине CD8⁺ Т-клеток, CD4⁺ Т-клеток или CD8⁺ Т-клеток и CD4⁺ Т-клеток, причем активацию оценивают по повышенной продукции TNF α , IFN γ или TNF α и IFN γ CD8⁺ Т-клетками, CD4⁺ Т-клетками или CD8⁺ Т-клетками и CD4⁺ Т-клетками.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит промотор, энхансер, сайт полиаденилирования, последовательность Козак, стоп-кодон, Т-клеточный энхансер (TCE) или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления промотор содержит промотор CMV или промотор осповакцины P7.5.

В некоторых вариантах осуществления TCE кодируется полинуклеотидом SEQ ID NO: 546, промотор CMV содержит полинуклеотид SEQ ID NO: 628, промотор осповакцины P7.5 содержит полинуклеотид SEQ ID NO: 630, а сайт полиаденилирования содержит сайт полиаденилирования бычьего гормона роста SEQ ID NO: 629.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 541, 550, 554, 555, 556, 623 или 624.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит полинуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 542 или SEQ ID NO: 551.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 543, 552, 557, 558, 559, 625 или 626.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит полинуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 544 или SEQ ID NO: 553.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид представляет собой ДНК или РНК.

В некоторых вариантах осуществления РНК представляет собой мРНК или самореплицирующуюся РНК.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 541.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 550.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 554.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 555.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 556.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 623.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 624.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 542.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 551.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 543.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 552.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 557.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 558.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 559.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 625.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 626.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 544.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 553.

В некоторых вариантах осуществления вакцина представляет собой рекомбинантный вирус.

В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный вирус получают из аденовируса (Ad), поксвируса, аденоассоциированного вируса (AAV) или ретровируса.

В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный вирус получают из hAd5, hAd7, hAd11, hAd26, hAd34, hAd35, hAd48, hAd49, hAd50, GAd20, Gad19, GAd21, GAd25, GAd26, GAd27, GAd28, GAd29, GAd30, GAd31, ChAd3, ChAd4, ChAd5, ChAd6, ChAd7, ChAd8, ChAd9, ChAd10, ChAd11, ChAd16, ChAd17, ChAd19, ChAd20, ChAd22, ChAd24, ChAd26, ChAd30, ChAd31, ChAd37, ChAd38, ChAd44, ChAd55, ChAd63, ChAd73, ChAd82, ChAd83, ChAd146, ChAd147, PanAd1, PanAd2, PanAd3, вируса осповакцины Копенгаген (W), аттенуированного вируса осповакцины Нью-Йорк (NYVAC), ALVAC, TROVAC или модифицированного вируса осповакцины Анкара (MVA)

В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный вирус получают из GAd20.

В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный вирус, полученный из Gad20, содержит полинуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 713.

В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный вирус получают из MVA.

В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный вирус получают из hAd26.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 541, причем вакцина представляет собой рекомбинантный вирус, полученный из GAd20.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 550, причем вакцина представляет собой рекомбинантный вирус, полученный из GAd20.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид,

381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов, в качестве бустирования; тем самым обеспечивая лечение или предотвращение рака предстательной железы у субъекта.

В настоящем описании также предложен способ лечения или предотвращения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту

первой вакцины, содержащей первый гетерологичный полинуклеотид, кодирующий первый гетерологичный полипептид, причем первый гетерологичный полипептид содержит два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177; и

второй вакцины, содержащей второй гетерологичный полинуклеотид, кодирующий второй гетерологичный полипептид, причем второй гетерологичный полипептид содержит два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177.

В настоящем описании также предложен способ лечения или предотвращения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту

первой вакцины, содержащей первый гетерологичный полинуклеотид, кодирующий первый гетерологичный полипептид, причем первый гетерологичный полипептид содержит два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177; и

второй вакцины, содержащей второй гетерологичный полинуклеотид, кодирующий второй гетерологичный полипептид, причем второй гетерологичный полипептид содержит два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177; при этом первый гетерологичный полипептид и второй гетерологичный полипептид имеют разные аминокислотные последовательности.

В некоторых вариантах осуществления полипептиды организованы в первом порядке и во втором порядке.

В некоторых вариантах осуществления полипептиды, организованные в первый порядок, содержат гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 541 или SEQ ID NO: 550.

В некоторых вариантах осуществления полипептиды, организованные во второй порядок, содержат гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 543 или SEQ ID NO: 552.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид представляет собой ДНК или РНК.

В некоторых вариантах осуществления РНК представляет собой мРНК или самореплицирующуюся РНК.

В некоторых вариантах осуществления вакцина представляет собой рекомбинантный вирус.

В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный вирус получают из аденовируса, поксвируса, аденоассоциированного вируса или ретровируса.

В некоторых вариантах осуществления полипептиды, организованные в первый порядок, кодируются полинуклеотидом SEQ ID NO: 542 или SEQ ID NO: 551.

В некоторых вариантах осуществления полипептиды, организованные во второй порядок, кодируются полинуклеотидом SEQ ID NO: 544 или SEQ ID NO: 553.

В некоторых вариантах осуществления прайм содержит рекомбинантный вирус, полученный из GAd20, содержащий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 541 или SEQ ID NO: 550.

В некоторых вариантах осуществления буст содержит рекомбинантный вирус, полученный из MVA, содержащий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 543 или SEQ ID NO: 552.

В настоящем описании также предложен способ лечения или предотвращения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту

первой вакцины, содержащей первый гетерологичный полинуклеотид, кодирующий первый гетерологичный полипептид, причем первый гетерологичный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 541, 550, 554, 555, 556, 623 или 624; и

второй вакцины, содержащей второй гетерологичный полинуклеотид, кодирующий второй гетерологичный полипептид, причем второй гетерологичный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 543, 552, 557, 558, 559, 625 или 626.

В настоящем описании также предложен способ лечения или предотвращения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту

первой вакцины, содержащей первый гетерологичный полинуклеотид, кодирующий первый гетерологичный полипептид, причем первый гетерологичный полипептид содержит аминокислотную

гетерологичный полипептид, причем второй гетерологичный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 552, причем вторая вакцина представляет собой рекомбинантный MVA для применения для индуцирования иммунного ответа.

В некоторых вариантах осуществления субъект имеет, предположительно имеет или предположительно у субъекта может развиваться рак предстательной железы. Диагностирование рака предстательной железы проводится лицензированным врачом.

В некоторых вариантах осуществления рак предстательной железы представляет собой рецидивирующий, рефрактерный, метастатический или кастрационно-резистентный рак предстательной железы или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления субъект ранее не получал лечение.

В некоторых вариантах осуществления субъект получал андрогенную депривационную терапию.

В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят субъекту один или более раз.

В некоторых вариантах осуществления вторую вакцину вводят субъекту один или более раз.

В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят в промежутке около 1-16 недель перед введением второй вакцины. В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят приблизительно за 1 неделю перед введением второй вакцины. В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят приблизительно за 2 недели перед введением второй вакцины. В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят приблизительно за 3 недели перед введением второй вакцины. В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят приблизительно за 4 недели перед введением второй вакцины. В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят приблизительно за 5 недель перед введением второй вакцины. В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят приблизительно за 6 недель перед введением второй вакцины. В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят приблизительно за 7 недель перед введением второй вакцины. В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят приблизительно за 8 недель перед введением второй вакцины. В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят приблизительно за 9 недель перед введением второй вакцины. В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят приблизительно за 10 недель перед введением второй вакцины. В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят приблизительно за 11 недель перед введением второй вакцины. В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят приблизительно за 12 недель перед введением второй вакцины. В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят приблизительно за 13 недель перед введением второй вакцины. В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят приблизительно за 14 недель перед введением второй вакцины. В некоторых вариантах осуществления первую вакцину вводят приблизительно за 16 недель перед введением второй вакцины.

В некоторых вариантах осуществления рак предстательной железы представляет собой рецидивирующий, рефрактерный, метастатический или кастрационно-резистентный рак предстательной железы или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления способ дополнительно включает введение субъекту дополнительного противоракового терапевтического средства.

Комбинированные терапии

Вакцины в соответствии с настоящим описанием можно использовать в комбинации с по меньшей мере одним дополнительным противораковым терапевтическим агентом для лечения рака предстательной железы.

Дополнительное противораковое терапевтическое средство может представлять собой хирургическое вмешательство, химиотерапию, андроген-депривационную терапию, лучевую терапию, таргетную терапию или ингибитор контрольной точки или любую их комбинацию.

Примерами химиотерапевтических агентов являются алкилирующие агенты; нитрозомочевины; антиметаболиты; противоопухолевые антибиотики; растительные алкалоиды; таксаны; гормональные агенты; и различные агенты, такие как бусульфан, карбоплатин, хлорамбуцил, цисплатин, циклофосфамид, дакарбазин, ифосфамид, мехлоретамин гидрохлорид, мелфалан, прокарбазин, тиотепа, урациловый иприт, 5-фторурацил, 6-меркаптопурин, капецитабин, цитозина арабинозид, флоксурин, флударабин, гемцитабин, метотрексат, тиогуанин, дактиномицин, даунорубин, доксорубин, идарубин, митомицин-С и митоксантрон, винбластин, винкристин, виндезин, винорелбин, паклитаксел, доцетаксел.

Примеры андроген-депривационных терапевтических средств включают ацетат абиратерона, кетоконазол, энзалутамид, галетерон, ARN-509 и ортеронел (ТАК-700) и хирургическое удаление яичек.

Радиационную терапию можно проводить с помощью различных способов, включая дистанционную радиационную терапию, внутреннюю радиационную терапию, облучение с имплантатом, стереотаксическую радиохирургию, системную радиационную терапию, радиотерапию и постоянную или временную интерстициальную брахитерапию. К дистанционной радиационной терапии относятся трехмерная, конформная радиационная терапия, в которой формируется поле облучения, местное облучение (например, облучение, направленное на выбранную мишень или орган) или

сфокусированное облучение. Сфокусированное облучение можно выбирать из стереотаксической радиохирургии, фракционированной стереотаксической радиохирургии или радиационной терапии с модуляцией интенсивности. В качестве источника радиации при сфокусированном облучении может использоваться пучок частиц (протоны), кобальт-60 (фотоны), линейный ускоритель (рентгеновские лучи) (например, см. WO 2012/177624). Термин "брахитерапия" относится к радиационной терапии с источником в пространственно-ограниченном радиоактивном материале, введенном в организм в или рядом с опухолью или другим местом пролиферативного заболевания ткани, и включает в себя воздействие радиоактивных изотопов (например, At-211, I-131, I-125, Y-90, Re-186, Re-188, Sm-153, Bi-212, P-32 и радиоактивных изотопов Lu). Приемлемые источники излучения для применения при кондиционировании клеток включают в себя как твердые вещества, так и жидкости. Источник излучения может представлять собой радионуклид, такой как твердые источники I-125, I-131, Yb-169, Ir-192, твердый источник I-125 или другие радионуклиды, которые испускают фотоны, бета-частицы, гамма-излучение или другие терапевтические лучи. Радиоактивный материал также может представлять собой жидкость из любого раствора радионуклида (-ов), например, раствора I-125 или I-131, или радиоактивную жидкость, которую можно получить из взвеси малых частиц приемлемых твердых радионуклидов, таких как Au-198, Y-90, в жидкости. Радионуклид(-ы) можно заключать в гель или в радиоактивные микросферы.

Таргетная терапия включает антиандрогенную терапию, ингибиторы ангиогенеза, такие как бевацизумаб, анти-PSA или анти-PSMA антитела или вакцины, усиливающие иммунные ответы на PSA или PSMA.

Примерами ингибиторов контрольных точек являются антагонисты PD-1, PD-L1, PD-L2, VISTA, BTLA, VISTA, B7-H3, B7-H4, HVEM, HHLA2, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, BTLA, CD160, CEACAM-1, LAIR1, TGF β , IL-10, белок семейства Siglec, KIR, CD96, TIGIT, NKG2A, CD112, CD47, SIRPA или CD244. Термин "антагонист" относится к молекуле, которая при связывании с клеточным белком подавляет по меньшей мере одну реакцию или тип активности, индуцируемые естественным лигандом белка. Молекула является антагонистом, если происходит подавление по меньшей мере одной реакции или типа активности на по меньшей мере около 30%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100% по сравнению с подавлением по меньшей мере одной реакции или типа активности в отсутствие антагониста (например, отрицательный контроль) или когда подавление является статистически значимым по сравнению с подавлением в отсутствие антагониста. Антагонистом может быть антитело, растворимый лиганд, малая молекула, ДНК или РНК, такая как мРНК. Примеры антагонистов ингибиторов контрольных точек описаны в патентной публикации США № 2017/0121409.

В некоторых вариантах осуществления одну или более вакцин в соответствии с настоящим описанием вводят в комбинации с антителом к CTLA-4, лигандом CTLA4, ингибитором оси PD-1, ингибитором оси PD-L1, агонистом TLR, агонистом CD40, агонистом OX40, гидроксимочевинной, руксолитинибом, федратинибом, агонистом 41BB, агонистом aa CD28, антагонистом STING, антагонистом RIG-1, терапией TCR-T, терапией CAR-T, лигандом FLT3, сульфатом алюминия, ингибитором BTK, антителом к CD38, ингибитором CDK, антителом к CD33, антителом к CD37, антителом к CD25, ингибитором GM-CSF, IL-2, IL-15, IL-7, молекулами перенаправления CD3, помалимубом, IFN γ , IFN α , TNF α , антителом к VEGF, антителом к CD70, антителом к CD27, антителом к VCMA, антителом к GPRC5D или любой их комбинацией.

В некоторых вариантах осуществления ингибитор контрольной точки представляет собой ипилимумаб, цетрелимаб, пембролизумаб, ниволумаб, синтилимаб, цемиплимаб, торипалимаб, камрелизумаб, тислелизумаб, дострелимаб, спартализумаб, пролголимаб, АК-105, HLX-10, балстилимаб, MEDI-0680, HX-008, GLS-010, BI-754091, genolimzumab, АК-104, MGA-012, F-520, 609A, LY-3434172, AMG-404, SL-279252, SCT-I10A, RO-7121661, ICTCAR-014, MEDI-5752, CS-1003, XmAb-23104, Sym-021, LZM-009, hAB21, BAT-1306, MGD-019, JTX-4014, будигалимаб, XmAb-20717, АК-103, MGD-013, IBI-318, сасанлимаб, CC-90006, авелумаб, атезолизумаб, дурвалумаб, CS-1001, бинафусп альфа, энвалфолимаб, CX-072, GEN-1046, GS-4224, KL-A167, BGB-A333, SHR-1316, CBT-502, IL-103, KN-046, ZKAB-001, CA-170, TG_1501, LP-002, INCB-86550, ADG-104, SHR-1701, BCD-135, IMC-001, MSB-2311, FPT-155, FAZ-053, HLX-20, иодаполимаб, FS-118, BMS-986189, АК-106, MCLA-145, IBI-318, СК-301 или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления одну или более вакцин в соответствии с настоящим описанием вводят в комбинации со следующими средствами: ипилимумаб, цетрелимаб, пембролизумаб, ниволумаб, синтилимаб, цемиплимаб, торипалимаб, камрелизумаб, тислелизумаб, дострелимаб, спартализумаб, пролголимаб, балстилимаб, будиглимаб, сасанлимаб, авелумаб, атезолизумаб, дурвалумаб, энвалфолимаб, иодаполимаб или любая их комбинация.

Наборы

В настоящем описании также предложен набор, содержащий первую вакцину, содержащую рекомбинантный вирус, полученный из GAd20, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 541, 550, 554,

555, 556, 623 или 624; и

вторую вакцину, содержащую рекомбинантный вирус, полученный из MVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 543, 552, 557, 558, 559, 625 или 626.

В настоящем описании также предложен набор, содержащий

первую вакцину, содержащую рекомбинантный вирус, полученный из GAd20, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 541; и

вторую вакцину, содержащую рекомбинантный вирус, полученный из MVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 543.

В настоящем описании также предложен набор, содержащий

первую вакцину, содержащую рекомбинантный вирус, полученный из GAd20, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 550; и

вторую вакцину, содержащую рекомбинантный вирус, полученный из MVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 552.

Гетерологичные полипептиды, кодирующие или гетерологичные полипептиды, содержащие комбинацию выбранных неоантигенов предстательной железы

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из

AS18, содержащего аминокислотную последовательность WKFEMSYTVGGPPPHVHARPRHWKTDR (SEQ ID NO: 275);

P87, содержащего аминокислотную последовательность YEAGMTLGGKILFFLLPLSPFSLIF (SEQ ID NO: 381);

AS55, содержащего аминокислотную последовательность DGHSYTSKVNCLLLQDGFHGCVSITGAAGRRNLSIFLFLMLCKLEFHAC (SEQ ID NO: 333);

AS57, содержащего аминокислотную последовательность TGGKSTCSAPGPQSLPSTPFSTYPQWVILITEL (SEQ ID NO: 337);

AS15, содержащего аминокислотную последовательность VLRFLDLKVRYLHS (SEQ ID NO: 269);

AS7, содержащего аминокислотную последовательность DYWAQKEKGSSSFLRPS (SEQ ID NO: 253);

AS43, содержащего аминокислотную последовательность VPFRELKNVSVLEGLRQGRLLGGPCSCHCPR-PSQARLTPVDVAGPFLCLGDPGLFPPVKSSI (SEQ ID NO: 309);

AS51, содержащего аминокислотную последовательность GMECTLGQVGAPSPREEDG-WRGGHSRFBKADVPAQGPCWGGQPGSAPSSAPPEQSLLD (SEQ ID NO: 325);

AS16, содержащего аминокислотную последовательность GNTTLQQLGEASQAP-SGSLIPLRLPLLWEVRG (SEQ ID NO: 271);

AS41, содержащего аминокислотную последовательность EAFQRAAGEGGPGRGGAR-RGARVLQSPFCRAGAGEWLGHQSLR (SEQ ID NO: 305);

AS6, содержащего аминокислотную последовательность DYWAQKEKISIPRTHLC (SEQ ID NO: 251);

AS3, содержащего аминокислотную последовательность VAMMVPDRQVHYDFGL (SEQ ID NO: 245);

AS11, содержащего аминокислотную последовательность VPFRELKNQRTAQGAP-GIINHAASPVAANLCDPARHAQHTRIPCGAGQVRAGRPEAGGGVLQPQRPAPEKPGCPCRRGQPRLHT VKMWRA (SEQ ID NO: 261);

AS13, содержащего аминокислотную последовательность KRSFAVTERII (SEQ ID NO: 265);

AS47, содержащего аминокислотную последовательность FKKFDGPCGERGG-GRTARALWARGDSVLTPALDPQTPVRAPSLTRAAAV (SEQ ID NO: 317);

AS8, содержащего аминокислотную последовательность LVLGVLSGHSGRSL (SEQ ID NO: 255);

AS19, содержащего аминокислотную последовательность QWQHYSRSGEAGTPLWRPTRN (SEQ ID NO: 277);

AS37, содержащего аминокислотную последовательность CHLFLQPQVGTP-PPHTASARAPSGPPHPHESCPAGRRPARAAQTARRQHGLPGCEEAGTARVPSLHLHLHQAALGAGRG RGWGEACAQVPPSRG (SEQ ID NO: 297);

AS23, содержащего аминокислотную последовательность KIQNKNCPLD (SEQ ID NO: 285);

MS1, содержащего аминокислотную последовательность HYKLIQQPISLFSITDRLHKTFS-QLPSVHLCSITFQWGHPIFCSTNDICVTANFCISVTFLKPCFLLHEASASQ (SEQ ID NO: 437);

MS3, содержащего аминокислотную последовательность RTALTHNQDFSIYRLC-CKRGSLCHASQARSPAFPKPVRPLPAPITRITPQLGGQSDSSQDPLLTGRPQGWQDQALRHTQQASPASC ATITIPIHSAALGDHSGDPGPAWDTCPPLPLTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCGPLG (SEQ ID NO: 439);

MS6, содержащего аминокислотную последовательность YAYKDFLWCFPSL-VFLQEIQCCHVSCCLCCICSTRICLGCLELFLSRALRALHVLWNGFQLHCQ (SEQ ID NO: 442);

MS8, содержащего аминокислотную последовательность TMPAILKLQKNCLLSL (SEQ ID NO: 444);

444); и

P82, содержащего аминокислотную последовательность YEAGMTLGEKFRVGNCKHLKMTRP (SEQ ID NO: 379), а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления выделенный гетерологичный полипептид дополнительно содержит один или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из:

P16, содержащего аминокислотную последовательность GVPGDSTRRAVRRMNTF (SEQ ID NO: 343);

FUS1, содержащего аминокислотную последовательность CGASACDVSLIAMDSA (SEQ ID NO: 211);

P22, содержащего аминокислотную последовательность SLYHREKQLIAMDSAI (SEQ ID NO: 349);

FUS2, содержащего аминокислотную последовательность TEYNQKLQVNQFSESK (SEQ ID NO: 213);

FUS3, содержащего аминокислотную последовательность TEISCCTLSSEENEYLPRPEWQLQ (SEQ ID NO: 215);

FUS6, содержащего аминокислотную последовательность CEERGAAGSLISCE (SEQ ID NO: 221);

FUS5, содержащего аминокислотную последовательность NSKMALNSEALSJVSE (SEQ ID NO: 219);

FUS8, содержащего аминокислотную последовательность WGMELAASRRFSWDH-HSAGGPPRVPSVRSAGAAQVQPKDPLPLRTLGLARTAHLRPGAESLPQQLHCT (SEQ ID NO: 225);

FUS15, содержащего аминокислотную последовательность HVVGYGHLDTSGSSSSSSWP (SEQ ID NO: 345);

P35, содержащего аминокислотную последовательность NSKMALNSLNSIDDAQLTRI-APPRSHCCFWEVNAP (SEQ ID NO: 353);

FUS19, содержащего аминокислотную последовательность KMHFSLKEHPPPPCPP (SEQ ID NO: 235); и

FUS7, содержащего аминокислотную последовательность LWFQSSELSPTGAPWPSR-RPTWRGTTVSPRTATSSARTCCGKWPSSQEAALGLGSLLRFCGTAIR (SEQ ID NO: 223), а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий один или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из

P16, содержащего аминокислотную последовательность GVPGDSTRRAVRRMNTF (SEQ ID NO: 343);

FUS1, содержащего аминокислотную последовательность CGASACDVSLIAMDSA (SEQ ID NO: 211);

P22, содержащего аминокислотную последовательность SLYHREKQLIAMDSAI (SEQ ID NO: 349);

FUS2, содержащего аминокислотную последовательность TEYNQKLQVNQFSESK (SEQ ID NO: 213);

FUS3, содержащего аминокислотную последовательность TEISCCTLSSEENEYLPRPEWQLQ (SEQ ID NO: 215);

FUS6, содержащего аминокислотную последовательность CEERGAAGSLISCE (SEQ ID NO: 221);

FUS5, содержащего аминокислотную последовательность NSKMALNSEALSJVSE (SEQ ID NO: 219);

FUS8, содержащего аминокислотную последовательность WGMELAASRRFSWDH-HSAGGPPRVPSVRSAGAAQVQPKDPLPLRTLGLARTAHLRPGAESLPQQLHCT (SEQ ID NO: 225);

FUS15, содержащего аминокислотную последовательность HVVGYGHLDTSGSSSSSSWP (SEQ ID NO: 345);

P35, содержащего аминокислотную последовательность NSKMALNSLNSIDDAQLTRI-APPRSHCCFWEVNAP (SEQ ID NO: 353);

FUS19, содержащего аминокислотную последовательность KMHFSLKEHPPPPCPP (SEQ ID NO: 235); и

FUS7, содержащего аминокислотную последовательность LWFQSSELSPTGAPWPSR-RPTWRGTTVSPRTATSSARTCCGKWPSSQEAALGLGSLLRFCGTAIR (SEQ ID NO: 223), а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления выделенный гетерологичный полипептид дополнительно содержит один или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из

AS18, содержащего аминокислотную последовательность WKFEMSYTVG-GPPPHVHARPRHWKTDR (SEQ ID NO: 275);

P87, содержащего аминокислотную последовательность YEAGMTLGGKILFFLLPLSPFSLIF (SEQ ID NO: 381);

AS55, содержащего аминокислотную последовательность DGHSYTSKVNCLLLQDGFHGCVSITGAAGRRNLSIFLFLMLCKLEFHAC (SEQ ID NO: 333);

AS57, содержащего аминокислотную последовательность TGGKSTCSAPGPQSLPS-

TPFSTYPQWVILITEL (SEQ ID NO: 337);

AS15, содержащего аминокислотную последовательность VLRFLDLKVRYLHS (SEQ ID NO: 269);

AS7, содержащего аминокислотную последовательность DYWAQKEKGSSSFLRPS (SEQ ID NO: 253);

AS43, содержащего аминокислотную последовательность VPFRELKNVSVLEGLRQGRGGPCSCHCPRPSQARLTPVDVAGPFLCLGDPGLFPPVKSSI (SEQ ID NO: 309);

AS51, содержащего аминокислотную последовательность GMECTLGQVGAAPSRRREEDGWRGGHSRKFADVPAPQGPCWGGQPGSAPSSAPPEQSLD (SEQ ID NO: 325);

AS16, содержащего аминокислотную последовательность GNTTLQQLGEASQAPSGSLIPLRLPLLWEVRG (SEQ ID NO: 271);

AS41, содержащего аминокислотную последовательность EAFQRAAGEGGPGRGGARRGARVLQSPFCRAGAGEWLGHQSLR (SEQ ID NO: 305);

AS6, содержащего аминокислотную последовательность DYWAQKEKISIPRTHLC (SEQ ID NO: 251);

AS3, содержащего аминокислотную последовательность VAMMVPDRQVHYDFGL (SEQ ID NO: 245);

AS11, содержащего аминокислотную последовательность VPFRELKNQRQAQAGPIHHAASPVAAANLCDPARHAQHTRIPCGAGQVRAGRGPEAGGGVLPQRPAPKPGCPCRRGQPRLHTVKMWA (SEQ ID NO: 261);

AS13, содержащего аминокислотную последовательность KRSFAVTERII (SEQ ID NO: 265);

AS47, содержащего аминокислотную последовательность FKKFDGPCGERGGRTARALWARGDSVLTPALDPQTPVRAPSLTRAAAV (SEQ ID NO: 317);

AS8, содержащего аминокислотную последовательность LVLGVLSGHSRSL (SEQ ID NO: 255);

AS19, содержащего аминокислотную последовательность QWQHYHRSGEAAGTPLWRPTRN (SEQ ID NO: 277);

AS37, содержащего аминокислотную последовательность CHLFLQPQVGTTPPHNTASARAPSGPPHPHESCPAGRRPARAAQTCAARRQHGLPGCEEAGTARVPSLHLHLHQAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRG (SEQ ID NO: 297);

AS23, содержащего аминокислотную последовательность KIQNKNCPPD (SEQ ID NO: 285);

MS1, содержащего аминокислотную последовательность HYKLIQQPISLFSITDRHLKTFSQLPSVHLCISITFQWGHPIFCSTNDICVTANFCISVTFLKPCFLLHEASASQ (SEQ ID NO: 437);

MS3, содержащего аминокислотную последовательность RTALTHNQDFSIYRLCCKRGLCHASQARSPAFPKPVRPLPAPITRITPQLGGQSDSSQPLLTGRPQGWQDQALRHTQQASPASCATITPIHSAALGDHSGDPGPAWDTCPPLPLTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCGLG (SEQ ID NO: 439);

MS6, содержащего аминокислотную последовательность YAYKDFLWCFFSLVFLQEIQICCHVSCLCICCCSTRICLGCLLEFLSRALRALHVLWNGFQLHCQ (SEQ ID NO: 442);

MS8, содержащего аминокислотную последовательность TMPAILKLQKNCLLSL (SEQ ID NO: 444); и

P82, содержащего аминокислотную последовательность YEAGMTLGEKFRVGNCKHLKMTRP (SEQ ID NO: 379), а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления выделенный гетерологичный полипептид дополнительно содержит один или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из

M84, содержащего аминокислотную последовательность IARELHQFAFDLLIKSH (SEQ ID NO: 167);

M86, содержащего аминокислотную последовательность QPDSFAALHSSLNELGE (SEQ ID NO: 171);

M10, содержащего аминокислотную последовательность FVQKDWGLKKFIRRDF (SEQ ID NO: 19);

M12, содержащего аминокислотную последовательность FVQKDWGVKKFIRRDF (SEQ ID NO: 23); и

FR1, содержащего аминокислотную последовательность QNLQNGGSRSSATLPGRRRRRWLRRRRQPISVAPAGPPRRPNQKPNPPGGARCVMRPTWPGTSAFT (SEQ ID NO: 177), а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из

полинуклеотидной последовательности TGGAAATTCGAGATGAGCTACACGGTGGGTGGCCCGCCTCCCATGTTTCATGCTAGACCCAGGCATTGGAAAAGTATAGA (SEQ ID NO: 276) (кодирует AS18);

полинуклеотидной последовательности TATGAAGCAGGGATGACTCTGGGAGGTA-AGATACTTTTCTTTCTCTCCTCCTCCTCCTCTCTCCCCCTTCTCCCTCATTTTC (SEQ ID NO: 382) (кодирует P87);

полинуклеотидной последовательности GATGGCCACTCCTACACATCCAAGGTGAATTGTTACTCCTTCAAGATGGGTTCCATGGCTGTGTGAGCATCACCGGGGCAGCTGGAAGAAGAAACCTGAGCATCTTCTGTTCTTGATGCTGTGCAAATTGGAGTTCCATGCTTGT (SEQ ID NO: 334) (кодирует AS55);

полинуклеотидной последовательности ACAGGGGGCAAAGCACCTGCTCGGCTCCTGGCC-CTCAGTCTCTCCCCTCCACTCCATTCTCCACCTACCCACAGTGGGTCATTCTGATCACCGAACTG (SEQ ID NO: 338) (кодирует AS57);

полинуклеотидной последовательности GTGCTGCGCTTTCTGGACTTAAAGGTGAGATAC-CTGCACTCT (SEQ ID NO: 270) (кодирует AS15);

полинуклеотидной последовательности GACTACTGGGCTCAAAGGAGAAGGGATCATCTTCAT-TCCTGCGACCATCCTGT (SEQ ID NO: 254) (кодирует AS7);

полинуклеотидной последовательности GTGCCCTTCCGGGAGCTCAAGAACGTGAGTGTCTTG-AGAGGGCTCCGTCAAGGCCGGCTTGGGGTCCCTGTTTCACTGCTCAAGACCTTCCCAGGCCAGGCTCACGCCAGTGGATGTGGCAGGTCCCTTCTTGTGTCTGGGGGATCCTGGGCTGTTCCCCCA GTCAAGAGCAGTATC (SEQ ID NO: 310) (кодирует AS43);

полинуклеотидной последовательности GGCATGGAGTGCACCCTGGGGCAGGTGGGTGCCCC-GTCCCCCTCGGAGGGAGGAGGACGGTTGGCGTGGGGGCCACAGCCGATTCAAGGCTGATGTACCAGCACCGCAGGGACCCTGCTGGGGTGGCCAACCTGGCTCTGCCCCCTCCTCAGCTCCTCCTGAACAGT CATATTAGAT (SEQ ID NO: 326) (кодирует AS51);

полинуклеотидной последовательности GGCAACACCACCCTCCAGCAGCTGGGTGAG-GCCTCCAGGCGCCTCAGGCTCCCTCATCCCTCTGAGGCTGCCTCTGCTCTGGGAAGTGAGGGGC ((SEQ ID NO: 272) (кодирует AS16);

полинуклеотидной последовательности GAGGCCTTCCAGAGGGCCGCTGGTGAGGGCGGCCCGGGCCGCGGTGGGGCACGGCGCGGTGCCAG GGTGTTGCAGAGCCCCCTTTTGCAGGGCAGGAGCTGGGGAGTGGTTAGGACATCAGTCCCTCAGG (SEQ ID NO: 306) (кодирует AS41);

полинуклеотидной последовательности GACTACTGGGCTCAAAGGAGAAGATCAGCATCCC- CAGAACACACCTGTGT (SEQ ID NO: 252) (кодирует AS6);

полинуклеотидной последовательности GTTGCTATGATGGTTCCTGATAGACAGGTTTCAT- TATGACTTTGGATTG (SEQ ID NO: 246) (кодирует AS3);

полинуклеотидной последовательности GTGCCCTTCCGGGAGCTCAAGAACCAGAGAACAG- CACAAGGGCTCCTGGGATCCACCACGCGGCTTCCCCGTTGCTGCCAACCTCTGCGACCCGGCGA GACACGCACAGCACACACGCATCCCCTGCGGCGCTGGCCAAAGTGCCTGCTGGCCGAGGTCCCAGAA GCAGGTGGTGGAGTACTACAGCCACAGAGCCTGCCCCGAGAAGCCTGGGTGTCCCTGCCGGAG AGGCCAGCCCAGGCTGCACACCGTGAAGATGTGGAGGGCG (SEQ ID NO: 262) (кодирует AS11);

полинуклеотидной последовательности AAGAGAAGTTTTGCTGTACGGAGAGGATCATC (SEQ ID NO: 266) (кодирует AS13);

полинуклеотидной последовательности TTCAAGAAGTTCGACGGCCCTTGTGGTGA- GCGCGGCGGGGCGCACGGCTCGAGCTCTGTGGGCGCGGGCGACAGCGTCTGACTCCTGCCCT CGACCCCCAGACCCCTGTCAGGGCGCCCTCCCTGACCCGAGCCGACGCTGCCGTG (SEQ ID NO: 318) (кодирует AS47);

полинуклеотидной последовательности CTTGTACTTGGTGTATTGAGCGGGCACAGTGG- CTCACGCCTA (SEQ ID NO: 256) (кодирует AS8);

полинуклеотидной последовательности CAGTGGCAGCACTACCACCGGTCAGGTGAGGCCGACGGGACTCCCCTCTGGAGACCCACAAGAAA C (SEQ ID NO: 278) (кодирует AS19);

полинуклеотидной последовательности TGCCACCTCTTCTGCAGCCCCAGGTTGGCACC- CCCCCCCCCACACTGCCAGTGCTCGAGCCCCAGTGGTCCACCCACCCCTCATGAAAGTTGCCCT GCAGGGCGAAGACCTGCGAGAGCTGCGCAGACATGTGCACGCCGACAGCACGGACTTCTGGCTG TGAAGAGGCTGGTACAGCGCGTGTCCCAGCCTGCACCTGCACCTGCACCAGGCCGCCCTCGGAGC AGGAAGGGGGCCGTGGGTGGGGAGAGGCCTGTGCCAAAGTACCCCCCTCAAGAGGC (SEQ ID NO: 298) (кодирует AS37);

полинуклеотидной последовательности AAAATTCAGAATAAAAATTGTCCAGAC (SEQ ID NO: 286) (кодирует AS23);

полинуклеотидной последовательности CACTACAAATTAATTCAACAACCCATATCC- STTCTTCCATCACTGATAGGCTCCATAAGACGTTTCACTGAGTGCCTCGGTCCATCTCTGCTCAA TCACCTTCCAGTGGGGACACCCGCCATTTTCTGCTCAACAAATGATATCTGTGTACGGCCAACTT CTGCATCTCGGTCACATTCCTTAAACCGTGCTTCTCCTACATGAGGCATCTGCCTCACAG (SEQ ID NO: 448) (кодирует MS1);

полинуклеотидной последовательности AGGACCGCCCTGACACACAATCAGGACT-TCTCTATCTACAGGCTCTGTTGCAAGAGGGGGTCCCTCTGCCACGCTTCCCAGGCCAGATCCCCGGC TTTCCCGAAGCCGGTCAGACCTTCTCCTGCCCCCATCACCAGAATCACCCCCAACTGGGGGGACA ATCTGACTCGAGTCAACCCCTTCTACTACGGGAAGACCTCAGGGGTGGCAAGATCAAGCTCTTAG ACACACCCAGCAAGCCAGTCTGCCTCTGTGCCACCATCACCATTCCCATCCACTCAGCTGCCCTT GGTGACCACTCCGGAGACCTGGTCCAGCCTGGGACACCTGCCCGCCGCTGCCGCTCACTACCTC ATCCCCGAGCTCCCCCGCGTATGGAGACAGCACTGCCAGGTCTGGCCCTCCCGCTGTGGGCC CTCGGC (SEQ ID NO: 450) (кодирует MS3);

полинуклеотидной последовательности TATGCTTACAAGGACTTTCTCTGGTGTTTTC-STTTTTCTTTAGTTTTTCTCCAAGAGATTCAAATCTGCTGCCATGTTAGCTGTCTTTGCTGTATCTGC TGTAGTACACGAATATGCCTTGGCTGTTTGCTTGGAGCTTTTTCTATCCCGTGTCTTTCGTGCTCTTCA TGTCTTTGGAATGGCTTTCAACTTCATTGTCAA (SEQ ID NO: 453) (кодирует MS6);

полинуклеотидной последовательности ACCATGCCTGCTATTTTAAAGTTACAGAAGAATTGTCTTCTCTCCTTA (SEQ ID NO: 455) (кодирует MS8); и

полинуклеотидной последовательности TATGAAGCAGGGATGACTCTGGGAGAAAAATTCCG-GGTTGGCAATTGCAAGCATCTCAAATGACCAGACCC (SEQ ID NO: 380) (кодирует P82); и их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления выделенный гетерологичный полинуклеотид дополнительно содержит один или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из

полинуклеотидной последовательности GGAGTTCAGGAGATTCAACCAGGAGAGCAG-TGAGGAGAATGAATACCTTC (SEQ ID NO: 344) (кодирует P16);

полинуклеотидной последовательности TGCGGGGCCTCTGCCTGTGATGTCTCC-CTCATTTGCTATGGACAGTGCT (SEQ ID NO: 212) (кодирует FUS1);

полинуклеотидной последовательности TCCCTCTACCACCGGGAGAAGCAG-CTCATTTGCTATGGACAGTGCTATC (SEQ ID NO: 350) (кодирует P22);

полинуклеотидной последовательности ACCGAATACAACCAGAAATTACA-AGTGAATCAATTTAGTGAATCCAAA (SEQ ID NO: 214) (кодирует FUS2);

полинуклеотидной последовательности ACAGAAATTTTCATGTTGCACCCTGAGCAGTGAGGAGAATGAATACCTTCCAAGACCAGAGTGGCA GCTCCAG (SEQ ID NO: 216) (кодирует FUS3);

полинуклеотидной последовательности TGTGAGGAGCGCGGCAGGAAGCCTTATCAGTTGTGAG (SEQ ID NO: 222) (кодирует FUS6);

полинуклеотидной последовательности AACAGCAAGATGGCTTTGAACTCAGAAGCCTTATCAGTTGTGAGTGA (SEQ ID NO: 220) (кодирует FUS5);

полинуклеотидной последовательности TGGGGGATGGAGTTGGCAGCGTCTCGGAGGT-TCTCCTGGGACCACCACTCCGCCGGGGGGCCGCCAGAGTGCCAAGCGTCCGATCCGGCGCCGCC AAGTGCAGCCCAAGGACCCGCTCCCGCTCCGCACCCTGGCAGGCTGCCTAGCCAGGACTGCGCACC TGCGCCCTGGGGCGGAGTCTTACCCCAACCCAGCTTCACTGCACA (SEQ ID NO: 226) (кодирует FUS8);

полинуклеотидной последовательности CACGTGGTGGGCTATGGCCACCTTGATACT-TCCGGGTCACTCCTCCTCCTCCTGGCCC (SEQ ID NO: 346) (кодирует FUS15);

полинуклеотидной последовательности AACAGCAAGATGGCTTTGAACTCATTAACTCCATTGATGATGCACAGTTGACAAGAATTGCCCT CCAAGATCTCATTTGCTGTTTCTGGGAAGTAAACGCTCCT (SEQ ID NO: 354) (кодирует P35);

полинуклеотидной последовательности AAAATGCACTTCTCCCTCAAGGAGCACCCACCGCCCCCTTGCCCCCT (SEQ ID NO: 236) (кодирует FUS19); и

полинуклеотидной последовательности CTGTGGTTCCAGAGCAGTGAGCTGTCCCCGACGG-GAGCGCCATGGCCCAGCCGCCCGACGTGGAGGGGGACGACTGTCTCCCCGCGTACCGCCACCT STTCTGCCCGACCTGCTGCGGGACAAAGTGGCCTTATCACAGGAGGCGGCTCTGGGATTGGGTT CCGGATTGCTGAGATTTTTCATGCGGCACGGCTGCCATACGG (SEQ ID NO: 224) (кодирует FUS7), а также и их фрагментов.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из

полинуклеотидной последовательности GGAGTTCAGGAGATTCAACCAGGAGAG-CAGTGAGGAGAATGAATACCTTC (SEQ ID NO: 344) (кодирует P16);

полинуклеотидной последовательности TGCGGGGCCTCTGCCTGTGATGTCTCC-CTCATTTGCTATGGACAGTGCT (SEQ ID NO: 212) (кодирует FUS1);

полинуклеотидной последовательности TCCCTCTACCACCGGGAGAAGCAGCTCAT-TGCTATGGACAGTGCTATC (SEQ ID NO: 350) (кодирует P22);

GTTCAATTATGACTTTGGATTG (SEQ ID NO: 246) (кодирует AS3);

полинуклеотидную последовательность GTGCCCTCCGGGAGCTCAAGAACCAGAGA-ACAGCACAAAGGGCTCCTGGGATCCACCACGCGGCTTCCCCCGTTGCTGCCAACCTCTGCGACCCGCGAGACACGCACAGCACACACGCATCCCCTGCGGCGCTGGCCAAGTGCGTGCTGGCCGAGGTCCGAAGCAGGTGGTGGAGTACTACAGCCACAGAGGCCTGCCCCCGAGAAGCCTGGGTGTCCCTGCCGGAGAGGCCAGCCCAGGCTGCACACCGTGAAGATGTGGAGGGCG (SEQ ID NO: 262) (кодирует AS11);

полинуклеотидную последовательность AAGAGAAGTTTTGCTGTACGGAGAGGATCATC (SEQ ID NO: 266) (кодирует AS13);

полинуклеотидную последовательность TTCAAGAAGTTCGACGGCCCTTGTGGTGAGCGCG-GCGGCGGGCGCACGGCTCGAGCTCTGTGGGCGCGCGGCGACAGCGTCCTGACTCCTGCCCTCGACC CCCAGACCCCTGTACAGGGCGCCCTCCCTGACCCGAGCCGACAGCTGCCGTG (SEQ ID NO: 318) (кодирует AS47);

полинуклеотидную последовательность CTTGTAAGTGGTGTATTGAGCGGGCACA-GTGGCTCACGCCTA (SEQ ID NO: 256) (кодирует AS8);

полинуклеотидную последовательность CAGTGGCAGCACTACCACCGGTCAGGTGAGGC-CGCAGGGACTCCCCTTGGAGACCCACAAGAAAC (SEQ ID NO: 278) (кодирует AS19);

полинуклеотидную последовательность TGCCACCTTCTCAGCCCCAGGTTGGCACCCCCCCCCCCCCACACTGCCAGTGCTCGAGCCCCCA GTGGTCCACCCACCTCATGAAAGTTGCCCTGCAGGGCGAAGACCTGCGAGAGCTGCGCAGACAT GTGCACGCCGACAGCACGGACTTCTGGCTGTGAAGAGGCTGGTACAGCGCGTGTTCACAGCCTGC ACCTGCACCTGCACCAGGCCGCCCTCGGAGCAGGAAGGGGCCGTGGGTGGGAGAGGCCTGTGCC CAAGTACCCCTCAAGAGGC (SEQ ID NO: 298) (кодирует AS37);

полинуклеотидную последовательность AAAATTCAGAATAAAAATTGTCCAGAC (SEQ ID NO: 286) (кодирует AS23);

полинуклеотидную последовательность CACTACAAATTAATTCAACAACCCATATCCCTCT-TCTCCATCACTGATAGGCTCCATAAGACGTTTCAAGTCACTGCCCCTCGGTCATCTCTGCTCAATCAC STTCCAGTGGGGACACCCGCCATTTTCTGCTCAACAAATGATATCTGTGTCACGGCCAACCTTCTGC ATCTCGGTACATTCCTTAAACCGTGTTCCTCCTACATGAGGCATCTGCCTCACAG (SEQ ID NO: 448) (кодирует MS1);

полинуклеотидную последовательность AGGACCGCCCTGACACACAATCAGGACTTCTCTATC-TACAGGCTCTGTTGCAAGAGGGGGTCCCTCTGCCACGTTCCCAGGCCAGATCCCCGGCTTTCCCG AAGCCGGTCAGACCTTCTCCTGCCCCATCACCAGAATCACCSCCAACTGGGGGGACAATCTGAC TCGAGTCAACCCCTTCTCACTACGGGAAGACCTCAGGGGTGGCAAGATCAAGTCTTAGACACACC CAGCAAGCCAGTCTGCTCTTGTGCCACCATCACCATTCCCCTCAGCTGCCCCTTGGTGACC ACTCCGGAGACCTGGTCCAGCCTGGGACACTGCCCGCCGCTGCCCTCACTACCTCATCCCC GAGTCCCCCGCCGTATGGAGACAGCACTGCCAGGTCCTGGCCCTCCCGCTGTGGGCCCTCGGC (SEQ ID NO: 450) (кодирует MS3);

полинуклеотидную последовательность TATGCTTACAAGGACTTTCTCTGGTGTTCCTT-TTTCTTTAGTTTTTCTCCAAGAGATTCAAATCTGCTGCCATGTTAGCTGTCTTTGCTGTATCTGCTGT AGTACACGAATATGCCTTGGCTGTTTGGCTTGGACTTTTTCTATCCCGTGTCTTCGTGCTCTTCATGT TCTTTGGAATGGCTTTCAACTTCATTGTCAA (SEQ ID NO: 453) (кодирует MS6);

полинуклеотидную последовательность ACCATGCCTGCTATTTTAAAGTTACAGAAGA-ATTGTCTTCTCTCCTTA (SEQ ID NO: 455) (кодирует MS8); и

полинуклеотидную последовательность TATGAAGCAGGGATGACTCTGGGAGAAAA-ATTCCGGGTTGGCAATTGCAAGCATCTCAAATGACCAGACCC (SEQ ID NO: 380) (кодирует P82), а также и их фрагменты.

В некоторых вариантах осуществления выделенный гетерологичный полинуклеотид дополнительно содержит один или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из

полинуклеотидной последовательности ATTGCGAGAGAGCTGCATCAGTTTCGCTTT-TGACCTGCTAATCAAGTCACAC (SEQ ID NO: 168) (кодирует M84);

полинуклеотидной последовательности CAGCCCGACTCCTTTGCAGCCTTGCCTCTAGC-STCAATGAACTGGGAGAG (SEQ ID NO: 172) (кодирует M86);

полинуклеотидной последовательности TTTGTGCAAGGCAAAGACTGGGGATTA-AAGAAATTCATCCGTAGAGATTTT (SEQ ID NO: 20) (кодирует M10);

полинуклеотидной последовательности TTTGTGCAAGGCAAAGACTGGGGAGTCA-AGAAATTCATCCGTAGAGATTTT (SEQ ID NO: 24) (кодирует M12); и

полинуклеотидной последовательности CAGAACCTGCAGAATGGAGGGGGGAGCAGGTCT-TCAGCCACACTCCGGGGCGGGCGGGCGGCGGTGGCTGCGGCGGGCGGCAGCCAATATCAGT AGCTCCTGCGGGGCCCTCGCCGACCAAAACCAAAACCAACCCACCTGGCGGTGCGAGGTGTG TGATTATGAGACCAACGTGGCCAGGAACCTCCGCATTCACA (SEQ ID NO: 178) (кодирует FR1); и их фрагментов.

В настоящем описании также предложен гетерологичный полинуклеотид, кодирующий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 276, 382, 334, 338, 270, 254, 310, 326, 272, 306, 252, 246, 262, 266, 318, 256, 278, 298, 286, 448, 450, 453, 455, 380, 344, 212, 350, 214, 216, 222, 220, 226, 346, 354, 236, 224, 168, 172, 20, 24 и 178, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498 и 499, а также их фрагментов. Полинуклеотиды используются для экспрессии в аденовирусе.

В настоящем описании также предложен гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 и 540, а также их фрагментов. Полинуклеотиды используются для экспрессии в MVA.

Например, гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 542, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 541, может использоваться для создания вакцин против рака предстательной железы на основе аденовируса, например, на основе rGAd20. В альтернативном варианте осуществления гетерологичные полинуклеотиды, кодирующие гетерологичные полипептиды SEQ ID NO: 550, 554, 555, 556, 623 или 624 также можно применять в вакцинах на основе аденовирусов. В дополнение к гетерологичному полинуклеотиду, кодирующему комбинацию из 41 неоантигена, к 5'- или 3'-концу гетерологичного полинуклеотида могут быть присоединены дополнительные посредники, такие как регуляторные последовательности, метки и т.п. Примеры посредников включают промотор CMV, промотор осповакцины P7.5, репрессор TetO, последовательность Козак, полинуклеотид, кодирующий Т-клеточный энхансер (TCE), полинуклеотид, кодирующий гистидиновую метку, один или более стоп-кодонов, сигнал полиаденилирования или промоторную последовательность. Примеры полинуклеотидных последовательностей элементов посредника содержат промотор CMVTetO, содержащий SEQ ID NO: 628, последовательность Козак, содержащую SEQ ID NO: 545, полинуклеотид, кодирующий TCE, содержащий SEQ ID NO: 546, полинуклеотид, кодирующий гистидиновую метку, содержащую SEQ ID NO: 547, сайт полиаденилирования BGH, содержащий SEQ ID NO: 629, один или более стоп-кодонов, содержащих полинуклеотидную последовательность TAGTAA, промотор CMV, содержащий полинуклеотид SEQ ID NO: 628, или промотор осповакцины P7.5, содержащий полинуклеотид SEQ ID NO: 630. Таким образом, гетерологичный полинуклеотид, содержащий одну или более дополнительных вспомогательных последовательностей, содержит полинуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 551, кодирующую полипептид SEQ ID NO: 550.

В некоторых вариантах осуществления выделенный гетерологичный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 541.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полипептид кодируется гетерологичным полинуклеотидом SEQ ID NO: 542.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид дополнительно содержит один или более вспомогательных элементов.

В некоторых вариантах осуществления вспомогательные элементы включают промотор, энхансер, сайт полиаденилирования, последовательность Козак, стоп-кодон, Т-клеточный энхансер (TCE) или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления последовательность Козак содержит SEQ ID NO: 545, полинуклеотид, кодирующий TCE, содержит SEQ ID NO: 546, полинуклеотид, кодирующий гистидиновую метку, содержит SEQ ID NO: 547, а один или более стоп-кодонов содержат полинуклеотидную последовательность TAGTAA.

В некоторых вариантах осуществления TCE кодируется полинуклеотидом SEQ ID NO: 546, промотор CMV содержит полинуклеотид SEQ ID NO: 628, промотор осповакцины P7.5 содержит полинуклеотид SEQ ID NO: 630, а сайт полиаденилирования содержит сайт полиаденилирования бычьего гормона роста SEQ ID NO: 629.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 550.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полипептид кодируется гетерологичным полинуклеотидом SEQ ID NO: 551.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 554.

В некоторых вариантах осуществления выделенный гетерологичный полипептид содержит

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 555.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 556.

В некоторых вариантах осуществления выделенный гетерологичный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 623.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 624.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид представляет собой ДНК. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид представляет собой РНК. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид представляет собой мРНК. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид представляет собой самореплицирующуюся РНК.

Гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 544, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 543, может использоваться для конструирования вакцин против рака предстательной железы на основе MVA. В альтернативном варианте осуществления гетерологичные полипептиды SEQ ID NO: 557, 558, 559, 625 или 626 также могут быть использованы. В дополнение к гетерологичному полинуклеотиду, кодирующему комбинацию из 41 неоантигена, к 5'- или 3'-концу гетерологичного полинуклеотида могут быть присоединены дополнительные посредники, такие как регуляторные последовательности, метки и т.п. Примеры посредников включают последовательность Козак, полинуклеотид, кодирующий энхансер Т-клеток (ТСЕ), полинуклеотид, кодирующий гистидиновую метку, один или более стоп-кодонов, сигнал полиаденилирования или промоторную последовательность. Примеры полинуклеотидных последовательностей элементов посредника включают последовательность Козак, содержащую SEQ ID NO: 545, полинуклеотид, кодирующий ТСЕ, содержащий SEQ ID NO: 546, полинуклеотид, кодирующий гистидиновую метку, содержащую SEQ ID NO: 547, и один или более стоп-кодонов, содержащих полинуклеотидную последовательность TAGTAA. Таким образом, гетерологичный полинуклеотид, содержащий одну или более дополнительных вспомогательных элементов, содержит полинуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 553, кодирующую полипептид SEQ ID NO: 552.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 543.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полипептид кодируется гетерологичным полинуклеотидом SEQ ID NO: 544.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид дополнительно содержит один или более вспомогательных элементов.

В некоторых вариантах осуществления вспомогательные элементы включают промотор, энхансер, сайт полиаденилирования, последовательность Козак, стоп-кодон, Т-клеточный энхансер (ТСЕ) или любую их комбинацию.

В некоторых вариантах осуществления последовательность Козак содержит SEQ ID NO: 545, полинуклеотид, кодирующий ТСЕ, содержит SEQ ID NO: 546, полинуклеотид, кодирующий гистидиновую метку, содержит SEQ ID NO: 547, а один или более стоп-кодонов содержат полинуклеотидную последовательность TAGTAA.

В некоторых вариантах осуществления ТСЕ кодируется полинуклеотидом SEQ ID NO: 546, промотор CMV содержит полинуклеотид SEQ ID NO: 628, промотор осповакцины P7.5 содержит полинуклеотид SEQ ID NO: 630, а сайт полиаденилирования содержит сайт полиаденилирования бычьего гормона роста SEQ ID NO: 629. В некоторых вариантах осуществления выделенный гетерологичный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 552.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полипептид кодируется гетерологичным полинуклеотидом SEQ ID NO: 553.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 557.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 558.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 559.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 625.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полипептид, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 626.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид представляет собой ДНК. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид представляет собой РНК. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид представляет собой мРНК. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид представляет собой

самореплицирующуюся РНК.

Один или более фрагментов 41 неоантигена предстательной железы (SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177) также можно использовать для создания вакцины против рака предстательной железы, если один или более фрагментов являются иммуногенными. Примерами таких фрагментов, которые можно использовать, являются полипептиды SEQ ID NO: 387, 388, 390, 392, 405, 406, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709. Иммуногенность фрагментов можно протестировать с использованием анализов, описанных в настоящем документе.

В некоторых вариантах осуществления первый N-концевой аминокислотный остаток фрагмента отсутствует.

В настоящем описании также предложен выделенный гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид в соответствии с настоящим описанием.

В некоторых вариантах осуществления первый 5'-кодон фрагмента отсутствует.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 276, 382, 334, 338, 270, 254, 310, 326, 272, 306, 252, 246, 262, 266, 318, 256, 278, 298, 286, 448, 450, 453, 455, 380, 344, 212, 350, 214, 216, 222, 220, 226, 346, 354, 236, 224, 168, 172, 20, 24 и 178, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498 и 499, а также их фрагментов. Полинуклеотиды используются для экспрессии в аденовирусе.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 541. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит полинуклеотид SEQ ID NO: 542.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 542.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 550. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит полинуклеотид SEQ ID NO: 551.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 551.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 554.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 555.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 556.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 623.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 624.

В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой вирусный вектор.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой аденовирусный вектор.

В некоторых вариантах реализации аденовирусный вектор получают из аденовируса человека, необязательно из Ad5, Ad7, Ad11, Ad26, Ad34, Ad35, Ad48, Ad49 или Ad50.

В некоторых вариантах осуществления аденовирусный вектор получают из Ad26.

В некоторых вариантах реализации аденовирусный вектор получают из аденовируса человекообразных обезьян, необязательно из GAd20, GAd19, GAd21, GAd25, GAd26, GAd27, GAd28, GAd29, GAd30, GAd31, ChAd3, ChAd4, ChAd5, ChAd6, ChAd7, ChAd8, ChAd9, ChAd10, ChAd1, ChAd16, ChAd17, ChAd19, ChAd20, ChAd22, ChAd24, ChAd26, ChAd30, ChAd31, ChAd37, ChAd38, ChAd44,

ChAd55, ChAd63, ChAd73, ChAd82, ChAd83, ChAd146, ChAd147, PanAd1, PanAd2 или PanAd3.

В некоторых вариантах осуществления аденовирусный вектор получают из GAd20.

В настоящем описании также предложен rGAd20, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен rGAd20, содержащий гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 276, 382, 334, 338, 270, 254, 310, 326, 272, 306, 252, 246, 262, 266, 318, 256, 278, 298, 286, 448, 450, 453, 455, 380, 344, 212, 350, 214, 216, 222, 220, 226, 346, 354, 236, 224, 168, 172, 20, 24 и 178, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен rGAd20, содержащий гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498 и 499, а также их фрагментов. Полинуклеотиды используются для экспрессии в аденовирусе.

В настоящем описании также предложен rGAd20, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид с SEQ ID NO: 541. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит (SEQ ID NO: 542).

В настоящем описании также предложен rGAd20, содержащий гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 542.

В настоящем описании также предложен rGAd20, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид с SEQ ID NO: 550. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит (SEQ ID NO: 551).

В настоящем описании также предложен rGAd20, содержащий гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 551.

В настоящем описании также предложен rGAd20, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид с SEQ ID NO: 554.

В настоящем описании также предложен rGAd20, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид с SEQ ID NO: 555.

В настоящем описании также предложен rGAd20, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид с SEQ ID NO: 556.

В настоящем описании также предложен rGAd20, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид с SEQ ID NO: 623.

В настоящем описании также предложен rGAd20, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид с SEQ ID NO: 624.

В настоящем описании также предложена клетка, содержащая или трансдуцированная rGAd20, причем rGAd20 содержит

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов;

гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498 и 499, а также их фрагментов;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 541;

гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 542;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 550;

гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 551;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 554;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 555;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 556;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 623; или

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 624.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая rGAd20, причем rGAd20 содержит:

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов;

гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473,

474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498 и 499, а также их фрагментов;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 541;

гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 542;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 550;

гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 551;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 554;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 555;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 556;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 623; или

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 624.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 276, 382, 334, 338, 270, 254, 310, 326, 272, 306, 252, 246, 262, 266, 318, 256, 278, 298, 286, 448, 450, 453, 455, 380, 344, 212, 350, 214, 216, 222, 220, 226, 346, 354, 236, 224, 168, 172, 20, 24 и 178, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 и 540, а также их фрагментов. Полинуклеотиды используются для экспрессии в MVA.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 543. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит SEQ ID NO: 544.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 544.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 552. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит SEQ ID NO: 553.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 553.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 557.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 558.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 559.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 625.

В настоящем описании также предложен вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 626.

В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой вирусный вектор.

В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой MVA.

В некоторых вариантах осуществления вектор MVA получают из MVA 476 MG/14/78, MVA-571, MVA-572, MVA-574, MVA-575 или MVA-BN.

В настоящем описании также предложен гMVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептида, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов;

В настоящем описании также предложен гMVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 276, 382, 334, 338, 270, 254, 310, 326, 272, 306, 252, 246, 262, 266, 318, 256, 278, 298, 286, 448, 450, 453, 455, 380, 344, 212, 350, 214, 216, 222, 220, 226, 346, 354, 236, 224, 168, 172, 20, 24 и 178, а также их фрагментов.

В настоящем описании также предложен гMVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 и 540, а также их фрагментов. Полинуклеотиды используются для экспрессии в MVA.

В настоящем описании также предложен гMVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид с SEQ ID NO: 543. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит SEQ ID NO: 544.

В настоящем описании также предложен гMVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид с

SEQ ID NO: 544.

В настоящем описании также предложен гMVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид с SEQ ID NO: 552. В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит SEQ ID NO: 553.

В настоящем описании также предложен гMVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид с SEQ ID NO: 553.

В настоящем описании также предложен гMVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид с SEQ ID NO: 557.

В настоящем описании также предложен гMVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид с SEQ ID NO: 558.

В настоящем описании также предложен гMVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид с SEQ ID NO: 559.

В настоящем описании также предложен гMVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид с SEQ ID NO: 625.

В настоящем описании также предложен гMVA, содержащий гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид с SEQ ID NO: 626.

В настоящем описании также предложена клетка, содержащая или трансдуцированная гMVA, причем гMVA содержит:

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов;

гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 и 540;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 543;

гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 544;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 552;

гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 553;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 557;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 558;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 559;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 625; или

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 626.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гMVA, причем MVA содержит:

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два или более полипептидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 215, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов;

гетерологичный полинуклеотид, содержащий два или более полинуклеотидов, выбранных из группы, состоящей из SEQ ID NO: 500, 501, 461, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 477, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 485, 486, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539 и 540;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 543;

гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 544;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 552;

гетерологичный полинуклеотид SEQ ID NO: 553;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 557;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 558;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 559;

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 625; или

гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 626.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, содержащий два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, 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 или 41 полипептид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 381, 333, 337, 269, 253, 309, 325, 271, 305, 251, 245, 261, 265, 317, 255, 277, 297, 285, 437, 439, 442, 444, 379, 343, 211, 349, 213, 221, 219, 225, 345, 353, 235, 223, 167, 171, 19, 23 и 177, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит два, три, четыре, пять, шесть, семь, восемь, девять, десять, 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 или 41 полинуклеотид, выбранный из группы, состоящей из

SEQ ID NO: 276, 382, 334, 338, 270, 254, 310, 326, 272, 306, 252, 246, 262, 266, 318, 256, 278, 298, 286, 448, 450, 453, 455, 380, 344, 212, 350, 214, 216, 222, 220, 226, 346, 354, 236, 224, 168, 172, 20, 24 и 178, а также их фрагментов.

В некоторых вариантах осуществления фрагменты содержат пептиды SEQ ID NO: 387, 388, 390, 392, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620 или 621.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полипептид содержит SEQ ID NO: 541, 550, 554, 555, 556, 623 или 624.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит (SEQ ID NO: 542 или SEQ ID NO: 551).

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полипептид содержит SEQ ID NO: 543, 552, 557, 558, 559, 625 или 626.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит (SEQ ID NO: 544 или SEQ ID NO: 553).

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид представляет собой ДНК или РНК.

В некоторых вариантах осуществления РНК представляет собой мРНК или самореплицирующуюся РНК.

В некоторых вариантах осуществления вакцина представляет собой рекомбинантный вирус.

В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный вирус получают из аденовируса, поксвируса, аденоассоциированного вируса или ретровируса.

В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный вирус получают из hAd5, hAd7, hAd11, hAd26, hAd34, hAd35, hAd48, hAd49, hAd50, GAd20, Gad19, GAd21, GAd25, GAd26, GAd27, GAd28, GAd29, GAd30, GAd31, ChAd3, ChAd4, ChAd5, ChAd6, ChAd7, ChAd8, ChAd9, ChAd10, ChAd11, ChAd16, ChAd17, ChAd19, ChAd20, ChAd22, ChAd24, ChAd26, ChAd30, ChAd31, ChAd37, ChAd38, ChAd44, ChAd55, ChAd63, ChAd73, ChAd82, ChAd83, ChAd146, ChAd147, PanAd1, PanAd2, PanAd3, вируса осповакцины Копенгаген (W), аттенуированного вируса осповакцины Нью-Йорк (NYVAC), ALVAC, TROVAC или модифицированного вируса осповакцины Анкара (MVA)

В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный вирус получают из GAd20.

В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный вирус получают из MVA.

В некоторых вариантах осуществления рекомбинантный вирус получают из Ad26.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичную полинуклеотидную последовательность, кодирующую гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 541 или 550.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит (SEQ ID NO: 542 или 551).

В некоторых вариантах осуществления вакцина представляет собой рекомбинантный вирус, полученный из GAd20.

В настоящем описании также предложена вакцина, содержащая гетерологичную полинуклеотидную последовательность, кодирующую гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 543 или 552.

В некоторых вариантах осуществления гетерологичный полинуклеотид содержит (SEQ ID NO: 544 или 553).

В некоторых вариантах осуществления вакцина представляет собой рекомбинантный вирус, полученный из MVA.

Представленные ниже примеры приведены для дополнительного описания некоторых из вариантов осуществления, раскрываемых в настоящем документе. Примеры призваны проиллюстрировать, но не ограничить, раскрываемые варианты осуществления.

Пример 1. Общие способы

Синтез пептида

Пептиды синтезировали, используя пептид New England с чистотой >80%. Лиофилизированные пептиды растворяли в 100% ДМСО.

Оценка иммуногенности неоантигенов *in vitro* ("Анализ повторной стимуляции МКПК пациента")

МКПК, полученные от пациентов-людей с метастатическим кастрационно-резистентным раком предстательной железы, размораживали с применением среды (RPMI 1640 с добавлением глутамакса, 10% HI FBS и 1X пирувата натрия). Клетки подсчитывали и высевали в круглодонный микропланшет на 96 лунок в концентрации 250,000 жизнеспособных клеток в лунке. Лиофилизированные пептиды растворяли в 100% ДМСО и разбавляли в среде до 10 мкг/мл. К МКПК добавляли неоантигенные пептиды в равном объеме с конечной концентрацией 5 мкг/мл. CEF Peptide Pool "Plus" (Cellular Technologies, Ltd.) использовали в качестве положительного контроля, а ДМСО в той же конечной концентрации, что и экспериментальные пептиды, использовали в качестве отрицательного контроля. Во

все лунки добавили человеческий IL-15 (Peprotech) в конечной концентрации 10 нг/мл.

Планшеты инкубировали при 37°C (5% CO₂) в общей сложности в течение 13 дней. Среду обновляли каждые 2 дня с использованием IL-15 (конечная концентрация 10 нг/мл) и IL-2 (системы R&D, конечная концентрация 10 IU/мл). На 12 день ПКМК повторно стимулировали идентичными экспериментальными пептидами или контролями в той же концентрации, что и стимуляция пептидом в 1 день. После инкубации в течение 1 ч в каждую лунку добавляли коктейль ингибиторов белка (eBioscience) и планшет инкубировали в течение ночи.

На 13 день клетки окрашивали для анализа внутриклеточной проточной цитометрии. Клетки промывали с использованием PBS и окрашивали красителем с использованием набора для определения мертвых клеток Live/Dead Fixable Aqua (Thermo-Fisher). После окрашивания блокировали с помощью не содержащего биотина ингибитора Fc-рецептора Biotin-Free Fc Receptor Blocker (Accurate Chemical & Scientific Corp). Панель внеклеточного потока (1 мкл/антитело на лунку в 50 мкл) состояла из CD3 PerCP-Cy5.5 (Biolegend), CD4 BV421 (Biolegend) и CD8 APC-Cy7 (Biolegend). После внеклеточного окрашивания клетки фиксировали, используя буферный набор Foxp3/Transcription Factor Staining Buffer (eBioscience) и окрашивали на внутриклеточные белки (разведение 1:50) с использованием TNF α FITC (R&D Systems) и IFN γ BV785 (Biolegend). Клетки промывали, ресуспендировали в буфере для окрашивания и анализировали с помощью проточного цитометра BD Celesta.

Анализ окрашивания клеток методом проточной цитометрии проводили с использованием FlowJo v10. Клетки гейтировали по живым синглетным CD3+ клеткам. CD8+ Т-клетки анализировали на экспрессию TNF α /IFN γ и регистрировали частоту двойных положительных TNF α /IFN γ CD8+ Т-клеток. Ответы оценивались как положительные, когда частота появления двойных положительных TNF α /IFN γ CD8+ Т-клеток, обусловленных стимуляцией экспериментальным пептидом, была в 2 раз больше или равна 2 по сравнению с только ДМСО отрицательным контролем для этого пациента. Пептиды анализировали в образцах от 1 до 7 пациентов.

Оценка иммуногенности неоантигенов in vitro ("Анализ экзогенной аутологичной повторной стимуляции нормального донора")

Дендритные клетки CD1c+ (DC), выделенные из нормальных человеческих ПКМК, размораживали с использованием среды (IMDM (Gibco), обогащенной глутамином, HEPES, 5% человеческой сыворотки (Sigma) и 1X Pen-Strep). Клетки DC ресуспендировали в среде с добавлением IL-4 (Peprotech, 80 нг/мл) и GM-CSF (Gibco, 80 нг/мл), высевали в 6-луночные микропланшеты и оставляли на ночь при 37°C (5% CO₂). На следующий день подсчитывали DC-клетки и высевали в круглодонный микропланшет с 96 лунками в концентрации 30,000 жизнеспособных клеток на лунку. Лиофилизированные пептиды (15-мерные перекрывающиеся пептиды) растворяли в 100% ДМСО и объединяли с неоантигеном в диапазоне от 5 до 20 мг/мл. К DC добавляли пулы неоантигенных пептидов в конечной концентрации от 2,5 до 10 мкг/мл и выдерживали в течение 2 ч при 37°C (5% CO₂). CEF Peptide Pool "Plus" (Cellular Technologies, Ltd.) использовали в качестве положительного контроля, а ДМСО в той же конечной концентрации, что и экспериментальные пептиды, использовали в качестве отрицательного контроля. Через 2 ч DC-клетки облучали ионизирующим излучением мощностью 50 грей. Аутологичные CD3+ пан-Т-клетки, выделенные из нормальных человеческих ПКМК, размораживали с использованием среды. После облучения к облученным DC добавляли аутологичные пан-Т-клетки в количестве 300,000 жизнеспособных клеток на лунку. Во все лунки добавили человеческий IL-15 (Peprotech) в конечной концентрации 10 нг/мл.

Планшеты инкубировали при 37°C (5% CO₂) в общей сложности в течение 12 дней. Среду обновляли каждые 2-3 дня с использованием IL-15 (конечная концентрация 10 нг/мл) и IL-2 (системы R&D, конечная концентрация 10 IU/мл). На 11 день клетки повторно стимулировали идентичными экспериментальными пулами пептидов или контролями в той же концентрации, что и стимуляция пептидом в 1 день. В каждую лунку добавляли коктейль белковых ингибиторов (eBioscience) и планшет инкубировали в течение ночи при 37°C (5% CO₂).

На 12 день клетки окрашивали для анализа внутриклеточной проточной цитометрии. Клетки промывали с использованием PBS и окрашивали красителем с использованием набора для определения мертвых клеток Live/Dead Fixable Aqua (Thermo-Fisher). После окрашивания блокировали с помощью не содержащего биотина ингибитора Fc-рецептора Biotin-Free Fc Receptor Blocker (Accurate Chemical & Scientific Corp). Панель внеклеточного потока (1 мкл/антитело на лунку в 50 мкл) состояла из CD3 PerCP-Cy5.5 (Biolegend), CD4 BV421 (Biolegend) и CD8 APC-Cy7 (Biolegend). После внеклеточного окрашивания клетки фиксировали, используя буферный набор Foxp3/Transcription Factor Staining Buffer (eBioscience) и окрашивали на внутриклеточные белки (разведение 1:50) с использованием TNF α FITC (R&D Systems) и IFN γ BV785 (Biolegend). Клетки промывали, ресуспендировали в буфере для окрашивания и анализировали с помощью проточного цитометра BD Celesta.

Анализ окрашивания клеток методом проточной цитометрии проводили с использованием FlowJo v10. Клетки гейтировали по живым синглетным CD3+ клеткам. CD8+ и CD4+ Т-клетки анализировали на экспрессию TNF α /IFN γ и регистрировали частоту двойных положительных TNF α /IFN γ CD8+ и частоту

двойных положительных TNF α /IFN γ CD4⁺ Т-клеток. Ответы оценивались как положительные, когда частота появления двойных положительных TNF α /IFN γ CD8⁺ или TNF α /IFN γ CD4⁺ Т-клеток, обусловленных стимуляцией пулом экспериментальных пептидов в 3 раз превышала или была равна 3 по сравнению с только ДМСО отрицательным контролем у этого донора по меньшей мере на 0,01%.

Оценка эндогенной иммуногенности неоантигенов in vitro ("Анализ эндогенной аутологичной повторной стимуляции нормальных доноров")

Дендритные клетки CD1c⁺ (DC), выделенные из нормальных человеческих ПКМК, размораживали с использованием среды (IMDM (Gibco), обогащенной глутамином, HEPES, 5% человеческой сыворотки (Sigma) и 1X Pen-Strep). Клетки DC ресуспендировали в среде с добавлением IL-4 (Peprotech, 80 нг/мл) и GM-CSF (Gibco, 80 нг/мл), высевали в 6-луночные микропланшеты и оставляли на ночь при 37 °C (5% CO₂). На следующий день подсчитывали DC-клетки и высевали в круглодонный микропланшет с 96 лунками в концентрации 30,000 жизнеспособных клеток на лунку. Векторы Ad5 (Vector Biolabs) разводили в среде до MOI (множественность заражения) 5000 на основе бляшкообразующих единиц. В качестве контролей использовали векторы Ad5 для пула CEF и «нуль». DC трансдуцировали векторами Ad5 в течение ночи при 37°C (5% CO₂). На следующий день векторы Ad5 смывали с планшета посредством трех последовательных стадий центрифугирования/аспирации с использованием стерильного фосфатно-солевого буфера. После последней промывки клетки DC с трансдуцированным геном ресуспендировали в 100 мкл среды. Аутологичные CD3⁺ пан-Т-клетки, выделенные из нормальных человеческих ПКМК, размораживали с использованием среды. Пан-Т-клетки добавляли к облученным DC в количестве 300,000 жизнеспособных клеток на лунку (100 мкл/лунка). Во все лунки добавили человеческий IL-15 (Peprotech) в конечной концентрации 10 нг/мл.

Планшеты инкубировали при 37°C (5% CO₂) в общей сложности в течение 12 дней. Среду обновляли каждые 2-3 дня с использованием IL-15 (конечная концентрация 10 нг/мл) и IL-2 (системы R&D, конечная концентрация 10 IU/мл). На 11 день лиофилизированные пептиды (15-мерные перекрывающиеся пептиды) растворяли в 100% ДМСО и объединяли с неоантигеном в диапазоне от 5 до 20 мг/мл. К клеткам добавляли пулы неоантигенных пептидов с конечной концентрацией от 2,5 до 10 мкг/мл. CEF Peptide Pool "Plus" (Cellular Technologies, Ltd.) использовали в качестве положительного контроля, а ДМСО в той же конечной концентрации, что и экспериментальные пептиды, использовали в качестве отрицательного контроля. В каждую лунку добавляли коктейль белковых ингибиторов (eBioscience) и планшет инкубировали в течение ночи при 37°C (5% CO₂).

На 12 день клетки окрашивали для анализа внутриклеточной проточной цитометрии. Клетки промывали с использованием PBS и окрашивали красителем с использованием набора для определения мертвых клеток Live/Dead Fixable Aqua (Thermo-Fisher). После окрашивания блокировали с помощью не содержащего биотина ингибитора Fc-рецептора Biotin-Free Fc Receptor Blocker (Accurate Chemical & Scientific Corp). Панель внеклеточного потока (1 мкл/антитело на лунку в 50 мкл) состояла из CD3 PerCP-Cy5.5 (Biolegend), CD4 BV421 (Biolegend) и CD8 APC-Cy7 (Biolegend). После внеклеточного окрашивания клетки фиксировали, используя буферный набор Foxp3/Transcription Factor Staining Buffer (eBioscience) и окрашивали на внутриклеточные белки (разведение 1:50) с использованием TNF α FITC (R&D Systems) и IFN γ BV785 (Biolegend). Клетки промывали, ресуспендировали в буфере для окрашивания и анализировали с помощью проточного цитометра BD Celesta.

Анализ окрашивания клеток методом проточной цитометрии проводили с использованием FlowJo v10. Клетки гейтировали по живым синглетным CD3⁺ клеткам. CD8⁺ и CD4⁺ Т-клетки анализировали на экспрессию TNF α /IFN γ и регистрировали частоту двойных положительных TNF α /IFN γ CD8⁺ и частоту двойных положительных TNF α /IFN γ CD4⁺ Т-клеток. Ответы оценивались как положительные, когда частота появления двойных положительных TNF α /IFN γ CD8⁺ или TNF α /IFN γ CD4⁺ Т-клеток, обусловленных стимуляцией пулом экспериментальных пептидов в 3 раз превышала или была равна 3 по сравнению с только ДМСО отрицательным контролем у этого донора по меньшей мере на 0,01%.

Связывание неоантигенов с МНС класса I in vitro

9-мерные пептиды, выявленные в ходе биоинформационного анализа, анализировали на склонность к связыванию с 6 общими аллелями HLA класса I (HLA-A*01:01, A*02:01, A*03:01, A*24:02, B*07:02, B*08:01). Принцип способа кратко описан ниже и состоит из двух частей, одна из которых включает обмен пептида на положительный контроль под действием ультрафиолетового (УФ) излучения, а вторая представляет собой ферментативный иммуноанализ для обнаружения стабильного HLA-пептида и пустых комплексов HLA.

Связанные с HLA-клетками пептиды имеют решающее значение для стабильности комплекса HLA. Условный комплекс HLA класса I стабилизировали УФ-лабильным пептидом с использованием другого пептида (Pos) для каждого HLA (Pos: HLA-A*01:01: CTELKLSYD (SEQ ID NO: 409), HLA-A*02:01: NLVPMVATV (SEQ ID NO: 410), HLA-A*03:01: LIYRRRLMK (SEQ ID NO: 411), HLA-A*24:02: LYSACFWWL (SEQ ID NO: 412), HLA-B*07:02: NPKASLLSL (SEQ ID NO: 413), HLA-B*08:01: ELRSRYWAI (SEQ ID NO: 414), которые могут быть расщеплены Уф-излучением при связывании с молекулой HLA. После расщепления полученные в результате пептидные фрагменты диссоциировали от

комплекса HLA класса I, поскольку их длина была недостаточной для стабильного связывания с HLA. В условиях, в которых выполняли расщепление пептида (нейтральный pH на тающем льду), не содержащий пептида комплекс HLA оставался стабильным. Таким образом, при выполнении расщепления в присутствии другого выбранного пептида HLA класса I эта реакция привела к чистому обмену расщепленного УФ-лабильного пептида Pos на выбранный пептид (Rodenko, B et al. (2006) Nature Protocols 1: 1120-32, Toebes, M et al. (2006) Nat Med 12: 246-51, Bakker, AH et al. (2008) Proc Natl Acad Sci USA 105: 3825-30).

Эффективность обмена между интересующим пептидом и Pos анализировали с помощью ИФА HLA класса I. Комбинированные технологии позволили идентифицировать лиганды для интересующей молекулы HLA, которые потенциально являются иммуногенными.

Обмен контрольным пептидом Pos показал высокоаффинное связывание с соответствующим аллелем HLA класса I, тогда как обмен контрольным пептидом Neg был несвязывающим. УФ-контроль представлял собой УФ-излучение условного комплекса HLA класса I в отсутствие восстанавливающего пептида. Связывание с обменным контрольным пептидом Neg (HLA-A* 01: 01: NPKASLLSL (SEQ ID NO: 413), HLA-A*02:01: IVTDFSVIK (SEQ ID NO: 416), HLA-A*03:01: NPKASLLSL (SEQ ID NO: 413), HLA-A*24:02: NLVPMVATV (SEQ ID NO: 410), HLA-B*07:02: LIYRRRLMK (SEQ ID NO: 411), HLA-B*08:01: NLVPMVATV (SEQ ID NO: 410) и все экспериментальные пептиды оценивали относительно таковых при замене контрольного пептида Pos. Абсорбцию последнего пептида установили на уровне 100%. Эта процедура приводила к диапазону различных процентных долей обмена, которые отражали аффинности разных экспериментальных пептидов к используемому аллелю HLA.

ИФА HLA класса I представляет собой ферментный иммуноанализ, основанный на обнаружении бета-2-микроглобулина (B2M) (стабилизированного пептидом) комплексов HLA класса I. С этой целью стрептавидин связывали на полистирольных лунках для микротитрования. После промывки и блокирования комплекс HLA, присутствующий в реакционных смесях для обмена или контрольных смесях для ИФА, захватывался стрептавидином на титрационном микропланшете посредством его биотинилированной тяжелой цепи. Несвязанный материал удаляли промывкой. Впоследствии добавляли конъюгированное с пероксидазой хрена (HRP) антитело к человеческому B2M. Конъюгированное с HRP антитело связывается только с интактным комплексом HLA, присутствующим в лунке микротитрования, поскольку неудачный обмен пептидов приводит к разрушению исходного УФ-чувствительного комплекса HLA при УФ-освещении. В последнем случае на этапе промывки удаляли B2M. После удаления несвязанного HRP-конъюгата путем промывки в лунки добавляли раствор субстрата. Окрашенный продукт образовывался пропорционально количеству интактного комплекса HLA, присутствующего в образцах. После завершения реакции путем добавления стоп-раствора измеряли поглощение на считывающем устройстве для считывания титрационного микропланшета. Поглощение нормализовали до уровня поглощения заменяемого контрольного пептида (соответствует 100%). Субоптимальное связывание HLA пептидов с умеренной или низкой аффинностью к молекулам HLA класса I также можно обнаружить с помощью этого метода ИФА (Rodenko, B et al. (2006) Nature Protocols 1: 1120-32).

Пептиды, которые имели эффективность обмена 10% или более в одном из 6 аллелей HLA, были рассмотрены для дальнейшего тестирования и анализа иммуногенности.

Пример 2. Идентификация неоантигенов путем биоинформатики

Для анализа различных наборов данных РНК рака предстательной железы с помощью биоинформатики разрабатывали вычислительный каркас для идентификации общих неоантигенов рака предстательной железы, возникающих в результате аномальных транскрипционных программ, таких как события слияния генов, сохранение интронов, варианты альтернативного сплайсинга и aberrантная экспрессия генов, заглушенных в процессе развития.

Запрашиваемые наборы данных:

Genotype-Tissue Expression (GTEx) Consortium. Этот набор данных включает 6137 наборов данных РНК последовательностей из 49 нормальных тканей, которые использовали для аннотации характеристик РНК в нормальных тканях и оценки частоты потенциальных антигенов предстательной железы в нормальной ткани.

Cancer Genome Atlas Prostate Adenocarcinoma (TCGA PRAD) (Cancer Genome Atlas Research Network. Cell. 2015 Nov 5;163(4):1011-25. doi: 10.1016/j.cell.2015.10.025). Этот набор данных включает наборы данных РНК-последовательностей от 508 субъектов с раком предстательной железы, которые использовали для идентификации потенциальных неоантигенов при локализованной аденокарциноме предстательной железы.

Stand Up To Cancer (SU2C) (Robinson D et al., Cell. 2015 May 21;161(5):1215-1228. doi: 10.1016/j.cell.2015.05.001). Этот набор данных включает наборы данных РНК-последовательностей от 43 субъектов с mCRPC.

Перед анализом проводили контроль качества (КК) необработанных данных. Прочтения секвенирования сначала обрезали для удаления адаптерных последовательностей Illumina и прочтения, картированные с человеческой tРНК и рРНК, удаляли из дальнейшего анализа. Результаты считывания

также обрезали у оснований с плохим базовым показателем качества (<10, шкала PHRED; обозначает основание с 1 из 10 вероятностей того, что оно будет неправильным) с обоих концов. Показатель качества PHRED измеряет качество идентификации оснований, созданных с помощью автоматических приборов для секвенирования ДНК. Из наборов данных удаляли обрезанные считывания с менее 25 п. н. Кроме того, для удаления считываний низкого качества использовали следующие этапы: удаление считываний с максимальным базовым показателем качества PHRED <15, удаление считываний со средним базовым показателем качества PHRED <10, удаление считываний, имеющих степень поли-ATCG >80%, удаление последовательностей РНК, в которых одно из двух считываний не прошло испытание.

Считывание, прошедшее по критериям КК, было картировано по Human Genome Build 38 с использованием платформы ArrayStudio (https://www_omicsoft_com/array-studio/). Для аннотации новых признаков РНК использовали модель гена Refseq (дата выпуска 6 июня 2017 г.).

Опубликованные здесь результаты полностью или частично основаны на данных, полученных из The Cancer Genome Atlas, составляемого NCI и NHGRI. Информацию о TCGA можно найти на сайте http://_cancergenome_nih_gov.

Выявление событий слияния генов

Алгоритм FusionMap (Ge H et al., *Bioinformatics*. 2011 Jul 15; 27(14):1922-8. doi: 10.1093/bioinformatics/btr310. Epub 2011 May 18) использовали для идентификации событий слияния генов в описанных выше наборах данных рака предстательной железы. Карта слияния определяет места соединения слияния на основании прочтений семян, которые содержат положение точки разрыва слияния в средней области прочтений. Алгоритм динамически создает библиотеку псевдослитых транскриптов/последовательностей на основе консенсусной последовательности картированных слияний из считываний семян. Затем карта слияния выравнивает некартированные возможные варианты считывания слияния с псевдоэталонным слиянием для дальнейшего определения восстановленных считываний. В программе приводится список обнаруженных соединений слияния, статистика по поддержке считывания, пары слитых генов, а также геномные положения точек разрыва и соединительных последовательностей, которые полностью характеризуют слитые гены при разрешении пары оснований.

Неоантигены, полученные из химерных слияний со сквозным считыванием, как показано на фиг. 1, и слияния, полученные в результате хромосомных изменений, как показано на фиг. 2, были идентифицированы с помощью FusionMap. При выполнении следующих критериев неоантигены классифицировали как происходящие из событий слияния генов: соединение слияния поддерживалось по меньшей мере двумя считываниями семян с различными положениями картирования в геноме, по меньшей мере 4 считываниями секвенирования (считываниями семян и восстановленными считываниями), анализирующими соединение, и по меньшей мере одним считыванием участка соединения, охватывающим соединение. Распространенность неоантигенов в опухолевой ткани и нормальной ткани была исследована с использованием наборов данных, упомянутых выше. Неоантигены идентифицировали как распространенные, если было установлено, что их распространенность составляет >10% в по меньшей мере одной когорте заболеваний (TCGA и SU2C) и <2% в нормальной ткани (6137 наборов данных РНК-последовательностей из 49 нормальных тканей). События слияния генов с распространением менее 10% в когорте заболеваний были включены, если они генерировали длинные участки новых пептидных последовательностей или присутствовали в исследуемых генах.

Идентификация вариантов сплайсинга

Для анализа данных РНК на спаренных концах для идентификации потенциальных неоантигенов, возникающих в результате альтернативных событий сплайсинга, было разработано специальное биоинформатическое программное обеспечение. С помощью разработанного процесса были идентифицированы варианты сплайсинга с сайтами альтернативного сплайсинга на 5' или 3'-концах, сохраненные интроны, исключенные экзоны, альтернативные концы или вставка(и) новых кассет, как показано на фиг. 3. В ходе процесса идентифицировали варианты сплайсинга, которые отсутствовали в модели гена RefSeq через две основные функции: 1) Идентификация новых соединений на основе прочтений с гэпами длиной 6 или более п. н. и последовательностями длиной по меньшей мере 15 п. н., выровненными с каждой стороны гэпа, в дальнейшем их называют прочтениями, картированными на разделение. Были зарегистрированы новые соединения, если они были представлены по меньшей мере 5 картированными на разделение считываниями и одной сопряженной парой считываний, расположенных по бокам соединения на каждом конце. 2) Выявление островков выровненных считываний, далее именуемых "островками покрытия". Более подробная информация о параметрах, используемых для определения границ островков, приведена ниже. На фиг. 4 показан в виде рисунка подход.

Для дифференциации результатов картирования интронных областей в связи с истинными вариациями сплайсинга, в отличие от загрязнения геномной ДНК и/или пре-мРНК, были разработаны два параметра для установления распределения загрязнений по 200 конститутивным генам с высокой экспрессией. Хвостовые концы этих распределений затем использовали в качестве отсеченных участков

для обнаружения новых вариантов сплайсинга, где это необходимо.

1. Глубина интрона покрытия (IDC): Глубина покрытия из 90-го перцентиля для всех конститутивных интронных оснований. Если покрытие конкретной зоны попадало ниже этого значения, первое основание, на котором это произошло, определяли как границу зоны покрытия.

2. Отношение покрытия интрона/экзона (IECR): 90-й перцентиль отношения между медианным покрытием интрона и медианным покрытием ближайшего к 5'-концу экзона всех конститутивных генов

Все отмеченные варианты сплайсинга должны были удовлетворять следующим критериям:

Идентификация сайта альтернативного сплайсинга на 3'/5'-концах:

Новый сайт сплайсинга поддерживался по меньшей мере 5 считываниями с отдельным картированием и одной сопряженной парой считываний, фланкирующих соединение

Интронная область, образующаяся при использовании сайта сплайсинга (если применимо), превышала IECR и вся область превышала IDC

Идентификация новой кассеты

Два новых сайта сплайсинга в интронной области поддерживались по меньшей мере 5 считываниями с отдельным картированием и одной сопряженной парой считываний, фланкирующих соединение

Область между двумя сайтами сплайсинга превышала IECR, а вся область превышала IDC

Идентификация сохранения интрона:

Интронная область превышала IECR, а вся область превышала IDC

По меньшей мере 5 прочтений охватывают обе границы интрона-экзона, при этом по меньшей мере 15 п. о. выровнены с каждой стороны от этих границ

Идентификация альтернативной терминации:

3'-граница, определяемая как край островка покрытия, не лежащей в пределах 60 п. о. от 3'-конца канонического экзона

Любые интронные области между 5'-концом канонического экзона и 3'-концом границы превышали IECR, а вся область превышала IDC

Идентификация исключения экзона:

Новое соединение поддерживалось по меньшей мере 5 считываниями с отдельным картированием и одной сопряженной парой считываний, фланкирующих соединение, в котором пропущены один или более канонических экзона.

Неоантигены, полученные из событий aberrантного сплайсинга, идентифицировали как обычные, когда было установлено, что частота возникновения составляет около >10% в когорте заболеваний (наборы данных TCGA и SU2C) и около <1% в нормальной ткани (набор данных GTEx Consortium).

Выявление неоантигенов на основе мутаций ДНК (точечных и каркасных участков)

Исследовались данные из TCGA, SU2C и интегрированные наборы данных DFCI/Sloane Kettering (Integrated DFCI/Sloane Kettering dataset (Armenia et al., Nat Genet. 2018 May; 50(5):645-651. doi: 10.1038/s41588-018-0078-z. Epub 2018 Apr 2), как описано выше, содержащие данные секвенирования экзона, полученные от пациентов с раком предстательной железы. Были загружены определения мутаций, опубликованные консорциумами, которые генерировали эти наборы данных, и были выявлены мутации генов, которые присутствовали в > 10% популяции пациентов или в генах, которые, как известно, являются факторами рака предстательной железы (такими как AR). Для каждой выбранной одиночной точечной мутации идентифицировали 17-мерный пептид с мутированной аминокислотой в его центре для дополнительных подтверждающих исследований.

Прогнозирование изоформы сплайсинга

В некоторых случаях перед идентифицированными событиями сплайсинга имелось несколько рамок считывания и экзона, которые могли повлиять на последовательность канонического пептида, предшествующую последовательности неоэпитопа. В этих генах было определено, какие канонические экзоны расположены рядом с каждой особенностью неоэпитопа, на основании прочтений, картированных по разделению, присутствующих на границах экзона. Наиболее высоко экспрессируемая изоформа с самой высокой средней экспрессией в когорте заболеваний с наибольшей распространенностью события, которая может содержать предсказанный неоэпитоп, была выбрана для трансляции в соответствующий белок путем выбора открытой рамки считывания, связанной с этой изоформой. Неоэпитопную часть белковой последовательности экстрагировали, причем дополнительные 8 аминокислотных остатков перед первой измененной аминокислотой были включены и использованы для последующих подтверждающих исследований. Аналогичная процедура была проведена для выявления предполагаемых иммуногенных антигенов из изменений в ДНК со сдвигом рамки. Для делеций и вставок со сдвигом рамки считывания полученную последовательность ДНК транслировали в соответствующий белок путем выбора соответствующей открытой рамки считывания и извлекали измененную со сдвигом рамки считывания часть белковой последовательности, включая дополнительные 8 аминокислотных остатков перед первой измененной аминокислотой.

В табл. 1 представлены происхождение гена, специфическая мутация, аминокислотные

последовательности выявленных неоантигенов с одиночными аминокислотными мутациями (М) и частота встречаемости у пациентов. Каждая мутация выделена жирным шрифтом в табл. 1. В табл. 2 представлены соответствующие им полинуклеотидные последовательности. Мутантные последовательности выделены большими буквами в табл. 2. Частота встречаемости у пациентов (%) из табл. 1 взята из источника Armenia et al., Nat Genet 50(5): 645-651, 2018.

Таблица 1

Идентификатор неоэпитопа	Ген	Мутация	Частота встречаем ости у пациентов (%)	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO:
M1	TP53	R248Q	1,0859	SSCMGGMN Q RPIITIT	1
M2	TP53	R248W	0,0987	SSCMGGMN W RPIITIT	3
M3	TP53	R273C	0,6910	LGRNSFEV C VACAPGRD	5
M4	TP53	R273L	0,3949	LGRNSFEV L VACAPGRD	7
M5	TP53	G245S	0,6910	MCN S SCMGSMNRRPIL T	9
M6	TP53	Y220C	0,4936	FRHSV V VPCEPPEVGSD	11
M7	TP53	R282W	0,4936	VCAC P GRDWRTEENLR	13
M8	SPOP	F133C	0,5923	FVQ G KDWGCKKFIR R DF	15
M9	SPOP	F133I	0,3949	FVQ G KDWG I KKFIR R DF	17
M10	SPOP	F133L	1,1846	FVQ G KDW L KKFIR R DF	19
M11	SPOP	F133S	0,3949	FVQ G KDWG S KKFIR R DF	21
M12	SPOP	F133V	0,9872	FVQ G KDWG V KKFIR R DF	23
M13	SPOP	W131C	0,0987	YRFVQ G KDC G FKKFIR R	25
M14	SPOP	W131G	1,2833	YRFVQ G KD G GFKKFIR R	27
M15	SPOP	W131L	0,1974	YRFVQ G KD L GFKKFIR R	29
M16	SPOP	W131R	0,1974	YRFVQ G KD R GFKKFIR R	31
M17	SPOP	W131S	0,0987	YRFVQ G KD S GFKKFIR R	33
M18	KMT2D	R5214H	0,1974	YPVGYEAT H IYWSLR T N	35
M19	FOXA1	R261C	0,1974	MFENG C YL C RQ R FK C E	37

M20	FOXA1	H247Q	0,1974	GKGSYWTLQPDSGNMFE	39
M21	FOXA1	H247L	0,0987	GKGSYWTLPLPDSGNMFE	41
M22	FOXA1	H247N	0,0987	GKGSYWTLNLPDSGNMFE	43
M23	FOXA1	H247Y	0,0987	GKGSYWTLYPDSGNMFE	45
M24	FOXA1	F266C	0,0987	CYLRRQKRCKCEKQPGA	47
M25	FOXA1	F266S	0,0987	CYLRRQKRCKCEKQPGA	49
M26	FOXA1	D226G	0,0987	IRHLSLFGNCFVKVARS	51
M27	FOXA1	D226N	0,1974	IRHLSLFGNCFVKVARS	53
M28	FOXA1	R219C	0,0987	QQRWQNSICHSLSFNDC	55
M29	FOXA1	R219S	0,1974	QQRWQNSISHSLSFNDC	57
M30	FOXA1	M253K	0,1974	TLHPDSGNKFENGICYLR	59
M31	FOXA1	M253R	0,0987	TLHPDSGNRFENGICYLR	61
M32	CDK12	R858W	0,1974	CHKKNFLHWDIKCSNIL	63
M33	PTEN	R130Q	0,2962	IHCKAGKGQTGVMICAY	65
M34	PTEN	V119F	0,1974	WLSDDNHFAAIHCKAG	67
M35	ATM	N2875S	0,0987	GLGDRHVQSILINEQSA	69
M36	ATM	N2875K	0,0987	GLGDRHVQKILINEQSA	71
M37	KDM6A	C1164S	0,0987	NINIGPGDSEWFVVEPEG	73
M38	KDM6A	C1164Y	0,0987	NINIGPGDYEFVVEPEG	75
M39	PIK3CA	H1047R	0,4936	FMKQMNDARHGGWTTKM	77
M40	PIK3CA	E545K	0,2962	RDPLSEITKQEKDFLWS	79
M41	PIK3CA	E545G	0,0987	RDPLSEITGQEKDFLWS	81
M42	PIK3CA	E545A	0,0987	RDPLSEITAQEKDFLWS	83
M43	CTNNB1	T41A	0,4936	SGIHSGATATAPSLSGK	85
M44	CTNNB1	D32A	0,0987	HWQQQSYLASGIHSGAT	87
M45	CTNNB1	D32H	0,0987	HWQQQSYLHSGIHSGAT	89
M46	CTNNB1	D32V	0,0987	HWQQQSYLVSGIHSGAT	91
M47	CTNNB1	D32Y	0,1974	HWQQQSYLYSGIHSGAT	93
M48	CTNNB1	S37A	0,0987	SYLDSGIHAGATTTAPS	95
M49	CTNNB1	S37C	0,0987	SYLDSGIHCGATTTAPS	97

M50	CTNNB1	S37F	0,0987	SYLDSGIHFGATTAPS	99
M51	CTNNB1	S37Y	0,0987	SYLDSGIHYGATTAPS	101
M52	CTNNB1	S45C	0,0987	SGATTTAPCLSGKGNPE	103
M53	CTNNB1	S45F	0,0987	SGATTTAPFLSGKGNPE	105
M54	CTNNB1	S45P	0,0987	SGATTTAPPPLSGKGNPE	107
M55	COL5A1	T348K	0,1974	YVPSEDYYKPSPYDDLT	109
M56	TAF1L	A869T	0,1974	IRKRLKLCDFKRTGMD	111
M57	MED12	L1224F	0,7897	VDGAVFAVFKAVFVLG D	113
M58	MED12	V1223G	0,0987	IVDGAVFAGLKAVFVLG	115
M59	MED12	V1223L	0,0987	IVDGAVFALLKAVFVLG	117
M60	MGA	R2435W	0,1974	THTANERRWRGEMRDL F	119
M61	ARID1A	P1756R	0,1974	GRFSKVSSRAPMEGGEE	121
M62	CUL3	M299R	0,4936	GKTEDLGCERYKLSRVP	123
M63	USP7	Q4H	0,4936	MNHHQQQQQKA	125
M64	SF3B1	K700E	0,1974	HGLVDEQQEVRTISALA	127
M65	U2AF1	S34F	0,2962	VCRHGDRCFRLHNKPTF	129
M66	CDC27	Y73C	0,1974	SCTTPQCKLLAKCCVD	131
M67	CDC27	N260H	0,1974	SILSKVQVHKPKTGRSL	133
M68	BRAF	G469A	0,2962	QRIGSGSFATVYK GKWH	135
M69	BRAF	K601E	0,1974	GDFGLATVESRWSGSHQ	137
M70	RAG1	R112C	0,0987	QANLRHLCCICGNSFRA	139
M71	RAG1	R112H	0,1974	QANLRHLCHICGNSFRA	141
M72	CNOT3	E20K	0,3949	DRCLKKVKGVEQFEDI	143
M73	CNOT3	E70K	0,2962	IKTWVASNKIKDKRQLI	145
M74	PIK3CB	E1051K	0,2962	QKFDEALRKSWTTKVN W	147
M75	IDH1	R132C	0,1974	WVKPIIIGCHAYGDQYR	149
M76	IDH1	R132G	0,0987	WVKPIIIGGHAYGDQYR	151
M77	IDH1	R132H	0,4936	WVKPIIIGHHAYGDQYR	153
M78	KRAS	G12D	0,1974	YKLVVVGADGVGKSAL T	155
M79	KRAS	G12R	0,2962	YKLVVVGARGVGKSAL T	157
M80	KRAS	Q61K	0,2962	LDILDTAGKEEYSAMRD	159
M81	KRAS	Q61L	0,0987	LDILDTAGLEEYSAMRD	161
M82	KRAS	Q61R	0,0987	LDILDTAGREEYSAMRD	163
M83	AKT1	E17K	0,4936	EGWLHKRGKYIKTWRP R	165
M84	AR	T878A	1,2833	IARELHQFAFDLLIKSH	167
M85	AR	T878G	0,0987	IARELHQFGFDLLIKSH	169
M86	AR	L702H	1,0859	QPDSFAALHSSLNELGE	171
M87	AR	W742L	0,1974	QMAVIQYSLMGLMVFA M	173
M88	AR	W742F	0,0987	QMAVIQYSFMGLMVFA M	175

Таблица 2

Идентификатор неоэпитопа	Полинуклеотидная последовательность	SEQ ID NO:
M1	agttcctgcatggcgcatgaaccAgagcccatcctcacatcatcaca	2
M2	agttcctgcatggcgcatgaaTggagcccatcctcacatcatcaca	4
M3	ctgggacggaacagctttgaggtgTgttttgcctgtcctgggagagac	6
M4	ctgggacggaacagctttgaggtgTgttttgcctgtcctgggagagac	8
M5	atgtgtaacagttcctgcatgggcAgcataaccggaggcccatcctcacc	10
M6	tttcgacatagtgtgtgtggtccctGtgagccgctgaggttgctctgac	12
M7	gtttgtcctgtcctgggagagaTggcgacagagagaagaatctccgc	14
M8	tttgcgaaggcaagactggggatGcaagaaatcatccgtagagatttt	16
M9	tttgcgaaggcaagactggggatAcaagaaatcatccgtagagatttt	18
M10	tttgcgaaggcaagactggggatAaagaaatcatccgtagagatttt	20
M11	tttgcgaaggcaagactggggatCcaagaaatcatccgtagagatttt	22
M12	tttgcgaaggcaagactggggatGcaagaaatcatccgtagagatttt	24
M13	tatagtttgcgaaggcaagactTggattcaagaaatcatccgtaga	26
M14	tatagtttgcgaaggcaagactGgggattcaagaaatcatccgtaga	28
M15	tatagtttgcgaaggcaagactGgggattcaagaaatcatccgtaga	30
M16	tatagtttgcgaaggcaagactCgggattcaagaaatcatccgtaga	32
M17	tatagtttgcgaaggcaagactCgggattcaagaaatcatccgtaga	34
M18	tatcccgtgggctacgagccacgcAcatctattgagcctccgaccaac	36
M19	atgttcgagaacgctgctactgtTgccccagaagcgttcaagtgcgag	38
M20	ggcaagggtcctactggagcctgcaGccggactccgcaacatgttcgag	40
M21	ggcaagggtcctactggagcctgTcccggactccgcaacatgttcgag	42
M22	ggcaagggtcctactggagcctgAaccggactccgcaacatgttcgag	44
M23	ggcaagggtcctactggagcctgTaccggactccgcaacatgttcgag	46
M24	tgtacttgcgccccaagcgtGcaagtgcgagaagcagccgggggcc	48
M25	tgtacttgcgccccaagcgtCcaagtgcgagaagcagccgggggcc	50
M26	atcccactcgtgtccttcaatGctgttcgcaagttgacacgtcc	52
M27	atcccactcgtgtccttcaatAactgttcgcaagttgacacgtcc	54
M28	cagcagcgtgagcaactccatTgccactcgtgtccttcaatgactgc	56
M29	cagcagcgtgagcaactccatAgccactcgtgtccttcaatgactgc	58
M30	acgctgcaccggactccgcaacaAgttcgagaacggtgctacttgcgc	60
M31	acgctgcaccggactccgcaacaGttcgagaacggtgctacttgcgc	62
M32	tgtcacaanaaatttctgcatTgggatattaagtttaaacattttg	64
M33	attcactgtaaaagctgaaaggacAaactggtgtaatgatattgcatat	66
M34	tggctaagtgaagatgacaatcattTtgcagcaattcactgtaagctgga	68
M35	ggacttggatagacatgtacagaGtatcttgataaatgagcagtcagca	70
M36	ggacttggatagacatgtacagaAatcttgataaatgagcagtcagca	72
M37	aacataaatttggcccagggtgactTgaaatggtttgttctctgaaggt	74
M38	aacataaatttggcccagggtgactTgaaatggtttgttctctgaaggt	76
M39	ttcatgaaacaatgaatgatgcacGtcatggtgctggacaacaanaatg	78
M40	cgagatcctctctgaaatcactAagcaggagaagatttctatggagt	80
M41	cgagatcctctctgaaatcactGgcaaggagaagatttctatggagt	82
M42	cgagatcctctctgaaatcactGgcaaggagaagatttctatggagt	84
M43	tctggaatcattctgtgcccactGccacagctcctctctgagtgtaaa	86
M44	cactggcagcaacagcttactggCctctggaatcattctgtgcccact	88
M45	cactggcagcaacagcttactggCactctggaatcattctgtgcccact	90
M46	cactggcagcaacagcttactggTctctggaatcattctgtgcccact	92
M47	cactggcagcaacagcttactggTactctggaatcattctgtgcccact	94
M48	tcttacctggacttggaaatcattGctgtgcccactaccacagctcctct	96
M49	tcttacctggacttggaaatcattGctgtgcccactaccacagctcctct	98
M50	tcttacctggacttggaaatcattTtgggccactaccacagctcctct	100
M51	tcttacctggacttggaaatcattAtggtgccactaccacagctcctct	102

M52	tctggtgccactaccacagctcctGctgagtggtaaaggcaatcctgag	104
M53	tctggtgccactaccacagctcctTctgagtggtaaaggcaatcctgag	106
M54	tctggtgccactaccacagctcctCctctgagtggtaaaggcaatcctgag	108
M55	tacgtgccagtgaggactactacaAgccctaccgfatgatgacctcacc	110
M56	atccggaaaggctaaaactctgcActgacttcaaacgcacagggatggat	112
M57	gtggatggagccgtgttctgtTcaaggctgtttgtacttggggat	114
M58	atcgtggatggagccgtgttctgtGtctcaaggctgtttgtacttggg	116
M59	atcgtggatggagccgtgttctgtCtctcaaggctgtttgtacttggg	118
M60	acacacactgccaatgagcggcggTggcgtgtgaaatgagggatctcttt	120
M61	gggaggttcagcaaggtgtctagtcGagctcccatggaggtggggaagaa	122
M62	ggaaagacagaagacctgttgcGgtacaagttattatgctgtgtcca	124
M63	atgaaccaccaCcagcagcagcagcagcaaaagcg	126
M64	catggtctgtggatgagcagcagGaaagtccgacctcagtgctttggcc	128
M65	gcatgtctcatggagacaggtgtTcgttgcacaataaaccgaccttt	130
M66	agttgtactacaccgcaatgcaaatGcctgcttcaaaatgtgtgtgat	132
M67	tccatattatcaaacaggttcaaCataaacaaaaactggtcgaagtta	134
M68	caagaattggatctggatctttGcaacagtctacaagggaaagtggcat	136
M69	gggtatttggctagctacagtgGaatctgatggagtgggtcccatcag	138
M70	caagccaaccttcacatctctgcTgcatctgtgggaattcttttagagct	140
M71	caagccaaccttcacatctctgccAcactctgtgggaattcttttagagct	142
M72	gatcgctgcctcaagaaggtgtccAaggcgtggagcagtttgaagatatt	144
M73	atcaagacatgggtagcgtccaacAagatcaaggacaagaggcagcttata	146
M74	caaaaattgatgagcgtcaggAaaagctggactactaaagtgaactgg	148
M75	tgggtaaacctatcatataggtTgtcatgcttatgggatcaatacaga	150
M76	tgggtaaacctatcatataggtGtcatgcttatgggatcaatacaga	152
M77	tgggtaaacctatcatataggtcAtcatgcttatgggatcaatacaga	154
M78	tataagctgggtgtggtggcggcAcgggtgtggcaagagtgcgctgacc	156
M79	tataagctgggtgtggtggcggcCgcggtgtggcaagagtgcgctgacc	158
M80	ttggacatcctggataaccggcAAaggaggagtacagcccatcggggac	160
M81	ttggacatcctggataaccggcTggaggagtacagcccatcggggac	162
M82	ttggacatcctggataaccggcGggaggagtacagcccatcggggac	164
M83	gagggttgctgcacaacaggggAagfacatcaagacctggcggccacgc	166
M84	attcgagagagctgcatcagttcGttttgacctgctaatacaagtcacac	168
M85	attcgagagagctgcatcagttcGGttttgacctgctaatacaagtcacac	170
M86	cagcccactcctttcagccttgcActctagcctcaatgaactgggagag	172
M87	cagatggctgtcattcagtactctTgatgggctcatggtttgccatg	174
M88	cagatggctgtcattcagtactctTTatgggctcatggtttgccatg	176

В табл. 3 представлены происхождение гена, специфическая мутация сдвига рамки считывания (FR), аминокислотные последовательности выявленных неоантигенов, возникающие в результате событий сдвига рамки считывания, и частота встречаемости мутации у пациентов. Последовательность дикого типа выделена жирным шрифтом в табл. 3, за которой следует новая последовательность, обусловленная сдвигом рамки считывания. В табл. 4 представлены соответствующие им полинуклеотидные последовательности. Мутантные последовательности выделены большими буквами в табл. 4. Частота встречаемости у пациентов (%) из табл. 3 взята из источника Armenia et al., Nat Genet 50(5): 645-651, 2018.

Таблица 3

Идентификатор неопитота	Ген	Сдвиг рамки считывания	Частота встречаемости у пациентов (%)	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO:
FR1	ZFH3	E763Sfs*61	0,2962	QNLQNGGGSRSSATLP GRRRRRWLRRRQPISV APAGPPRRPNQKNPPG GARCVMRPTWPGTSAF T	177
FR2	ZFH3	E763Gfs*26	0,0987	QNLQNGGGGAGLQPHC RGGGGGGCGGGGSQY Q	179
FR3	APC	T1556Nfs*3	0,3949	NQEKEAEKNY	181
FR4	SPEN	A2105Lfs*33	0,1974	DAAVSPRGLQHRQGRG NLGWWQSPLRKVRVPK RRMVYHPS	183
FR5	BRCA2	T3085Nfs*26	0,1974	FVVSVVKKNRTCPRFLF VRRMLQFTGNKVLDPR	185
FR6	BRCA2	K2674Rfs*2	0,1974	RSRRSAIKR	187
FR7	ARID4 A	S1067Rfs*16	0,2962	SIIVQERERAERRVRRG QVMEIVD	189
FR8	SMAR CAD1	N770Kfs*28	0,1974	NNLVTEKKHRNVQCHD AVEENGQSSFITSPILHS	191
FR9	RNF43	G659Vfs*41	0,3949	HPQRKRRGVPPSPPLAL GPRMQLCTQLARFFPITP PVWHILGQRHTP	193
FR10	AXIN2	G665Afs*24	0,1974	ASRHHLWGATAGTPAP PPVPTCSPRTLRLCLP	195
FR11	ERF	L525Sfs*6	0,2962	GPGEAGGSPQGG	197
FR12	ERF	G299Efs*12	0,2962	GGGPGSGEAPTPSAL RT	199
FR13	CHD3	R599Vfs*16	0,3949	GNPDVPPPVLFKADQSE SSLSSG	201
FR14	KMT2C	S143Vfs*3	0,2962	AFCYCGEKVP	203
FR15	FOXA1	M253_N256del	0,0987	TLHPDSGNGCYLRRQK	205
FR16	FOXA1	F254_N256delins Y	0,2962	LHPDSGNMYGCYLRRQ	207
FR17	FOXA1	F254_G257delins C	0,0987	LHPDSGNMCCYLRRQK R	209

Таблица 4

Идентификатор неоантигена	Полинуклеотидная последовательность	SEQ ID NO:
FR1	Cagaacctgcagaatggagggggagcaggtcttcagccacctgccggggcggcggcgcgcggtggtcggcgggcgcgagccaatcagtagctctcggggcccccgcggac caaaccaaaaaccaaacccacctggcggtgcgaggtgtgtgattatgagaccaacgtggccagg aacctccgattcaca	178
FR2	cagaacctgcagaatggagggggGgagcaggtcttcagccacctgccggggcggcggcgcgcggtggtcggcgggcgcgagccaatcagtag	180
FR3	aaccaagagaagaggcagAaaaaactattga	182
FR4	gatgctgctcagtcgccaggggctcagcacaggcaggggagagggaaatctgggggtggtggcagctccccctgagaaaagtgagagtcaccaaaaaggaggtgtttatcatcccagttga	184
FR5	tttgcctttctgttgaAaaaaacaggactgccctttcgtctatttgcagacaatgttacaatt tactggcaataaagtttggatagacctaa	186
FR6	agaagcagaagatcggctataaaaagataatg	188
FR7	agtataattgtacaAGagagagagagcagagagaagggcagaagagccaagtgatgga aatagtgallaa	190
FR8	aataactggtcacagAaaaaaacacagaaatgtcaatgtcatgatgagttgaggaatgg ccaateactcttattacatgcccaatattacacagctgaaa	192
FR9	caccacagaggaaggcgggggtccctccagccccctggctctggccccagatg caactgtgacccagcttccagattttccccattacccccaggtgtgcatatccttggccca gaggcacacccctgatc	194
FR10	gccagccggcaccatctgtgggggcaacagcgggcacccccgaccacccccgtgccac ctgttcaccaggaccctcgatgcctcccctgacc	196
FR11	gggcctggggaggctggggggccctcaccacaagcgggtgagc	198
FR12	ggcggggggcccagcggctcagggaggctcccactctccttcagcctgaggacatgaaa	200
FR13	ggaaatccagatgtccccccccctccttcaaggcagatcagagcgagagttctttgtaagtg ggtag	202
FR14	gctttttgtactgtgggaaaaagtcttagga	204
FR15	acgctgcacccggactccggcaacggctgctactgcgccccaagaagcg	206
FR16	acgctgcacccggactccggcaacatgtacggctgctactgcgccccaaga	208
FR17	ctgcacccggactccggcaacatgtgctgctactgcgccccaagaagcgc	210

В табл. 5 представлены происхождение генов и аминокислотные последовательности выявленных неоантигенов, возникающие в результате событий слияния генов (FUS). В табл. 6 представлены соответствующие им полинуклеотидные последовательности. В табл. 7 представлена доля неоантигенов FUS в проанализированных базах данных.

Таблица 5

Идентификатор неоантигена	Гибридный ген	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO:
FUS1	SLC45A3->ELK4	CGASACDVSLIAMDSA	211
FUS2	ARHGEF38->ARHGEF38-IT1	TEYNQKLQVNFSESK	213
FUS3	MSMB->NCOA4	TEISCCTLSSEENEYLPRPEWQLQ	215
FUS4	LIPE->CNFN	GLVSFGEHFCLPCALC	217
FUS5	TMPRSS2->ERG	NSKMALNSEALSVVSE	219
FUS6	TMPRSS2->ERG	CEERGAAGSLISCE	221

FUS7	NME4->DECR2	LWFQSSSELSPTGAPWPSRRPTWRGTTVSPRT ATSSARTCCGKWPSSQEAALGLGSLLRFS CGTAAIR	223
FUS8	INCA1->CAMTA2	WGMELAASRRFSWDHHSAGGPPRVPSVRS GAAQVQPKDPLRLRTLAGCLARTAHLRPGA ESLPQQLHCT	225
FUS9	AP5S1->MAVS	KEQILAVASLVSSQSIHPSWGSPLSRI	227
FUS10	DIP2A->DIP2A-IT1	LELELSEGVCFRLR	229
FUS11	MBTPS2->YY2	QQLRIFCAAMASNEDFS	231
FUS15	D2HGDH->GAL3ST2	HVVVGYGHLDTSGSSSSSWP	345
FUS18	OPN3->CHML	DGFSGSLFAVVTRRCYFLKWRITIFQSLMW L	233
FUS19	GTF2F1->PSPN	KMHFSLKEHPPPCPP	235
FUS23	NUDT14->JAG2	DLRRVATYCAPLPSSWRPGTGTIPPRMRS	237
FUS24	DMPK->SIX5	LQERMELLACGAERGAGGWGGGGGGGG DRRGGGGSAPALADFAGGRG	239

Таблица 6

Идентификатор неоантигена	Полинуклеотидная последовательность	SEQ ID NO:
FUS1	TGCGGGGCCTCTGCCTGTGATGTCTCCCTCATTGCTATGGACAGTGCT	212
FUS2	ACCGAATACAACCAGAAATTACAAGTGAATCAATTTAGTGAATCCAAA	214
FUS3	ACAGAAATTTTCATGTTGCACCCTGAGCAGTGAGGAGAATGAATACCTCCAAGACCAGAGTGGCAGCTCCAG	216
FUS4	GGGCTGGTGTCTCTCGGGGAGCACTTTTGTCTGCCCTGCGCCCTTGCCA	218
FUS5	AACAGCAAGATGGCTTTGAACTCAGAAGCCTTATCAGTTGTGAGTGAG	220
FUS6	TGTGAGGAGCGCGGCGGCAGGAAGCCTTATCAGTTGTGAG	222
FUS7	CTGTGGTTCCAGAGCAGTGAGCTGTCCCGACGGGAGCGCATGGCCACGCCCGCCGACGTGGAGGGGGACGACTGTCTCCCGCGTACCGCCACCTTCTGCCCCGACCTGTGCGGGACAAAGTGGCCTTCATCACAGGAGGCGGCTCTGGGATTGGTTCCGGATTGCTGAGATTTTCATGCGGCACGGCTGCCATACGG	224
FUS8	TGGGGGATGGAGTTGGCAGCGTCTCGGAGTTCTCTGGGACCACCCTCCGCCGGGGGCGCCAGAGTGCCAAGCGTCCGATCCGGCGCCGCCAAGTGCAGCCCAAGACCCGCTCCGCTCCGCACCCTGGCAGGCTGCCTAGCCAGGACTGCGCACCTGCGCCTGGGGCGGAGTCTTACCCCAACCCAGCTTCACTGCACA	226
FUS9	AAGGAACAGATTTTAGCTGTGGCCAGTCTCGTTTCTCTCATGTCATCCACCCTTCATGGGGCCAGAGCCCTCTCTCCAGAACTC	228
FUS10	CTGGAGCTGGAGCTGTGCGAAGGAGTCTGCTTCAGATTAAGA	230
FUS11	CAGCAGCTAAGGATATTTTGTGCAGCCATGGCCTCCAACGAAGATTTCTCCA	232
FUS15	CACGTGGTGGGCTATGGCCACCTTGATACTCCGGGTCATCTCCTCCTCCTCTGGCCC	346
FUS18	GACGGGTTTAGCGGCAGCCTCTTCGCAGTTGTCACCAGACGCTGTACTTCTAAAATGGCGGACAATCTCCACAGAGTTGATGTGGTTA	234
FUS19	AAAATGCATTCTCCCTCAAGGAGCACCCACCGCCCTTGCCGCT	236
FUS23	GATCTGCGCCGGGTCGCCACATACTGCGCTCCTTTACCCTCATCGTGGAGGCTGGGACTGGGACAAACGATACCACCCCGAATGAGGAGCTGC	238
FUS24	TTGCAGGAGCGGATGGAGTTGCTTGCCCTGCGGAGCCGAGCGGGGGCCGGCTGGGGGGAGGCGGTGGCGGGCGGCGGCGACCGAAGAGGAGGAGGAGGAAGCGCGCCAGCTCTTGCAGACTTTGCAGGCGCCGAGGG	240

Таблица 7

Идентификатор неоантигена	TCGA (%)	SU2C (%)
FUS1	30,51	23,26
FUS2	63,58	46,51
FUS3	35,04	23,26
FUS4	12,20	11,63
FUS5	12,40	18,60
FUS6	21,46	32,56
FUS7	3,35	16,28
FUS8	1,18	32,56
FUS9	N.O.	18,60
FUS10	N.O.	13,95
FUS11	1,57	13,95
FUS15	0,39	9,30
FUS18	0,39	9,30
FUS19	8,86	30,23
FUS23	N.O.	9,30
FUS24	N.O.	9,30
N.O., не обнаружено		

В табл. 8 представлены происхождение генов и аминокислотные последовательности выявленных неоантигенов, возникающие в результате событий альтернативного сплайсинга (AS). В табл. 9 представлены соответствующие им полинуклеотидные последовательности. В табл. 10 представлена доля неоантигенов AS в проанализированных базах данных.

Таблица 8

Идентификатор неоэпитопа	Ген	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO:
AS1	ABCC4	LTFLDFIQVTLRVMGSGMENGSSYFFKPFWS GLGVGLSAWLCVMLT	241
AS2	SLC30A4	FMIGELVGEELCCQLTFRLPFLESQCQAVVTQA LRFNPSFQEVCIYQDTDLM	243
AS3	DNAH8	VAMMVPDRQVHYDFGL	245
AS4	NCAPD3	WCPLDLRLGSGTCLTCRHHQTSHE	247
AS5	DHDH	VVGRRHETAPQLLVPDRAGGEGGA	249
AS6	ACSM1	DYWAQKEKISIPRTHLC	251
AS7	ACSM1	DYWAQKEKGSFLRPSL	253
AS8	CACNA1D	LVLGVLSGHSRSL	255
AS9	CACNA1D	PVPTATPGVRSVTSPQGLGLKFI	257
AS10	CHRNA5	KENDVRECDVYLQMQIFFHFKFRSYFH	259
AS11, AS33	CPNE7	VPFRELKNORTAQGAPGIHHAASPAANLCPD ARHAQHTRIPCGAGQVRAGRGPEAGGGVLQP QRPAPEKPGCPCRRGQPRLHTVKMWRA	261
AS12	EVPL	FARKMLEKVHRQHLQLSHNSQE	263
AS13	GRIN3A	KRSFAVTERII	265
AS14	IQCG	MFLRKEQVGPFSFMSL	267
AS15	LRR45	VLRFDLKVRYLHS	269
AS16	LRR45	GNTTLQQLGEASQAPSGSLIPLRLLWEVRG	271
AS17	MPHOSPH9	GLNLNTRDPGGYSYSIWWKNNAKNR	273

AS18	NWD1	WKFEMSYTVGGPPPHVHARPRHWKTDR	275
AS19	NWD1	QWQHYHRSGEAAGTPLWRPTRN	277
AS20	PFKFB4	KVLNEIDAVVTVPPSLSTSQIPQGCCIL	279
AS21	RECQL4	ANLKGTLQVRSQAVSPR	281
AS22	TONSL	LQAAASGQGKQGVPCPWGCCAYAESPRALIS GDAPSQVEREVGPCLNTHSLSHRSPQLPGLPH PKQPSV	283
AS23	ZNF614	KIQNKNCPD	285
AS32	TONSL	GEVELSEGEGQRHLAFPWACSGPGWRGVCC AAVEPA	287
AS63	TDRD1	IEMKKLLKS	289
AS34	LRRC45	KMRAIQAEGGHGQACCGGAWGWAPGDGGP QGMLTHLPTLGFQSAWTWRREDADRAWRTP KACASRRWSI	291
AS35	AMACR	LLEPFRRGEPGRGLLSGSSRGEGPGRSIEAA PATPLPCCRKNPCRPQPSRFLPPRVLLVILPKLD CPKLGf	293
AS36	CCNF	PSGRRTKRLVTLRSGCAIQCWHPRAGVPSAL PHTERPPRLVRGAADPRTVTLGRSPA VMPRAP A	295
AS37	RECQL4	CHLFLQPQVGTTPPHTASARAPSGPPHPHESCP AGRRPARAAQTCARRQHGLPGCEEAGTARVPS LHLHLHQAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRG	297
AS38	LRRC45	KELKLEQQVGGQGLRGVGGVRRGGFVTLTT HTPFPSQEA AERESK	299
AS39	CCNF	GEISQEEVPPSRHLGVSWGAGVWAGLTLGAS APPNSSFPSGAELQPVVCCIRSDTRQPRPPDFPQ HRGDPRLPQLSLGAENQTVSYPAFWLRHTMLA SSCRPSSLSASSHREAPKACQGSSRSQSDSPGTE PCSHASGPCVTSTVSSPGLLPQRLPLALTGLPV EEDGFEHAGA	301
AS40	LRRC45	DCMLSEEGQARRGGSLCSLAAHTIASAARG RFLSRLSNFCAVVKASRGAPSTWE	303
AS41	RHPN1	EAFQRAAGEGGPGRGGARRGARVLQSPFCRA GAGEWLGHQSLR	305
AS42	SLC39A4	PEPRRLSPGEPRGRPRKGWGIWGLCGARVGP KAWR	307
AS43	CPNE7	VPFRELKNVSVLEGLRQGRLLGPGCSCHCPRPS QARLTPVDVAGPFLCLGDPGLFPPVKSSI	309

AS44	FASN	FVSLTAIQ MASSATPWGRWPVATPTAACPRRR PSSLPTGGDSASKKPIRRAPWPWACPGRSVN SAAPRAWCPPATTPRTQSPSRDLRPRCLSSWSS	311
AS45	RBM47	PVAIKPGT GPPNNSIHHGGSKRSENSYCRDLRG QLRAICCSSYSHDRHTTEERGSRGRHVWRIRRL HTSGLPCCCHSGPHRRLPDILRLVTSTKTDHT NTTEGTLDYL	313
AS46	SERINC5	KWNKNWT ATLGALTIRGHKLLCHLPHLLSSV QQTCSRSSR	315
AS47	AGRN	FKKFDGPG CGERGGRTARALWARGDSVLTPA LDPQTPVRAPSLTRAAAAV	317
AS48	SYT17	ENASLVFT GSNSPIACELSSHPAHGISPWIPSP GNEHFHGKQVKAIVKVE	319
AS49	PDF	RLTQRLVQ GWTPMENRWCGRRAGQPASSS TRWTTCAAACLLTKWTAGRSQTSIG	321
AS50	LRIF1	ENSGNASR WLHVPSSDDWLGWKSSAITSNS	323
AS51	CPNE7	GMECTLGQ VGAPSPREEDGWRGGHSRFA DVPAPQGPCWGGQPGSAPSAPEQSLD	325
AS52	ILDR1	KGSVERRS VSLGHPAEGWAWAERSLQPGMTT ANTGCLSFHHRGCLLPVLPKLHCGLGGLPLVR AKEIKRVQRAGESSLPVKLLTVASAVIAVLW GRPSEVTGENEAQHD	327
AS53	PEX10	FGLTTLA GRSSHGTSLRAATHTKSGDGGQG AARQCEKLELARATRPWGRSTSASSRWTHRG YMCPPRCVAVACW	329
AS54	ABCC4	IIDSDKIM AVCMGCLLTRHVQCQAMEMQQ	331
AS55	SPOCK1	DGHSYTSK VNCLLLQDGFHGCVSITGAAGRNN LSIFLFLMLCKLEFHAC	333
AS56	TM9SF3	LLNAEDYR CAIHSKEIYLLSPSPHQAMDKFSLC CINCNLCLHVFLLLFFQNKDVWLISNILLWY GGI	335
AS57	KLK3	TGGKSTCS APGPQSLPSTPFSTYPQWVILITEL	337
AS58	CREB3L1	VETLENANS FSSGIQPLLCSLIGLENPT	339
AS59	ACSL3	AGAGTISE GSVLHGQRLECDARRFFGCGTTILA EWEHH	341
AS55.1	SPOCK1	DGHSYTSK VNCLLLQDGFHGCVSITGAAGRNN LSIFLFLMLCKLEFHA	385

Таблица 9

Идентификатор неоэпитопа	Полинуклеотидная последовательность	SEQ ID NO:
AS1	CTGACGTTTTAGATTTTCATCCAGGTAACGTTGAGAGTAAT GTCAGGATCTCAAATGGAACCGGAAGTTCCTATTTTTCA AGCCCTTTTCATGGGGTCTGGGGTGGGACTCTCGGCCCTG GCTGTGTGTAATGTTAACT	242
AS2	TTCATGATTGGAGAACTGTAGGTGAGTTGTGTGCCAACT CACTTCCGTTTACCTTTCCTCGAGAGTCTTTGTCAAGCTGT AGTTACACAGGCTTTGAGGTTTAAACCATCTTTTCAGGAAG	244

	TTTGTATTTATCAAGACACTGATCTCATG	
AS3	GTTGCTATGATGGTTCCTGATAGACAGGTTTCATTATGACTT TGGATTG	246
AS4	TGGTGTCGCTGGATCTTAGACTCGGTTCCACTGGATGTCT CACATGCAGACATCATCAAACGTCACATGAG	248
AS5	GTCGTGGGAAGGCGTCATGAAACAGCTCCTCAACCCCTGC TGGTGCCCGACCGAGCTGGTGGTGAAGGGGGAGCA	250
AS6	GACTACTGGGCTCAAAGGAGAAGATCAGCATCCCCAGAA CACACCTGTGT	252
AS7	GACTACTGGGCTCAAAGGAGAAGGGATCATCTTCATTCC TGCGACCATCCTGT	254
AS8	CTTGTACTTGGTGTATTGAGCGGGCACAGTGGCTCACGCCT A	256
AS9	CCTGTCCAACCTGCTACACCTGGGGTAAGATCAGTGACTA GTCCCCAGGGGCTGGGCCTTTTCCTTAAGTTTATT	258
AS10	AAGGAAAATGATGTCCGTGAGGTCTGTGATGTGATTTTAC AAATGCAGATCTTCTTCCATTTAAGTTCAGAAGTTACTTT CAT	260
AS11, AS33	GTGCCCTTCCGGGAGCTCAAGAACCAGAGAACAGCACAAAG GGGCTCCTGGGATCCACCACGCGGCTTCCCCGTTGCTGCC AACCTTGCGACCCGGCGAGACACGCACAGCACACACGCA TCCCCGCGGCGCTGGCCAAGTGCCTGGCCGAGGTCC CGAAGCAGGTGGTGGAGTACTACAGCCACAGAGGCCTGCC CCCGAGAAGCCTGGGTGTCCCTGCCGGAGAGGCCAGCCCA GGCTGCACACCGTGAAGATGTGGAGGGCG	262
AS12	TTTGCTAGAAAAATGCTGGAGAAGGTACACAGACAACACC TACAGCTTCCACAATAGCCAGGAA	264
AS13	AAGAGAAGTTTTGCTGTCACGGAGAGGATCATC	266
AS14	ATGTTCTTAGAAAAGGAGCAGCAGGTGGGTCCCCACAGCT TTTCTATGCTT	268
AS15	GTGCTGCGCTTTCTGGACTTAAAGGTGAGATACCTGCACTC T	270
AS16	GGCAACACCACCTCCAGCAGCTGGGTGAGGCCTCCAGG CGCCCTCAGGCTCCCTCATCCCTCTGAGGCTGCCTCTGCTC TGGGAAGTGAGGGGC	272
AS17	GGACTGAACTTAAATACTGATAGACCAGGTGGTTACAGCT ATTCAATTTGGTGGAAAAACAATGCCAAGAACAGA	274
AS18	TGGAAATTCGAGATGAGCTACACGGTGGGTGGCCCGCCTC CCCATGTTATGCTAGACCCAGGCATTGGAAAACCTGATAG A	276
AS19	CAGTGGCAGCACTACCACCGTCCAGGTGAGGCCGCAGGGA CTCCCTCTGGAGACCCACAAGAAAC	278
AS20	AAGGTCTCAACGAGATCGATGCGGTAGTTACCGTCCCTC CCTCCCTGTCTACCTCCCAGATACCGCAGGGCTGCTGCATC ATATTG	280
AS21	GCCAATCTGAAAGGCACCTGCAGGTGAGGAGTGGGCAG GCAGTGAGTCCACGC	282
AS22	CTCCAGGCGGCTGCCTCGGGCCAAGGCAAGCAGGGCGTCC CTTGTCCTGGGGTTGCTGTGCCTACGCTGAGAGTCCCCGG GCCCTGATTTCCGGGAGATGCTCCATCACAGGTGGAGCGGG	284

	AGGTGCCGGGCCCTGCCTCAACACGCATTCTCTCTCCAC AGATCCCCACAGCTCCCAGGCCTTCCACACCCCAAGCAGC CTTCTGTT	
AS23	AAAATTCAGAATAAAAAATTGTCCAGAC	286
AS32	GGCGAGGTGGAGCTCTCAGAGGGCGGTGAGGGCCAGCGG CACCTTGCATTTCCCTGGGCCTGCTCTGGGCCGGGCTGGAG AGGGGTGTGCTGTGCTGCTGTGGAGCCTGCT	288
AS63	ATTGAAATGAAAAAACTGTAAAAAAGT	290
AS34	AAGATGCGGGCCATCCAGGCCGAGGGTGGGCACGGGCAG GCCTGCTGTGGAGGGCCTGGGGATGGGCACCGGGGAC GGGGGCCCCAGGGGATGCTCACGCATACTCTGCCACCC TGGGCTTCCAGAGCGCCTGGACATGGAGAAGAGAAGATGC AGACAGAGCCTGGAGGACTCCGAAAGCCTGCGCATCAAG GAGGTGGAGCATA	292
AS35	CTGCTGGAGCCCTTCCGCCGCGGTGAGCCCCGGCCCCGCG GGCTGCTCTCGGGAAGTTCCCGCGGAGGGGAGGGGCTGG CCGTTTCGATCGAGGCTGCACCCGCCACACCTTTGCCCTGTT GCCGCAAGAACCTTGTCCGGCCCCAGCCTTCCAGATTTTG CCTCCTAGGGTATTGTTAGTGATCATTCTCCCAAAGTGG TTGTCCAAAAGTGGGTTT	294
AS36	CCCTCGGGCGGAGAACCAAACGGTTAGTTACCTGCGTT CTGGCTGCGCCATAACAATGCTGGCATCCTCGTGCCGGCCC AGTTCCCTCAGCGCTTCCCTCACACAGAGAGGCCCCCAAGG CTTGTACAGGGAGCAGCAGATCCCAGGACAGTGACCCTGG GACGGAGCCCTGCAGTCATGCCTCGGGCCCCCTGCG	296
AS37	TGCCACCTCTTCTGCAGCCCCAGGTTGGCACCCCCCCCC CCACACTGCCAGTGCTCGAGCCCCAGTGGTCCACCCAC CCTCATGAAAGTTGCCCTGCAGGGCGAAGACCTGCGAGAG CTGCGCAGACATGTGCACGCCGACAGCACGGACTTCTGG CTGTGAAGAGGCTGGTACAGCGCGTGTCCAGCCTGCAC CTGCACCTGCACCAGGCCGCCCTCGGAGCAGGAAGGGGCC GTGGGTGGGAGAGGCCTGTGCCAAAGTACCCCCCTCAAG AGGC	298
AS38	AAGGAGCTCAAGCTGGAGCAGCAGGTGGGTGGGCAGGGC TTGAGAGGGGTGGGCCAAGGGGTGCGTGGCGGCTTCGTGA CCCTCACTACCCATACCCCGTTCCCTCCCAGGAAGCTGCA GAGCGGGAGTCTAAA	300
AS39	GGAGAAATCAGCCAGGAAGAGGTGCCTCCCTCCCGCCACC TGGGCGTCTCATGGGGTGTGGGGTGTGGGCGGGCCTCAC CCTCGGGGCTCTGCACCCCCTAACCTAGCTTCCCTCAG GTGCTGAGCTACAGCCAGTTGTGTGCTGCATTAGGAGTGA CACAAGACAGCCCCGACCCCCGACTTTCCTCAGCACAGG GGAGATCCACGCCCTCCTCAGCTCTCCCTCGGGGCGGAGA ACCAAACGGTTAGTACCCTGCGTCTGGCTGCGCCATA ATGCTGGCATCCTCGTGCCGGCCAGTTCCTCAGCGCTTC CTCACACAGAGAGGCCCCCAAGGCTTGTACAGGGGAGCAGC AGATCCCAGGACAGTGACCCTGGGACGGAGCCCTGCAGTC ATGCCTCGGGCCCCCTGCGTAACTCCACTGTCTCCAGCCA GGTCTCCTTCTCAGAGGCTATTGCCTCTCGCTCTGACTGG GCTCCCTGTGGAGGAAGATGGTTTCGAGCACGCGGGAGCC	302

AS40	GACTGCATGCTCAGCGAGGAAGGTGGGCAGGCGCGGCGG GGTGGATCCCTCTGCTCCTTAGCTGCCCACACCATTGCCTC GGCAGCCCAGGTCGCTTCCTCTCCAGGCTTCCAATTCT GTGCCGTAGTTAAAGCGAGCAGGGGCGCCCTTCTGCAC CTGGGAG	304
AS41	GAGGCCTTCCAGAGGGCCGCTGGTGAGGGCGGCCCGGGCC GCGGTGGGGCACGGCGCGGTGCCAGGGTGTTCAGAGCCC CTTTTGCAGGGCAGGAGCTGGGGAGTGTTAGGACATCAG TCCCTCAGG	306
AS42	CCTGAGCCAGGAGACTGAGCCAGGTGAGCCAGGGGG CGACCCCGAAGGGCTGGGGGATCTGGGGTTTGTGTGGAG CGCGGTGGGGCCAAGGCTTGGCGG	308
AS43	GTGCCCTTCCGGGAGCTCAAGAACGTGAGTGTCTGGAGG GGCTCCGTCAAGGCCGCTTGGGGTCCCTGTTTCATGTCAC TGCCCAAGACCTTCCAGGCCAGGCTCACGCCAGTGGATG TGGCAGTCCCTTCTGTGTCTGGGGGATCCTGGGCTGTTT CCCCAGTCAAGAGCAGTATC	310
AS44	TTTGTGAGCCTGACTGCCATCCAGATGGCATCGTCGGCCAC TCCCTGGGGGAGGTGGCTGTGGCTACGCCGACGGCTGCC TGTCCAGGAGGAGGCGCTCCTCGCTGCCTACTGGAGGGG ACAGTGCATCAAAGAAGCCATCTCCCGCCGGGCGCCATG GCAGCCGTGGGCTTGTCTGGGAGGAGTGTAAACAGCGCT GCCCCCGGGCGTGGTGCCTGCCACAACCTCAAGGA CACAGTACCATCTCGGGACCTCAGGCCCCGTGTTGAG TTCGTGGAGCAGC	312
AS45	CCAGTTGCCATTAACCTGGTACAGGGCCGCCAATAACT CCAGTATACACGGTGGCTCCAAACGTTACAGAAATTCCTA CTGCCGGATCTACGGGGCCAGTTACGTGCCATTTGTGTCT CCAGCTACAGCCACGATCGCCACACTACAGAAGAACGCGG CAGCCGCGCCGCCATGTATGGAGGATACGCAGGCTACAT ACCTCAGCCTTCCCTGCTGCTGCCATTCAGGTCCCATCC CCGACGTCTACCAGACATACTGAGGCTGGTGACCAGCAGC AAGACAGACCACAAAACACCACTGAAGGAACGCTTGACT ATTTA	314
AS46	AAGTGGAACAAGAAGTGGACAGCCACACTCGGGGCTCTTA CAATCAGGGGTCATAAGCTGCTATGTCACCTACCTCACCTT CTCAGCTCTGTCCAGCAAACCTGCAGAAGTAGTTCTAGA	316
AS47	TTCAAGAAGTTCGACGGCCCTTGTGGTGAGCGCGGGCGG GGCGCACGGCTCGAGCTCTGTGGGCGCGCGGCGACAGCGT CCTGACTCCTGCCCTCGACCCAGACCCCTGTCAGGGCGC CCTCCCTGACCCGAGCCGAGCTGCCGTG	318
AS48	GAAAATGCCAGCCTAGTGTTTACAGGATCCAACAGCCCA TACCAGCCTGCGAAGTGAAGTACCCAGCTCATGGTAT CAGTCTTGGATACCCTCACCTGGAAATGAACATTTCCATG GCATAAAGAAGCAAGTAAAGGCAATAAAAGTAGAA	320
AS49	CGGCTGACGCAACGGCTGGTCCAGGCTGGACCCCAATGG AGAACAGGTGGTGTGGCAGGCGAGCGGGTGGGCAGCCCG CATCATCCAGCACGAGATGGACCCTGCAGGGCTGCCTG TTTATTGACAAAATGGACAGCAGGACGTTACAAAACGTCT ATTGGA	322
AS50	GAAAATTCAGGCAACGCCTCGCGTTGGCTGCATGTACCAA GTAGTTCAGACGATTGGCTCGGATGGAAAAAATCTTCTGC	324

	AATTACTTCCAATTCC	
AS51	GGCATGGAGTGCACCCTGGGGCAGGTGGGTGCCCCGTCCC CTCGGAGGGAGGAGGACGGTTGGCGTGGGGGCCACAGCC GATTCAAGGCTGATGTACCAGCACCGCAGGGACCCCTGCTG GGGTGGCCAACTGGCTCTGCCCCCTCCTCAGTCTCCTG AACAGTCATTATTAGAT	326
AS52	AAAGGGAGTGTGGAGAGGCGCTCGGTGAGCCTGGGGCAT CCTGCTGAGGTTGGGCATGGGCAGAGAGGAGCCTCCAGC CAGGCATGACCACAGCCAACACAGGCTGCCTCTCATTCCA CCACAGAGGGTGCCTCTCCCTGTTTGGCCAAATTACACT GTGGGCTAGGTGGAACCTCTGTGCAGAGCTAAAGAAAT CAAGCGAGTGCAGAGGGCAGGGGAGAGTTCGCTGCCTGTG AAGGCCTTCTCACCGTGCCTCGGCTGTATCGCAGTCT GTGGGGTAGGCCAAGCGAGGTCACAGGAGAAAATGAGGC TCAGCATGAT	328
AS53	TTTGGCCTACCACACTTGCAGGTAGAAGCTCCCACGGGA CCTCAGGACTGAGGGCAGCCACACACACCAAGTCTGGGGA CGGTGGCCAGGGGGCTGCCAGGCAGTGTGAGAAGCTCCTG GAGCTGGCCCGGGCTACCAGACCCTGGGGGAGGAGTACGT CAGCATCATCCAGGTGACCCATCGCGGATACATGTGCC TCCTCGCTGCGCCGTGGCTGCTGG	330
AS54	ATTATTGACAGCGACAAGATAATGGCAGTGTGCATGGGT GCCTGCTCACACGTCATGTGCAATGCCAGGCCATGGAGAT GCAACAG	332
AS55	GATGGCCACTCCTACACATCCAAGGTGAATTGTTTACTCCT TCAAGATGGGTTCATGGCTGTGTGAGCATCACCGGGCA GCTGGAAGAAGAAACCTGAGCATCTCCTGTTCTTGATGCT GTGCAAATGGAGTTCATGCTTGT	334
AS56	CTACTAAATGCAGAAGATTACCGGTGTGCCATTATTCAA AAGAGATTTATCTTTTCCCCCTCCCCACCAGGCAATG GACAAGTTTTCTCTGTGCATCAACTGCAATCTATGTTT ACATGTATTCTTTTACTACTATTTTTTCAAACAAGATG TATGGCTTATTTCAAACATCATTTTACTTTGGATATATGGC GGTATT	336
AS57	ACAGGGGGCAAAGCACCTGCTCGGCTCCTGGCCCTCAGT CTCTCCCCTCCACTCCATTCTCCACCTACCCACAGTGGGT ATTCTGATCACCGAACTG	338
AS58	GTGGAGACCCTGGAGAATGCCAACAGCTTCTCCAGCGGGA TCCAGCCACTCCTCTGTTCCCTGATGGCCTGGAGAATCCC ACC	340
AS59	GCTGGGGCTGGAACAATTTCCGAAGGTAGTGTCTCCATG GTCAGAGGCTGGAGTGTGATGCCAGACGTTTTTTGGGTGT GGGACTACAATACTGGCAGAGTGGGAGCACCAT	342
AS55.1	GATGGCCACTCCTACACATCCAAGGTGAATTGTTTACTCCT TCAAGATGGGTTCATGGCTGTGTGAGCATCACCGGGCA GCTGGAAGAAGAAACCTGAGCATCTCCTGTTCTTGATGCT GTGCAAATGGAGTTCATGCT	386

Таблица 10

Идентификатор неопитопа	TCGA (%)	SU2C (%)
AS1	28,5	2,3

AS2	18,5	N.O.
AS3	10,4	25,6
AS4	27,4	41,9
AS5	18,7	9,3
AS6	5,1	16,3
AS7	5,1	16,3
AS8	N.O.	14,0
AS9	1,2	18,6
AS10	8,9	27,9
AS11	1,2	48,8
AS12	0,4	34,9
AS13	5,7	32,6
AS14	N.O.	30,2
AS15	4,5	46,5
AS16	0,6	18,6
AS17	N.O.	37,2
AS18	12,6	20,9
AS19	12,6	20,9
AS20	0,2	16,3
AS21	N.O.	11,6
AS22	0,2	20,9
AS23	3,1	18,6
AS32	57,1	N.O.
AS33	47,6	N.O.
AS34	N.O.	42,9
AS35	N.O.	42,9
AS36	N.O.	40,5
AS37	N.O.	38,1
AS38	N.O.	35,7
AS39	N.O.	33,3
AS40	N.O.	33,3
AS41	N.O.	33,3
AS42	N.O.	33,3
AS43	N.O.	31
AS44	N.O.	28,6
AS45	N.O.	26,2
AS46	N.O.	26,2
AS47	N.O.	23,8
AS48	N.O.	23,8
AS49	N.O.	23,8
AS50	N.O.	23,8
AS51	N.O.	23,8
AS52	15,9	38,1
AS53	16	9,5
AS54	11,9	N.O.
AS55	12,1	N.O.
AS56	14,7	N.O.
AS57	14,9	N.O.
AS58	16,6	N.O.
AS59	17,6	N.O.
AS63	18,0	
Н/О, не обнаружено		

Пример 3. Идентификация дополнительных неоантигенов с использованием биоинформатики
Дополнительные неоантигенные последовательности выявляли посредством дополнительных

запросов, как описано в примере 2. В табл. 11 представлены аминокислотные последовательности дополнительных неоантигенов. В табл. 12 представлены соответствующие им полинуклеотидные последовательности.

Таблица 11

Идентификатор неоантигена	Ген(ы)	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO:
P16	MSMB-NCOA4	GVPGDSTRRAVRRMNTF	343
P17	MSMB-NOCA4	GVPGDSTRRAVRRMNTF	343
P19	TMEM222-LOC644961	WTPIPVLTRWPLPHPPPWRRATSCRMARS SPSATSGSSVRRRCSSLPSWVWNLAASTRP RSTPS	347
P22	SLC45A3-ELK4	SLYHREKQLIAMDSAI	349
P27	FAM126B-ORC2	LHPQRETFTPRWSGANYWKLAFVGAEG TFPAAATQRGVVVRPA	351
P35	TMPRSS2-ERG	NSKMALNSLNSIDDAQLTRIAPPRSHCCFW EVNAP	353
P37	TSTD1-F11R	MAGGVLRRLLCREPDRDGDGKASREETV VPLHIGDPVVLPGIGQCYALF	355
P46	TP53 (R213D)	DDRNTFDIVWWCPMSRLRLALTVPSTTT TCVTPAWAA	357
P48	AR.p.H875Y	VQPIARELYQFTFDLLI	359
P50	AR (W742C)	QMAVIQYSCMGLMVFAM	361
P56	SPOP (F102C)	PKSEVRAKCKFSILNAK	363
P58	AR (Q903H)	MMAEII SVHVPKILSGK	365
P59	FOXA1 (F254V)	LHPDSGNMVENGCYLRR	367
P60	FOXA1.p.F266L	CYLRRQKRLKCEKQPGA	369
P61	FOXA1.p.R261G	MFENGCYLGRQKRFKCE	371
P73	TP53 (G266E)	DSSGNLLERNSEFEVRV	373
P76	AR-V3	VFFKRAAEGFFRMNKLKESDTPNPKPYCM AAPMGLTENNRNRKKSURETNLKAWSWPL LNHT	375
P77	AR-V3	VFFKRAAEGFFRMNKLKESDTPNPKPYCM AAPMGLTENNRNRKKSURETNLKAWSWPL NHT	375
P82	AR-V7	YEAGMTLGEKFRVGNCKHLKMTRP	379
P87	AR-Intron	YEAGMTLGGKILFFLFLLLPLSPFSLIF	381
P97	FOXRED2-TXN2	GYLRMQGLMAQRLLLR	383
P98	TP53 (R213D)	DDRNTFDIVWWCPMSRLRLALTVPSTTT TCVTPAWAA	357

Таблица 12

Идентификатор неоантигена	Ген(ы)	Нуклеотидная последовательность	SEQ ID NO:
P16	MSMB-NCOA4	GGAGTTCCAGGAGATTCAACCAGGAGAG CAGTGAGGAGAATGAATACCTTC	344
P17	MSMB-NOCA4	GGAGTTCCAGGAGATTCAACCAGGAGAG CAGTGAGGAGAATGAATACCTTC	344
P19	TMEM222-LOC644961	TGGACGCCCATCCCGGTGCTCACGAGAT GGCCACTACCACATCCTCCTCCCTGGAGA AGAGCTACAAGCTGCCGGATGGCCAGGT CATCACCATCAGCAACAAGCGGTCCAG TGTCCGGAGGCGCTGTTCCAGCCTTCCTT CCTGGGTATGGAATCTTGCAGCATCCACG AGACCACGTTCAACTCCATCATGAA	348

P22	SLC45A3-ELK4	TCCCTCTACCACCGGGAGAAGCAGCTCA TTGCTATGGACAGTGCATC	350
P27	FAM126B-ORC2	CTTCATCCTCAGAGGGAACATTCACTCC CCGGTGGTCGGGCGGAATTACTGGAAA TTGGCTTTCCCGTTGGGGCCGAAGGTAC CTTCCCTGCGGCGGCGACTCAGCGGGT GTCGTTCCGGCCGGCGTG	352
P35	TMPRSS2-ERG	AACAGCAAGATGGCTTTGAACTCATTA ACTCCATTGATGATGCACAGTTGACAAG AATGCCCCCTCCAAGATCTCATTGCTGTT TCTGGGAAGTAAACGCTCCT	354
P37	TSTD1-F11R	ATGGCTGGAGGAGTCCTTCGGCGGCTGTT GTGTCGGGAGCCTGATCGCGATGGGGAC AAAGGCGCAAGTCGAGAGGAAACTGTTG TGCCCTTCATATTGGCGATCCTGTTGTG CTCCCTGGCATTGGGCAGTGTTACAGTGC ACTCTTCT	356
P46	TP53 (R213D)	GATGACAGAAACACTTTCGACATAGTGT GGTGGTGCCCTATGAGCCGCCTGAGGTT GGCTCTGACTGTACCACCATCCACTACAA CTACATGTGTAACAGTTCCTGCATGGGCG GCATGA	358
P48	AR.p.H875Y	GTGCAGCCTATTGCGAGAGAGCTGCATC AGTTCACCTTTGACCTGCTAATC	360
P50	AR (W742C)	CAGATGGCTGTCATTCACTACTCCTGCAT GGGGCTCATGGTGTTCGCATG	362
P56	SPOP (F102C)	CAAAGAGTGAAGTTCGGGCAAAATTCAA ATGCTCCATCCTGAATGCCAAG	364
P58	AR (Q903H)	ATGATGGCAGAGATCATCTCTGTGCACGT GCCAAGATCCTTTCTGGGAAA	366
P59	FOXA1 (F254V)	CTGCACCCGGACTCCGGCAACATGGTCG AGAACGGCTGCTACTTGCGCCGC	368
P60	FOXA1.p.F266L	TGCTACTTGCGCCGCCAGAAGCGCTTGA AGTGCGAGAAGCAGCCGGGGCC	370
P61	FOXA1.p.R261G	ATGTTTCGAGAACGGCTGCTACTTGGGCC GCCAGAAGCGCTTCAAGTGCAG	372
P73	TP53 (G266E)	GACTCCAGTGGTAATCTACTGGAACGGA ACAGCTTTGAGGTGCGTGT	374
P76	AR-V3	GTCTTCTTCAAAAGAGCCGCTGAAGGATT TTTCAGAATGAACAAATTAAGAATCA TCAGACACTAACCCCAAGCCATACTGCA TGGCAGCACCAATGGGACTGACAGAAAA CAACAGAAATAGGAAGAAATCCTACAGA GAAACAAACTTGAAAGCTGTCTCATGGC CTTTGAATCATACT	376
P77	AR-V3	GTCTTCTTCAAAAGAGCCGCTGAAGGATT TTTCAGAATGAACAAATTAAGAATCA TCAGACACTAACCCCAAGCCATACTGCA TGGCAGCACCAATGGGACTGACAGAAAA CAACAGAAATAGGAAGAAATCCTACAGA GAAACAAACTTGAAAGCTGTCTCATGGC CTTTGAATCATACT	376
P82	AR-V7	TATGAAGCAGGGATGACTCTGGGAGAAA AATTCGGGTTGGCAATTGCAAGCATCTC AAAATGACCAGACCC	380
P87	AR-Intron	TATGAAGCAGGGATGACTCTGGGAGGTA AGATACTTTTCTTTCTTCTCCTCCTCCTT CTCTCTCCCCCTTCTCCCTATTTC	382
P97	FOXRED2-TXN2	GGGTACCTGAGGATGCAGGGACTCATGG CTCAGCGACTTCTTCTGAGG	384
P98	TP53 (R213D)	GATGACAGAAACACTTTCGACATAGTGT GGTGGTGCCCTATGAGCCGCCTGAGGTT GGCTCTGACTGTACCACCATCCACTACAA CTACATGTGTAACAGTTCCTGCATGGGCG GCATGA	358

Пример 4. Прогнозирования связывания HLA

Аминокислотные последовательности неоантигенов, выявленных с использованием различных подходов, описанных в примере 3, разделяли на все возможные уникальные непрерывные 9-мерные аминокислотные фрагменты и выполняли прогнозирования связывания HLA с шестью обычными аллелями HLA (HLA-A*01:01, HLA-A*02:01, HLA-A*03:01, HLA-A*24:02, HLA-B*07:02, HLA-B*08:01) для каждого из этих 9-меров с использованием netMHCpan4.0. Для дополнительного анализа выбирали несколько 9-мерных фрагментов на основании ранжирования по вероятности связывания с одним или

более из исследуемых аллелей HLA и их распространенности у пациентов с раком предстательной железы.

В табл. 13 представлены аминокислотные последовательности выбранных 9-мерных фрагментов и их неоантигенное происхождение. В табл. 14 представлена доля неоантигенов в проанализированной группе.

Таблица 13

Идентификатор неоантигена	Ген(ы)	Тип	Аминокислотная последовательность или 9-мер	SEQ ID NO: 9-мера
P16	MSMB-NCOA4	Слияние	STRRAVRRM	387
P17	MSMB-NOCA4	Слияние	RAVRRMNTF	388
P19	TMEM222-LOC644961	Слияние	IPVLTRWPL	389
P22	SLC45A3-ELK4	Слияние	QLIAMDSAI	390
P27	FAM126B-ORC2	Слияние	FPVGAEGTF	391
P35	TMPRSS2-ERG	Слияние	NSKMALNSL	392
P37	TSTD1-F11R	Слияние	GVLRRLLCR	393
P46	TP53 (R213D)	Мутация со сдвигом рамки считывания	CPMSRLRLA	394
P48	AR.p.H875Y	Миссенс-мутация	YQFTFDLLI	395
P50	AR (W742C)	Миссенс-мутация	IQYSCMGLM	396
P56	SPOP (F102C)	Миссенс-мутация	RAKCKFSIL	397
P58	AR (Q903H)	Миссенс-мутация	HVPKILSGK	398
P59	FOXA1 (F254V)	Миссенс-мутация	NMVENGCYL	399
P60	FOXA1.p.F266L	Миссенс-мутация	YLRRQKRLK	400
P61	FOXA1.p.R261G	Миссенс-мутация	CYLGRQKRF	401
P73	TP53 (G266E)	Миссенс-мутация	LLERNSFEV	402
P76	AR-V3	Вариант сплайсинга	YCMAAPMGL	403
P77	AR-V3	Вариант сплайсинга	FFKRAAEGF	404
P82	AR-V7	Вариант сплайсинга	RVGNCKHLK	405
P87	AR-Intron	Вариант сплайсинга	FLFLLPLS	406
P97	FOXRED2-TXN2	Слияние	LMAQRLLLR	407
P98	TP53 (R213D)	Мутация со сдвигом рамки считывания	IVWWCPMSR	408

Таблица 14

Идентификатор неоантигена	Ген	Доля распространенности	
		TCGA	SU2C
P16	MSMB-NCOA4	27,16%	23,25%
P17	MSMB-NOCA4	27,16%	23,25%
P19	TMEM222-LOC644961	N.O.	13,95%
P22	SLC45A3-ELK4	17,71%	13,95%
P27	FAM126B-ORC2	5,11%	18,60%
P35	TMPRSS2-ERG	2,75%	11,62%
P37	TSTD1-F11R	16,33%	9,30%
P46	TP53 (R213D)	N.O.	1%
P48	AR.p.H875Y	N.O.	1%
P50	AR (W742C)	N.O.	1,25%
P56	SPOP (F102C)	0,40%	2,00%
P58	AR (Q903H)	N.O.	1,00%
P59	FOXA1 (F254V)	0,20%	1,00%
P60	FOXA1.p.F266L	0,20%	1%
P61	FOXA1.p.R261G	0,20%	1%
P73	TP53 (G266E)	N.O.	1%
P76	AR-V3	Присутствует	Присутствует
P77	AR-V3	Присутствует	Присутствует
P82	AR-V7	Присутствует	Присутствует
P87	AR-Intron	Присутствует	Присутствует
P97	FOXRED2-TXN2	3,74%	11,62%
P98	TP53 (R213D)	0,00%	1,00%
N/O, не обнаружено; Присутствует: Варианты сплайсинга AR экспрессировали на разных уровнях и, следовательно, распространенность не определяли.			

Пример 5. Оценка иммуногенности неоантигенов

9-мерные фрагменты, представленных в табл. 13, оценивали на их способность активировать Т-клетки с использованием анализа повторной стимуляции МКПК пациента, описанного в примере 1, с использованием в качестве показателя продукцию TNF α и IFN γ CD8⁺ Т-клетками. В анализах также использовали аутоантигены, представленные в табл. 15. На фиг. 5A, 5B, 5C, 5D и 5E показаны точечные диаграммы проточной цитометрии, отображающие частоту встречаемости TNF α ⁺IFN γ ⁺CD8⁺ Т-клеток в образцах МКПК без стимуляции (ДМСО-отрицательный контроль) (фиг. 5A), после стимуляции пептидом CEF (положительный контроль (фиг. 5B), после стимуляции P16 (фиг. 5C), после стимуляции P98 (фиг. 5D) и после стимуляции P3 (фиг. 5E). В табл. 16 представлена максимальная частота встречаемости TNF α ⁺IFN γ ⁺CD8⁺ Т-клеток и максимальное кратное изменение относительно отрицательного контроля для каждого проанализированного пептида, что указывает на самую высокую частоту встречаемости TNF α ⁺IFN γ ⁺CD8⁺ Т-клеток и итоговое кратное изменение для доноров МКПК, оцениваемых для пептида. Было обнаружено, что все проанализированные неоантигены стимулируют CD8⁺ Т-клетки. На фиг. 6 показано число пациентов с раком предстательной железы, у которых образцы МКПК демонстрировали положительный иммунный ответ на указанные неоантигены. Оценивали МКПК от десяти пациентов.

Таблица 15

ID пептида	Название гена	Аминокислота Последовательность 9-мера	SEQ ID NO:
P3	ERG	KLSRALRYY	421
P6	FOLH1	MVFELANSI	422
P7	ERG	ILFQNIDGK	423
P9	FOLH1	KIVIARYGK	424
P92	ERG	FLLELLSDS	425

Таблица 16

Название пептида	Максимальное кратное изменение относительно отрицательного контроля	Максимальная частота встречаемости TNF α ⁺ IFN γ ⁺ CD8 ⁺ Т-клеток (процент)	Иммуногенный
Отрицательный контроль	н/п	0,011-0,8 (в зависимости от пациента)	н/п
P16	65,82	4,620	Да
P17	2,17	0,130	Да
P19	5,00	0,480	Да
P22	5,00	0,120	Да
P27	3,43	0,430	Да
P35	2,67	0,064	Да
P37	3,13	1,160	Да
P46	2,33	0,140	Да
P48	2,33	0,220	Да
P50	5,14	0,190	Да
P56	11,57	1,620	Да
P58	19,18	5,370	Да
P59	10,75	3,010	Да
P60	2,08	0,340	Да
P61	2,27	0,084	Да
P73	2,97	0,110	Да
P76	2,30	0,170	Да
P77	3,24	0,160	Да
P82	3,46	0,970	Да
P87	3,24	0,120	Да
P97	4,55	0,160	Да
P98	14,93	1,000	Да
Максимальная частота встречаемости относится к наибольшей частоте встречаемости TNF α ⁺ IFN γ ⁺ CD8 ⁺ Т-клеток среди всех протестированных доноров МКПК			

Пример 6. Связывание неоантигенов с HLA

Связывание выбранных неоэпитопов с HLA-A*01:01, HLA-A*02:01, HLA-A*03:01, HLA-A*24:02, HLA-B*07:02 и HLA-B*08:01 оценивали с использованием анализа, описанного в примере 1. Результаты связывания различных неоантигенов с HLA представлены в табл. 17. Каждый исследуемый аллель HLA имел соответствующий пептид положительного (Pos) и отрицательного (Neg) контроля, на которые был заменен интересующий пептид. Таким образом, скорость обмена с Pos-пептидом, равная 100% означает, что интересующий пептид имеет такую же аффинность связывания с аллелем HLA, что и пептид положительного контроля. В качестве критерия для дополнительной оценки рассматривались пептиды со скоростью обмена по меньшей мере 10% с соответствующим Pos-пептидом для по меньшей мере одного из 6 аллелей HLA. Скорости обмена со специфичными к аллелю Pos-пептидами 24 идентифицированных таким образом неоантигенов приведены ниже в табл. 17. Более высокие процентные значения соответствуют более сильному связыванию с аллелем HLA.

Таблица 17

Название пептида	HLA-A*01:01	HLA-A*02:01	HLA-A*03:01	HLA-A*24:02	HLA-B*07:02	HLA-B*08:01
P16	5,5	10,4	6,1	0,8	13,7	6,2
P17	4,9	9,3	3,8	0,1	38,7	9
P19	5,2	8,2	4,1	0,1	91,3	14,5
P22	4,4	46,9	4,8	0	8,3	3,9
P27	4,8	10	4,5	0,7	7,8	6,4

P35	2,5	12,5	4,2	0,2	12,1	13,7
P37	1,4	12,5	6,4	-0,1	9,4	3,3
P46	2,4	14,4	10,3	-0,4	64,8	14,5
P48	4,3	99,3	4,4	0,1	12,8	8,9
P50	2,3	8,8	5,5	0,1	10,4	4,7
P56	2,6	8,4	6,8	0,5	82,5	38
P58	2,5	11,8	32,5	0,2	9,7	5,3
P59	2,2	11,9	4,5	-0,5	7,5	5,5
P60	3,1	7,9	36,6	0,9	6,1	10,2
P61	1,7	5,8	2,1	90,3	9,6	3,6
P73	2,1	89,2	3,5	0,5	8,7	2,6
P76	0,1	85,9	6	-0,5	91,5	8,5
P77	1,9	9,6	2,8	1,7	14,2	3,4
P82	1,5	6,3	58,1	-0,1	12,9	1,4
P87	1,1	64	2,4	0,2	5	3,1
P97	2,5	4,6	39	0,1	7	2,7
P98	2,5	7,9	51,1	-0,1	6,7	2,4

Пример 7. Определение профиля комплекса МНС I-пептид для тканей рака предстательной железы выявило уникальные представленные МНС I пептиды при раке предстательной железы

Комплексы МНС I-пептид выделяли из 11 образцов рака предстательной железы человека и идентифицировали пептиды, представленные МНС I, с помощью несистематической масс-спектрометрии. В процессе сбора у субъектов диагностировали аденокарциному или стромальную саркому 7-ой степени, причем два субъекта имели инвазивную аденокарциному.

Замороженные ткани рака предстательной железы человека с гаплотипами HLA-A*02:01, HLA-A*03:03, HLA-B*27:0 и HLA-B*08:01 механически разрушали в неионном детергенте, включающем ингибиторы протеазы, и обрабатывали. Моноклональное антитело к аллелю пан-МНС использовали для очистки иммуносорбционным методом комплексов МНС I-пептид из образцов. После элюирования кислотой восстановление комплексов МНС I-пептид оценивали методом ИФА, и восстановленные пептиды обессоливали и анализировали методом ЖХ-МС/МС.

Необработанные файлы данных ЖХ-МС/МС из опухолей предстательной железы анализировали для поиска по базе данных неоантигенов, созданной на основе соответствующих данных секвенирования РНК, полученных из 11 образцов рака предстательной железы человека. Эти пептиды обладали теоретической массой родительских ионов (MS1) и перечнем теоретических фрагментарных ионов (MS2). Был произведен поиск перечня ионов MS1, которые запустили сканирование MS2, по теоретическому перечню пептидов и сравнение их по массе. Все теоретические пептиды в пределах набора MS1 м. д. по массе (5 м. д.) затем имели свой цифровой спектр MS2 по сравнению с эмпирическим MS2 для этого исходного иона (спектральные совпадения пептидов или PSM). Балл вычисляли на основании того, насколько точно эмпирический спектр соответствовал теоретическому спектру. Каждый цикл ЖХ-МС/МС (один файл на образец опухоли) давал тысячи спектральных совпадений пептидов. Однако большая часть этих пептидов представляла собой канонические последовательности, обнаруженные в референтной базе данных человека (Swissprot). Их фильтровали и объединяли представляющие интерес пептиды (предполагаемые неоантигены). Из этого списка были отобраны пептиды с достаточным доказательством наличия положительных результатов.

В табл. 18 представлены аминокислотные последовательности пептидов, выявленных в комплексе с МНС I с использованием ЖХ-МС/МС и генного происхождения пептидов.

В табл. 19 представлены аминокислотные последовательности соответствующих более длинных неоантигенов пептидов, выявленных в комплексе с МНС I с использованием ЖХ-МС/МС.

В табл. 20 представлены полинуклеотидные последовательности, кодирующие соответствующие более длинные неоантигены.

Описанные в настоящем документе пептиды, связанные с МНС I, подтвердили экспрессию, процессинг и представление иммуногенных эпитопов, специфичных к aberrантным изменениям генов рака предстательной железы. Оценка баз данных секвенирования РНК позволила создать карту идентифицированных пептидов, связанных с МНС I, в пределах более длинных aberrантных транскриптов, присутствующих при раке предстательной железы. Таким образом, эти данные идентифицировали неоантигены рака предстательной железы, которые содержали по меньшей мере один эпитоп МНС класса I, который является иммунологически значимым и способен вызывать адаптивный Т-клеточный ответ.

Таблица 18

Идентификатор неоантигена	Аминокислотная последовательность	SEQ ID NO:	Ген	тип
MS1	VTFLKPCFLL	426	TTLL7	Альтернативный вариант 5'SS
MS2	TDIVKQSV	427	CHD7	Альтернативный последний экзон
MS3	SPAFFPKVVRP	428	TESK1	Альтернативный последний экзон
MS4	SYFSLTNIFNFV	429	PIIP5K2	Альтернативный последний экзон
MS5	EFSPETCAFRLS	430	SRPK2	Альтернативный последний экзон
MS6	FLSRALRAL	431	SOAT1	Альтернативный вариант 5'SS
MS7	KKDLELIL	432	PDE4D	Альтернативный последний экзон
MS8	KLQKNCLL	433	ZYG11A	Пропуск экзона
MS9	SALSGNSWV	434	SYNE2	Альтернативный последний экзон
MS10	TVRAILL	435	USP21	Сохранение интрона
MS11	GSLHFHEVLK	436	TDG	Новая кассета

Таблица 19

Идентификатор неоантигена	Идентификатор гена	Пептидная последовательность	SEQ ID NO пептида
MS1	TTLL7	HYKLIQQP ISLFSITDRLHKTFSQLPSVH LCSTTFQWGHPPIFCSTNDICVTANFCISV TFLKPCFLLHEASASQ	437
MS2	CHD7	WTDIVKQSV STNCISIKKGSYTKLFLSV FLIFCWPLIQL	438
MS3	TESK1	RTALTNQD FSIYRLCCKRGSLCHASQ ARSPAFFPKVVRPLPAPITRITPQLGGQSDS SQPLLTGRRPQGWQDQALRHTQQASPA SCATITPIHSAALGDHSGDPGPAWDTCP PLPLTTLIPRAPPYGDSTARSWPSCGPG LG	439
MS4	PIIP5K2	LRYGALCNV SRISYFSLTNIFNFVIKSLT AIFTVKF	440
MS5	SRPK2	RKERNIRK SESTLRLSPFPTPAPSGAPAA AQQKVVVRVPGPAGGLVPRDAGARLLPP AGGPGGAAAGEGRAGRGRFSPITEPRP RDLPPRVATGRRAGRRKAGQGVTR PLPASWPGGRGPFKGRRLPLGSGPPA AGVQLRCSHLSRGRRRRGRVCGRAC VSPPLPRPPVGLSAENLSWLSSGLPRA CSWREFSPETCAFRLSGLDSKLSARVER DLGALRAPGSRAAQGGGRVRGSRSEWK TRPWPRPPAWPLTRAGGPLKPNPFLESC SETAQRVVFSFSTPLS	441
MS6	SOAT1	YAYKDFLW CFPFSLVFLQEIQICCHVSC LCCICCSTRICLGCLLELFLSRALRALHV LWNGFQLHCQ	442
MS7	PDE4D	SINKATIT GKKDLELILHVSRRKPPFLPRV NITPTPISCCNLKMLKKFFLLYIIISIDLT NCLSCYLEHFYRFTFFTDVHYF	443
MS8	ZYG11A	TMPAILKL QKNCLLSL	444
MS9	SYNE2	PYYSALSG NSWVPSTLESDFGYVFSPL ATRPALNDQESILWPTLTSVVSCALSCPS LNLPENWTLITGGMKGGKMKFTFRH	445
MS10	USP21	GLRNLGNT VRAILLFSLSKRNVKWCW GWGKPTSLGKACGRRALKLF	446
MS11	TDG	MEAENAGS LHFHEVLKMGHVKF	447

Таблица 20

Идентификатор неоантигена	Идентификатор гена	Полинуклеотидная последовательность	SEQ ID NO ДНК
MS1	TLL7	CACTACAAATTAATTCAACAACCCATATC CCTCTTCTCCATCACTGATAGGCTCCATAA GACGTTCACTCAGCTGCCCTCGGTCCATCT CTGCTCAATCACCTTCCAGTGGGGACACCC GCCATTTTCTGCTCAACAATGATATCTG TGTCACGGCCAACCTCTGCATCTCGGTAC ATTCTTAAACCGTCTTCTTCTACATGA GGCATCTGCCTCACAG	448
MS2	CHD7	TGGACTGATATAGTTAAGCAGTCTGTAA GTACAAACTGCATTTCTATCAAGAAAGGT AGCTATACAAAACCTGTTTCTTAGTCTTT CTTATTTCTGTTGGCCATTAATTATTCAGT TG	449
MS3	TESK1	AGGACCGCCCTGACACACAATCAGGACT TCTCTATCTACAGGCTCTGTTGCAAGAGGG GGTCCCTCTGCCACGCTTCCAGGCCAGAT CCCCGGCTTTCGGAAGCCGGTCAGACCTC TTCTGCCCCATCACCAGAATCACCCCC AACTGGGGGACAATCTGACTCGAGTCAA CCCCTTCTACTACGGGAAGACCTCAGGG GTGGCAAGATCAAGCTCTTAGACACACCC AGCAAGCCAGTCTGCCTCTTGTGCCACCA TCACCATTTCCATCCACTCAGCTGCCCTTG GTGACCACTCCGGAGACCCTGGTCCAGCC TGGGACACTGCCGCGCTGCCGCTCACT ACCTCATCCCCGAGCTCCCCGCGGTAT GGAGACAGCACTGCCAGTCTGCCCCC CCGCTGTGGGCCCTCGGC	450
MS4	PPIP5K2	CTTCGCTATGGTGCCTTATGCAATGTAA GTAGAATAAGTTATTTAGTCTAACAATA TATTTAATTTTGTAATTAATCACTAAGT CTATTTTACTGTGAAATTT	451
MS5	SRPK2	CGAAAAGAGAGAAACATCCGAAAAGTG AGTCCACGCTGCGCTGTCCCCGTCCCCA CCCCCGCCCGTGGGGGCGCCCGCGGCC GCGCAGGGAAAGTTGTCCGGTCCCCGG GCCGGCGGGCGGCTGGTCCCCGGGACG CTGGCGCTCGGCTCTGCCCGGCGGGC GGCCGGGGGAGGGGCGGCGGGGGG AGGGGCGCGGGCCGCGCGGTTCCCT AGCATCACGGAGCCTCGACCCCGCACCT CCCCCCCCGGTTCGCCACCGGCGGGGG CGGGAGGCCGGCGAAAGGCGCGGGCA GGGCGTGCACCCGTCCCTTGCCCGGA GCTGGCCCGGGGTGCGGCCCCTTCCGG AAGGGCCCCGGCTCTGCCGCTGGGCTC CGCCCCCGCTGCGGGAGTGACGCGC TGCGTTGCTCCCACTGAGCCGCGGGCCG	452

		AGGAGGCGGAGGGGCCGAGTGTGCGGGA GGGCGTGTCTCGCCTCCCTTCTCCTCCC GGCCCCGCCTGTCGGCCTTCTGCTGAGA ACCTAAGCTGGTTGTCAAGTGGTTGCCTC GGGCGTGTCTGCGCGAGTTCAGCCCC GAGACCTGTGCGTTTCGGCTCTCGGTTTG GATTCGAACTTCCGCTCGGGTTGAGCGT GACTTGGGTGCGCTGCGGGCCCGGGGTC GCGGGCTGCGCAGGGCGGTGGGCGTGTGC GCGGGAGCCGGTCCGAGTGGAAAACGCGC CCGTGGCGGCCACCTCCAGCCTGGCCGCTC ACCCGAGCAGGGGGCCGCTGCCAAGAA CCCTTCTGGAGAGCTGCTCCGAGACCGC ACAGCGCCGCGCTTCTCCTTTCCAC TCTCTCTCC	
MS6	SOAT1	TATGCTTACAAGACTTCTCTGGTGT TCTTTTCTTTAGTTTTCTCCAAGAGATT CAAATCTGCTGCCATGTTAGCTGTCTTTC TGATCTGCTGTAGTACAGAATATGCCTT GGCTGTTGCTTGTAGCTTTTCTATCCCGT GCTCTCGTGTCTTATGTTCTTTGGAAT GGCTTCAACTTCATTGTCAA	453
MS7	PDE4D	TCCATCAACAAAGCCACCATAACAGGTA AGAAAGATCTGGAGCTTATTCTTCATGTGT CTAGGAAGAAACCATTTCTGCCAAGAGTC AATATAACACCAACACCAATTCATGCTGC AATTTGAAAATGTTAAAGAAAATCTTTCTT CTCTACATTATCATTTCTATCATTGATCTCA CAAATTTGCTAAGCTGTTATTTGGAACATT TTTACCGATTACGTTTTTTACTGATGTAC ATTATTTT	454
MS8	ZYG11A	ACCATGCCTGCTATTTTAAAGTTACAGA AGAATTGCTTCTCTCCTTA	455
MS9	SYNE2	CCATACTACAGCGCACTGTCAGGTAACA GCTGGGTCCCAGCACCTGGAAAAGTGAC CCGTTTGGCTATGTTTTAGCCCTTAGCA ACACGGCCAGCTCTCAATGACCAAGAGTC CATCTTGTGGCCGACCCTGACTTCTGTGGT TTCTGTGCTCTATCCTGCCATCTCTTAACT TTACCTGAGAATTGGCTCACTCTATCACA GGTGGAATGAAAGGGGGAAAAAAATGA AATTCACATTCAGACAC	456
MS10	USP21	GGCCTTCGAAACCTGGGAAACACGGTGA GAGCTATTCTCCTATCTTCTCTCTAAAA GGAATGTGAAATGGTGTGGGGTGGGGA AAACCCACGAGCTTGGGGAAGGCATGTGG AAGGAGAGCTCTGAAGCTCTTC	457
MS11	TDG	ATGGAAGCGGAGAACGCGGGCAGTTTG CATTTTCATGAAGTGTCAAATGGGACAT GTGAAATTC	458

Пример 8. Определение профиля экспрессии неоантигенов предстательной железы в опухолях и нормальных тканях

Выявленные неоантигены предстательной железы профилировали на предмет их экспрессии в около 90 зафиксированных формалином и залитых парафином (FFPE) образцах ткани рака предстательной железы (аденокарцинома, клинические стадии II-IV, индекс Глисона 8-9, субъекты ранее не получали лечение или получали лечение с использованием CASODEX® (бикалутамид), LUPRON DEPOT® (ацетат лейпролида для депо-суспензии) или FIRMAGON® (дегареликс)) и панели нормальных тканей, включая печень, почку, поджелудочную железу, яичник, предстательную железу, молочную железу, толстую кишку, желудок, скелетные мышцы и легкие, в ПКМК, полученных от здоровых субъектов и в клеточных линиях рака предстательной железы, включая DU145-1, MDA-MB-436-1, LREX-1, 22RV1-1, H660-1. И другие линии клеток ткани, включая NCI-H2106-1, L-363-1, HCI-N87-1, OCI-AML5-1, MDA-PCa-2b-1 и GDM-1-1. Общую РНК экстрагировали из зафиксированных формалином и залитых парафином образцов ткани с использованием набора для выделения РНК RNAsort CELLDATA в соответствии с протоколом набора. РНК из культивированных клеточных линий и ПКМК выделяли с использованием наборов для выделения РНК Qiagen с использованием стандартных способов. Для получения кДНК использовали 200 нг общей РНК из образцов (FFPE) с использованием высокоэффективного набора для обратной транскрипции кДНК (ABI) и стандартных протоколов. 37,5 нг кДНК преамплифицировали с генными маркерами в 15 мкл смеси для преамплификации с использованием набора для преамплификации TaqMan (ThermoFisher Scientific) и стандартных протоколов. Для тестирования экспрессии генов выявленных неоантигенов в различных образцах создавали праймеры, охватывающие последовательности точек разрыва, для каждого из выявленных неоантигенов предстательной железы и оценивали экспрессию с помощью Fluidigm Biomart™ HD. Для каждого неоантигена регистрировали процент (%) положительных по экспрессии зафиксированных формалином и залитых парафином образцов рака предстательной железы, причем в образцах рака

предстательной железы рассчитывали относительное среднее значение СТ. Результаты определения профиля экспрессии выбранных неоантигенов представлены в табл. 21. Распространенность каждого неоантигена в базах данных TCGA, SU2C и GTEx представлена в табл. 22.

Таблица 21

Идентифика тор неоантигена	SEQ ID NO аминокислотной последовательности	SEQ ID NO полинуклеот ида	кПЦР		Нормальная экспрессия в ткани
			% положительны х образцов FFPE	Относитель ное среднее Ст	
AS18	275	276	95,6	6,3	Яичник, предстательная железа
P87	381	382	85,6	8,3	Яичник, предстательная железа
AS55	333	334	83,3	8,2	Простаты
AS57	337	338	83,3	7,9	Простаты
AS15	269	270	68,9	11,4	Яичник, молочная железа
AS7	253	254	57,8	11,0	Нет
AS43	309	310	52,2	11,2	Молочная железа
AS51	325	326	47,8	10,5	Яичник
AS16	271	272	47,8	10,8	Яичник
AS41	305	306	45,6	11,6	Яичник
AS6	251	252	33,3	10,0	Нет
AS3	245	246	26,7	10,8	Нет
AS11	261	262	25,6	12,1	Нет
AS13	265	266	21,1	11,1	Нет
AS47	317	318	16,7	12,3	Яичник
AS8	255	256	13,3	12,5	Нет
AS19	277	278	95,6	6,3	Яичник, предстательная железа
AS37	297	298	0,0	Н/П	Нет
AS23	285	286	22,0	13,0	Яичник, предстательная железа, молочная железа
MS1	437	448	Н/П	Н/П	Нет
MS3	439	450	Н/П	Н/П	Нет
MS6	442	453	Н/П	Н/П	Нет
MS8	444	455	Н/П	Н/П	Нет
P82	379	380	37,0	11	
P16	343	344	76	9	Простаты
FUS1	211	212	72	9	Простаты
P22	349	350	70	9	Простаты
FUS2	213	214	55	11	Молочная железа
FUS3	215	216	43	11	Простаты
FUS6	221	222	19	11	Нет
FUS5	219	220	14	7	Нет
FUS8	225	226	11	14	Нет
FUS15	345	346	8	13	Нет
P35	353	354	5	13	Нет
FUS19	235	236	4	13	Нет
FUS7	223	224	0	Н/П	Нет
M84	167	168	Н/П	Н/П	Н/П
M86	171	172	Н/П	Н/П	Н/П
M10	19	20	Н/П	Н/П	Н/П
M12	23	24	Н/П	Н/П	Н/П
FR1	177	178	Н/П	Н/П	Н/П

Таблица 22

Идентификатор неоантигена	SEQ ID NO аминокислотной последовательности	Замороженные ткани рака предстательной железы* (n=11)	TCGA %	SU2C %	GTEX %
AS18	275	54,5	12,6	20,9	0,03
P87	381	0,0	0	20,9	0
AS55	333	18,2	12,1	0	0
AS57	337	36,4	14,9	0	0
AS15	269	36,4	4,5	46,5	0
AS7	253	27,3	5,1	16,3	0
AS43	309	0,0	0	31	0,4
AS51	325	9,1	0	23,8	0,52
AS16	271	45,5	0,6	18,6	0
AS41	305	0,0	0	33,3	0,16
AS6	251	27,3	5,1	16,3	0
AS3	245	27,3	10,4	25,6	0,03
AS11	261	9,1	1,2	48,8	0,07
AS13	265	27,3	5,7	32,6	0
AS47	317	0,0	0	23,8	0,05
AS8	255	0,0	0	14	0
AS19	277	54,5	12,6	20,9	0,03
AS37	297	0,0	0	38,1	0
AS23	285	45,5	3,1	18,6	0,09
MS1	437	18,2	0	0	0
MS3	439	9,1	0,197	0	0,13
MS6	442	9,1	0,197	0	0
MS8	444	18,2	0	0	0,016
P82	379		Варьируемая экспрессия		
P16	343		27,17	2,33	0,02
FUS1	211		17,72	13,95	Н/Д
P22	349		30,51	23,26	0,03
FUS2	213		63,58	46,51	1,78
FUS3	215		35,04	23,26	0,02
FUS6	221		21,46	32,56	Н/Д
FUS5	219		12,40	18,60	Н/Д
FUS8	225		1,18	32,56	0,54
FUS15	345		0,39	9,30	0,11
P35	353		1,38	6,98	Н/Д
FUS19	235		8,86	30,23	1,04
FUS7	223		3,35	16,28	0,51
M84	167			1,28	
M86	171			1,09	
M10	19			1,18	
M12	23			0,99	
FR1	177			0,30	

Пример 10. Получение вирусных векторов, кодирующих выявленные неоантигены

Выявленные неоантигены проверяли и присваивали приоритет в соответствии с их включением в универсальную вакцину против рака предстательной железы. Отбирали 41 выявленный неоантиген для включения в экспрессионные кассеты на основании их экспрессии в образцах рака предстательной железы, низкой экспрессии в нормальных тканях, связывания с HLA и иммуногенности. Выбранные неоантигены в количестве 41 представлены в табл. 21 и табл. 22 и включают

AS18 (WKFEMSYTVGGPPPHVHARPRHWKTDR; SEQ ID NO: 275),

P87 (YEAGMTLGGKILFFLLPLSPSLIF; SEQ ID NO: 381),

AS55 (DGHSYTSKVNCLLLQDGFHGCVSITGAAGRRNLSIFLFLMLCKLEFHAC; SEQ ID NO: 333),

AS57 (TGGKSTCSAPGPQSLPSTPFSTYPQWVILITEL; SEQ ID NO: 337),

AS15 (VLRFLDLKVRYLHS; SEQ ID NO: 269),

AS7 (DYWAQKEKGSSSFLRPSC; SEQ ID NO: 253),

AS43 (VPFRELKNVSVLEGLRQRLGGPCSCHCPSPQARLTPVDVAGPFLCLGDPGLFPPVKSSI;

SEQ ID NO: 309),
 AS51 (GMECTLGQVGAPSPREEDGWRGGHSRFDKADVPAPQGPCWGGQPGSAPSSAPPEQSLLD;
 SEQ ID NO: 325),
 AS16 (GNTTLQQLGEASQAPSGSLIPLRLPLLWEVRG; SEQ ID NO: 271),
 AS41 (EAFQRAAGEGGPGRGGARRGARVLQSPFCRAGAGEWLGHQSLR; SEQ ID NO: 305),
 AS6 (DYWAQKEKISIPRTHLC (SEQ ID NO: 251),
 AS3 (VAMMVPDRQVHYDFGL (SEQ ID NO: 245),
 AS11 (VPFRELKNQRTAQGAPGIHHAASPVAANLDCPARHAQHTRIPCGAGQVRAGRGPEAGG-
 GVLQQRPAPEKPGCPCRRGQPRRLHTVKMWRA; SEQ ID NO: 261),
 AS13 (KRSFAVTERII; SEQ ID NO: 265),
 AS47 (FKKFDGPGCGERGGGRTARALWARGDSVLTPALDPQTPVRAPSLTRAAA AV; SEQ ID NO:
 317),
 AS8 (LVLGVLSGHSGSRL; SEQ ID NO: 255),
 AS19 (QWQHYHRSGEAAAGTPLWRPTRN; SEQ ID NO: 277),
 AS37 (CHLFLQPQVGTTPPHASARAPSGPPHPHESCPAGRRPARAAQTCAARRQHGLPGCEEA-
 GTARVPSLHLHLHQAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRG; SEQ ID NO: 297),
 AS23 (KIQNKCPD; SEQ ID NO: 285),
 MS1 (HYKLIQQPISLFSITDRLHKTFSQLPSVHLCSITFQWGHPPIFCSTNDICVTAN-
 FCISVTFLKPCFLLHEASASQ; SEQ ID NO: 437),
 MS3 (RTALHNQDFSIYRLCCKRGSLSCHASQARSPAFPKPVRPLPAPITRITPQLGGQSDS-
 SQPLTTGRPQGWQDQALRHTQQASPASCATITIPHSAAALGDHSGDPGPAWDTCPPLPLTTLIPRAPPY
 GDSTARSWPSRCGPLG; SEQ ID NO: 439),
 MS6 (YAYKDFLWCFPFLVFLQEIQCCHVSLCCICCCSTRICLGCLELFLSRALRALH-
 VLWNGFQLHCQ; SEQ ID NO: 442),
 MS8 (TMPAILKLQKNCLLSL; SEQ ID NO: 444),
 P82 (YEAGMTLGEKFRVGNCKHLKMTRP; SEQ ID NO: 379).
 P16 (GVPGDSTRRAVRRMNTF; SEQ ID NO: 343),
 FUS1 (CGASACDVSLIAMDSA; SEQ ID NO: 211),
 P22 (SLYHREKQLIAMDSAI; SEQ ID NO: 349),
 FUS2 (TEYNQKLQVNQFSESK; SEQ ID NO: 213),
 FUS3 (TEISCCTLSSSEENEYLPRPEWQLQ; SEQ ID NO: 215),
 FUS6 (CEERGAAGSLISCE; SEQ ID NO: 221),
 FUS5 (NSKMALNSEALSJVSE; SEQ ID NO: 219),
 FUS8 (WGMELAASRRFSDHHSAGGPPRVPVSRSGAAQVQPKDPLPLRTLCLARTAHLRPGA-
 ESLPQQLHCT; SEQ ID NO: 225),
 FUS15 (HVVGYGHLDTSGSSSSSWP; SEQ ID NO: 345),
 P35 (NSKMALNSLNSIDDAQLTRIAPRSHCCFWEVNAP; SEQ ID NO: 353),
 FUS19 (KMHFSLKEHPPPCPP; SEQ ID NO: 235), и
 FUS7 (LWFQSSSELSPTGAPWPSRRPTWRGTTVSPRTATSSARTCCGTKWPSSQEALGLGSGL-
 LRFSCGTAAIR; SEQ ID NO: 223),
 M84 (IARELHQFAFDLLIKSH; SEQ ID NO: 167),
 M86 (QPDSFAALHSSLNELGE; SEQ ID NO: 171),
 M10 (FVQKDWGLKKFIRPDF; SEQ ID NO: 19),
 M12 (FVQKDWGVKKFIRPDF; SEQ ID NO: 23), и
 FR1 (QNLQNGGSRSSATLPGRRRRRRLRRRRQPIVAPAGPPRRPNQKPNPPGGARCVIMRPTW-
 PGTSAFT; SEQ ID NO: 177).

Экспрессионные кассеты были разработаны для клонирования в вирусные остовы, модифицированной осповакцины Анкара (MVA) и аденовируса человекообразной оспезьяны 20 (Gad20) путем соединения одна за другой 41 неоантигенной последовательности без использования линкера. Каждую неоантигенную последовательность оптимизировали по кодонам для экспрессии в MVA или GAd20. Оптимизированные полинуклеотидные последовательности представлены в табл. 23 для экспрессии GAd20 и в табл. 24 для экспрессии MVA.

Таблица 23

Идентификатор неоантигена	Идентификатор гена	SEQ ID NO аминокислотной последовательности	Кодон-оптимизированный полинуклеотид для экспрессии GAd20; SEQ ID NO:	Кодон-оптимизированная полинуклеотидная последовательность для экспрессии GAd20
AS18	NWD1	275	459	TGGAAGTTCGAGATGAGCTACA CCGTCGGCGGACCTCCACCTCA TGTTTCATGCCAGACCTCGGCAC TGGAAAACCGACAGA
P87	AR-Intron	381	460	TATGAGGCCGGCATGACACTCG GCGGCAAGATCCTGTTCTTCTCT GTTCTCTGCTCCCTCTGAGCC CCTTCAGCCTGATCTTC
AS55	SPOC	333	461	GATGGCCACAGCTACACCAGCA AAGTGAAGTGCCTCTGCTGCA GGATGGCTTCCACGGCTGTGTG TCTATTACTGGCGCCGCTGGCA GACGGAACCTGAGCATCTTCT GTTTCTGATGCTGTGCAAGCTC GAGTTCCACGCCTGC
AS57	KLK3	337	462	ACAGGCGGCAAGTCCACATGTT CTGCCCTGGACCTCAGAGCCT GCCTAGCACACCCTTCAGCACA TACCCTCAGTGGGTCATCCTGA TCACCGAACTC

AS15	LRRC45	269	463	GTGCTGAGATTCCTGGACCTGA AAGTGCGCTACCTGCACAGC
AS7	ACSM1	253	464	GACTATTGGGCTCAAAAAGAGA AGGGCAGCAGCAGCTTCCTGC GGCCTAGCTGT
AS43	CPNE7	309	465	GTCCCTTCAGAGAGCTGAAGA ACGTTTCCGTGCTGGAAGGCCT GAGACAGGGCAGACTTGGCGG CCCTTGCTAGCTGCTACTGCCCA GACCTAGTCAGGCCAGACTGAC ACCTGTGGATGTGGCCGGACCT TTCCTGTGTCTGGGAGATCCTG GCCTGTTCCACCTGTGAAGTC CAGCATC
AS51	CPNE7	325	466	GGCATGGAATGCACCCTGGGA CAAGTGGGAGCCCATCTCCTA GAAGAGAAGAGGATGGCTGGC GCGGAGGCCACTCTAGATTCAA AGCTGATGTGCCGCTCCTCAG GGCCCTTGTGGGGAGGACAA CCTGGATCTGCCCCATCTTCTGC CCCACCTGAACAGTCCCTGCTG GAT
AS16	LRRC45	271	467	GGCAACACAACCCTCCAGCAAC TGGGAGAAGCCTCTCAGGCTCC TAGCGGCTCTCTGATCCCTCTCA GACTGCCTCTCCTGTGGGAAGT TCGGGGC
AS41	RHPN1	305	468	GAGGCTTCCAAGAGCTGCTG GCCAAGGCGGACCTGGTAGAG GTGGTGCTAGAAGAGGTGCTA GGGTGCTGCAGAGCCATTCTG TAGAGCAGGCGCAGGCGAATG GCTGGCCATCAGAGTCTGAG A
AS6	ACSM1	251	469	GATTATTGGGCCAGAAAGAAA AGATCAGCATCCCAGAACACA CCTGTGC
AS3	DNAH8	245	470	GTGGCCATGATGGTGCCCGATA GACAGGTCCACTACGACTTTGG ACTG
AS11	CPNE7	261	471	GTGCCCTCCGGGAAGTGAAGA ACCAGAGAACAGCTCAGGGCG CTCCTGGAATCCACCATGCTGC TTCTCCAGTGGCCGCAACCTG TGTGATCCTGCCAGACATGCC AGCACACCAGATTCTTGTGG CGCTGGACAAGTGC GCGCTGG AAGAGGACCTGAAGCAGGCGG

				AGGTGTTCTGCAACCTCAAAGA CCCCTCTGAGAAGCCTGGCT GCCCTTGAGAAAGAGGACAGC CTAGACTGCACACCGTGAAAAT GTGGCGAGCC
AS13	GRIN3A	265	472	AAGAGAAGCTTTGCCGTGACCG AGCGGATCATC
AS47	AGRN	317	473	TTCAAGAAGTTCGACGGCCCTT GCGGAGAAAGAGGCGGAGGC AGAACAGCTAGAGCCCTTTGGG CTAGAGGCGACAGCGTTCTGAC ACCGCTCTGGACCCTCAGACA CCTGTTAGGGCCCTAGCCTGA CAAGAGCTGCCGCGCTGTG
AS8	CACNA1D	255	474	CTGGTGCTGGGAGTGCTGTCTG GACACTCTGGCAGCAGACTG
AS19	NWD1	277	475	CAGTGGCAGCACTATCACAGAT CTGGCGAAGCCGCGGAACAC CCCTTTGGAGGCCAACAGAAA C
AS37	RECQL4	297	476	TGCCACTTGTTTCTGCAGCCCA AGTGGGCACACCTCTCCACAT ACAGCCTCTGCTAGAGCACCTA GCGGCCCTCCACATCCTCACGA ATCTTGTCTGCCGGAAGAAGG CCTGCCAGAGCCGCTCAAACAT GTGCCAGACGACAGCACGGAC TGCCTGGATGTGAAGAGGCTG GAACAGCCAGAGTGCCTAGCCT GCACCTCCATCTGCATCAGGCT GCTCTTGGAGCCGGAAGAGGT AGAGGATGGGGCGAAGCTTGT GCTCAGGTGCCACCTTCTAGAG GC
AS23	ZNF614	285	477	AAGATCCAGAACAAGAACTGCC CCGAC
MS1	TTLL7	437	478	CACTACAAGCTGATCCAGCAGC CAATCAGCCTGTTGAGCATCAC CGACCGGCTGCACAAGACATT AGCCAGCTGCCAAGCGTGACCC TGTGCTCCATCACCTTCCAGTG GGGACACCCTCTATCTTTGCT CCACCAACGACATCTGCGTGAC CGCCAACTTCTGTATCAGCGTG ACCTTCTGAAGCCTTGCTTTCT GCTGCAGAGGCCAGGCCTCT CAG

MS3	TESK1	439	479	CGAACCGCTCTGACACACAACC AGGACTTCAGCATCTACAGACT GTGTTGCAAGCGGGCTCCCTG TGCCATGCAAGCCAAGCTAGAA GCCCCGCCTTTCCTAACCTGTG CGACTCTGCCAGCTCCAATCA CCAGAATTACCCCTCAGCTCGG CGGCCAGAGCGATTATCTCAA CCTCTGCTGACCACCGGCAGAC CTCAAGGCTGGCAAGACCAAGC TCTGAGACACACCAGCAGGCT AGCCCTGCCTCTTGCCACCAT CACAAATCCCCTACTCTGCCG CTCTGGGCGATCATTCTGGCGA TCCTGGACCAAGCCTGGACACA TGTCTCCACTGCCACTCACAAC ACTGATCCCTAGGGCTCCTCCA CCTTACGGCGATTCTACCGCTA GAAGCTGGCCAGCAGATGTG GACCACTCGGA
MS6	SOAT1	442	480	TACGCCTACAAGGACTTCTGT GGTGCTTCCCCTTCTCTGTGTG TTCTGCAAGAGATCCAGATCT GCTGTATGTGTCTGCCTGTG CTGCATCTGCTGTAGCACCAGA ATCTGCCTGGGCTGTCTGTGG AACTGTTCTGAGCAGAGCCCT GAGAGCACTGCACGTGTGTG GAACGGATTCCAGCTGCACTGC CAG
MS8	ZYG11A	444	481	ACAATGCCGCCATCCTGAAGC TGCAGAAGAATTGCCTCCTAAG CCTG
P82	AR-V7	379	482	TACGAAGCCGGGATGACCTTG GGCGAGAAGTTCAGAGTGGGC AACTGCAAGCACCTGAAGATGA CCCCGCCT
P16	MSMB- NCOA4-1	343	483	GGCGTGCCAGGCGATAGCACT CGGAGAGCCGTCAGACGGATG AACACCTTT
FUS1	SLC45A3-> ELK4-1	211	484	TGTGGCGCCTCTGCCTGTGACG TGTCCCTGATCGCTATGGACTC CGCC
P22	SLC45A3- ELK4-2	349	485	AGCCTGTACCACCGGAAAAGC AGCTCATTGCCATGGACAGCGC CATC
FUS2	ARHGEF38-> ARHGEF38- IT1	213	486	ACCGAGTACAACCAGAACTGC AAGTGAACCAGTTCAGCGAGA GCAAG

FUS3	MSMB-> NCOA4-2	215	487	ACCGAGATCAGCTGCTGCACCC TGAGCAGCGAGGAAAACGAGT ACCTGCCTAGACCTGAGTGGCA GCTGCAG
FUS6	TMPRSS2-> ERG	221	488	TGCGAAGAGAGAGGCCCGCA GGATCTCTGATCTCCTGCGAA
FUS5	TMPRSS2-> ERG	219	489	AACAGCAAGATGGCCCTGAATA GCGAGGCCCTGTCTGTGTTGTC TGAA
FUS8	INCA1-> CAMTA2	225	490	TGGGGCATGGAAGTGGCCGCC AGCAGAAGATTGAGCTGGGATC ATCATAGCGCAGGCGGCCACC TAGAGTGCCATCTGTTAGAAGC GGAGCTGCCAGGTGACGCT AAAGATCCTCTGCCACTGAGAA CACTGGCCGGTGCCTTGTAG AACAGCCCATCTAGACCTGGC GCCGAGTCTCTGCCTCAGCCAC AACTGCACTGTACC
FUS15	D2HGDH-> GAL3ST2	345	491	CATGTCGTCGGCTACGCCACC TGGATACAAGCGGAAGCAGCT CTAGCTCCAGCTGGCCT
P35	TMPRSS2-> ERG	353	492	AACTCAAAAATGGCTCTGAACA GCCTGAACTCCATGACGACGC CCAGCTGACAAGAATCGCCCT CCTAGATCTACTGCTGCTTTG GGAAGTGAACGCCCA
FUS19	GTF2F1-> PSPN	235	493	AAGATGCACCTTAGCCTGAAAG AACACCCCTCCACCACCTTGCCT CCA
FUS7	NME4-> DECR2	223	494	CTGTGTTCCAGTCCAGCGAGC TGCTCTACTGTTGCCCTTGG CCATCTAGACGCCCTACTTGA GAGGCACCACCGTGTACCAAG AACCGCCACAAGCAGCGCCAG AACCTGTTGTGGCACAAGTGG CCCTCAGCCAAGAAGCCGCTC TCGGACTTGAAGCGGACTGCT GAGGTTCTCTGTGGAACCGCC GCCATTCGG
M84	AR-T878A	167	495	ATCGCTAGAGAGCTGCACCAGT TCGCCTTCGACCTGCTGATCAA GAGCCAC
M86	AR-L702H	171	496	CAGCCTGATTCTTTGCCGCACT GCACAGCTCCCTGAACGAGCTG GGAGAG
M10	SPOP-F133L	19	497	TTCGTGCAAGGCAAGGATTGG GGCCTCAAAAAGTTTATCCGCA
				GAGACTTC
M12	SPOP-W133V	23	498	TTTGTGCAGGGCAAAGACTGG GGCGTGAAGAAGTTTATCCGG CGGGACTTC
FR1	ZFH3	177	499	CAGAACCTGCAGAACGGCGGA GGCTCTAGAAGCTCTGCTACAC TTCCTGGCAGGCGGGAGAA GATGGCTGAGAAGAAGCGGC AGCCTATCTCTGTGGCTCCTGCT GGACCTCCTAGACGGCCCAACC AGAAGCCTAATCCTCTGGCGG AGCCAGATGCGTGATCATGAG GCCTACATGGCCTGGCACCAGC GCCTTACC

Таблица 24

Идентифика- тор неоантигена	Идентифика- тор гена	SEQ ID NO аминокислотной последовательн- ости	Кодон- оптимизирован- ный полинуклеотид для экспрессии MVA; SEQ ID NO:	Кодон-оптимизированная полинуклеотидная последовательность для экспрессии MVA
AS18	NWD1	275	500	TGGAAGTTCGAGATGAGCTACA CCGTTGGCGGCCCTCCACCACA TGTTACGCCAGACCTAGACAC TGGAAAACCGACAGA
P87	AR-Intron	381	501	TACGAGGCCGGCATGACACTCG GAGGCAAGATCCTGTTCTTCT GTTCTGTGTCTCCCTCTGAGCC CCTTCAGCCTGATCTTT
AS55	SPOC	333	461	GATGGCCACAGCTACACCAGCA AAGTGAAGTGCCTCTGTGCA GGATGGCTTCCACGGCTGTGTG TCTATTACTGGCGCCGCTGGCA GACGGAACCTGAGCATCTTTCT GTTTCTGATGCTGTGCAAGCTC GAGTTCCACGCCTGC
AS57	KLK3	337	503	ACAGGCGGCAAGAGCACATGTT CTGCCCTGGACCTCAGTCTCTG CCCAGCACACCTTCAGCACAT ACCCTCAGTGGGTATCCTGAT CACCGAGCTG
AS15	LRRC45	269	504	GTGCTGCGGTTCTGGATCTCA AAGTGCCTACCTGCACAGC
AS7	ACSM1	253	505	GATTATTGGGCCAGAAAGAAA AGGGCAGCAGCAGTTCTGCG GCCTAGCTGT

AS43	CPNE7	309	506	GTGCCCTCCGGAACTGAAGA ACGTGTCCGTTCTGGAAGGCCT GAGGCAGGGCAGACTTGGCGG ACCTTGAGCTGCCACTGCCTA GACCAAGCCAGGCCAGACTGAC CCCTGTGGATGTGGCTGGCCCA TTTCTGTGTCTGGGCGACCCTG GACTGTTCCCTCCAGTGAAGCT AGCATC
AS51	CPNE7	325	507	GGCATGGAATGTACTGCGGCC AAGTGGGAGCCCCATCTCCTAG AAGAGAAGAGGATGGCTGGCG CGGAGGCCACTCTAGATTCAAA GCTGATGTGCCGCTCCTCAGG GCCCTTGTGGGGAGGACAACC TGGATCTGCCCATCTTCTGCC CACCTGAACAGAGCCTGCTGGA T
AS16	LRRC45	271	508	GGCAACACCACACTGCAACAGC TGGGAGAAGCCTCTCAGGCCCC AAGCGTTCTCTGATCCCTCTCA GACTGCCCTCCTGTGGGAAGT GCGGGGC
AS41	RHPN1	305	509	GAGGCTTCCAGAGAGCAGCTG GCGAAGGCGGACCTGGCAGAG GTGGTGCTAGAAGAGGTGCTA GAGTGCTGCAGAGCCATTCTG TAGAGCTGGCGCTGGCGAATG GCTGGGCCACCAATCTCTTAGA
AS6	ACSM1	251	510	GACTATTGGGCTCAAAAAGAGA AGATCAGCATCCCCAGAACACA CCTGTGC
AS3	DNAH8	245	511	GTGGCCATGATGGTGCCGACA GACAGGTGCACTACGACTTCGG CCTG
AS11	CPNE7	261	512	GTGCCCTCAGAGAGCTGAAAA ACCAGAGAACAGCCAGGGCG CTCCTGGAATCCATCATGTGCT TCTCCAGTGCCGCCAATCTGT GCGATCCTGCCAGACATGCCCA GCATACCAGGATTCTTGTGGC GCTGGACAAGTGCGCGTGGGA AGAGGACCTGAAGCTGGTGGC GGAGTTCTGCAGCCTCAAAGAC CTGCTCCTGAGAAGCCTGGCTG CCCCTGTAGAAGAGGACAGCCT AGACTGCACACCGTGAAGATGT GGCGGGCC
AS13	GRIN3A	265	513	AAGAGAAGCTTCGCCGTGACCG

				AGCGGATCATC
AS47	AGRN	317	514	TTTAAGAAGTTTGACGGCCCT GCGGGAGAGAGGGCGGAGGA AGAAGTGAAGAGCCCTTGGG CCAGAGGGGACTCTGTTCTGAC ACCAGCTCTGGACCCCTCAGACA CCTGTTAGGGCCCTAGCCTGA CAAGAGCTGCCGCTGCTGTT
AS8	CACNA1D	255	515	CTGGTGCTGGGCGTGCTGTCTG GCCACTCTGGAAGCAGACTG
AS19	NWD1	277	516	CAATGGCAGCACTACCACAGAT CTGGCGAAGCCGCTGGAAACCC ACTTTGGAGGCCCTACCAGA AAC
AS37	RECQL4	297	517	TGCCACTTGTTTCTCCAGCCACA AGTGGGCACCCCTCCACCTCAT ACAGCCTCTGCTAGAGCACCTA GCGGCCACCTCATCTCACGA ATCTTGTCTGCCGGAAGAAGG CCTGCCAGAGCCGCTCAAACAT GTGCCAGACGACAGCAGGACT GCCCGGATGTGAAGAAGCCGG AACAGCCAGAGTGCCTAGCCTG CACCTTCATCTGCATCAGGCCGC TCTTGGAGCCGGAAGAGGTAG AGGATGGGGAGAAGCTTGTGC CCAGGTGCCACCTTAGAGGC
AS23	ZNF614	285	477	AAGATCCAGAACAAGAACTGCC CCGAC
MS1	TTLL7	437	519	CACTACAAGTGATCCAGCAGC CAATCAGCCTGTTCTCCATCACC GACCGGCTGCACAAGACATTCA GCCAGCTGCCTCCGTGCATCT GTGCAGCATCACCTCCAGTGG GGACACCCCTATCTTTGCTC CACCAACGACATCTGCGTGACC GCCAACTTCTGTATCAGCGTGA CCTTCCTGAAGCCTTGCTTCTG CTGCACGAGGCCTCCGCCAGCC AG
MS3	TESK1	439	520	CGGACCGCTTGACCCACAACC AGGACTTCAGCATCTACCGGCT GTGCTGCAAGAGGGGCTCTCTG TGTCATGCTAGCCAGGCTAGAA GCCCGCCTTCTTAAGCCTGTC AGACCTCTGCCTGCTCCTATCAC CAGAATCACCCCTCAGCTCGGC GGCCAGTCTGATTCATCTCAGC CACTGCTGACCACCGGAGACC

				TCAAGGATGGCAAGACCAGGCT CTGAGACACACAGCAGGCTA GCCCAGCCTCTTGCGCCACCATC ACAATACCAATACATTCTGCCGC TCTGGGCGATCACAGCGGAGAT CCTGGACCTGCCTGGGATACTT GTCCTCCTGCCCCTAACTACA CTGATCCCTAGGGCTCCTCCACC TTACGGCGATAGCACAGCCAGA TCCTGGCCTAGCAGATGTGGCC CTCTGGGC
MS6	SOAT1	442	521	TACGCCTACAAGGACTTCTGT GGTGCTCCCTTCTCTGTGTG TTCTGCAAGAAATCCAGATCT GCTGTACGTGCTGCCTGTG CTGTATCTGCTGTAGCACCCGG ATCTGTCTGGGCTGTCTGTGG AACTGTTCTGAGCAGAGCCCT GAGAGACTGCACGTGTGTGG AACGGATTCCAGTGCCTGCC AG
MS8	ZYG11A	444	522	ACCATGCCTGCCATTCTGAAGCT GCAGAAGAATTGTCTTCTAAGC CTG
P82	AR-V7	379	523	TATGAGGCTGGAATGACCTGG GCGAGAAGTTCAGAGTGGGCA ACTGCAAGCACCTGAAGATGAC CCGGCCT
P16	MSMB- NCOA4-1	343	524	GGAGTGCTGGCGATTCTACTA GAAGGGCCGTGCGCGGATGA ACACCTTT
FUS1	SLC45A3-> ELK4-1	211	525	TGTGGCGCATCTGCCTGCGACG TGTCCCTGATCGCTATGGATAG CGCC
P22	SLC45A3- ELK4-2	349	485	AGCCTGTACCACGGGAAAAGC AGCTCATTGCCATGGACAGCGC CATC
FUS2	ARHGEF38-> ARHGEF38- IT1	213	486	ACCGAGTACAACCAGAACTGC AAGTGAACCAGTTCAGCGAGA GCAAG
FUS3	MSMB-> NCOA4-2	215	528	ACCGAGATCAGCTGCTGCACCC TGAGCAGCGAGGAAAACGAGT ACCTGCCTAGACCTGAATGGCA GCTGCAG
FUS6	TMPRSS2-> ERG	221	529	TGCGAGGAAAGAGGCGCAGCC GGATCTCTGATCTCTTGGAG
FUS5	TMPRSS2-> ERG	219	530	AACAGCAAGATGGCCCTGAATA GCGAGGCCCTGTCTGTGGTGT

				CGAG
FUS8	INCA1-> CAMTA2	225	531	TGGGGAATGGAAGTGGCCGCT AGCAGGCGGTTTAGCTGGGATC ATCATTCTGCCGGCGGACCTCC AAGAGTGCCAAGCGTTAGAAG CGGAGCAGCCAGGTCCAGCCT AAAGATCCACTGCCACTGAGAA CACTGGCCGGCTGCCTTGCCAG AACAGCTCATCTTAGACCTGGC GCCGAAAGCTGCCTCAACCTC AGCTGCATTGCACA
FUS15	D2HGDH-> GAL3ST2	345	532	CACGTTGTCGGCTATGGCCACC TGGATACAAGCGGCTCCTCTAG CAGTAGCTCCTGGCCT
P35	TMPRSS2- ERG	353	533	AATTCTAAGATGGCTCTCAACA GCCTGAACTCCATCGACGACGC CCAGCTGACAAGAATCGCCCT CCAAGAAGCCACTGTTGCTTTT GGGAAGTGAACGCCCT
FUS19	GTF2F1- >PSPN	235	534	AAGATGCACCTTCTCACTGAAAG AGCACCCGCCACCGCGTGCC ACCG
FUS7	NME4- >DECR2	223	535	CTGTGGTTCCAGTCCAGCGAAC TGTCCTCTACTGGCGCTCCATG GCCAAGCAGAAGGCTACTTGG AGAGGCACCACCGTGTCTCAA GAACCGCTACAAGCAGCGCCAG AACCTGTTGCGGCACAAAATGG CCCTCCAGCCAAGAAGTGCC TCGGACTTGAAGCGGACTGCT GAGATTCAGCTGTGGCACAGCC GCCATCAGA
M84	AR-T878A	167	536	ATCGCCAGAGAACTGCACCACT TCGCCTTCGACCTGCTGATCAA GAGCCAC
M86	AR-L702H	171	537	CAGCCTGACAGCTTGTGCTGCC TGCATAGCTCCCTGAATGAGCT GGGCGAA
M10	SPOP-F133L	19	538	TTTGTGCAGGGTAAAGATTGGG GCCTCAAAAAGTTTATCAGACG GGACTTC
M12	SPOP-W133V	23	539	TTCGTGCAAGGCAAAGACTGG GGCGTGAAGAAGTTCATCCGGC GGGACTTT
FR1	ZFH3	177	540	CAGAACCTGCAGAACGGCGGA GGCTCTAGAAGCTCTGCTACAC TTCTGGCAGGCGCGGAGAA
				GATGGCTGAGAAGAAGGCGGC AGCCTATCTGTGGCTCCTGCT GGACCTCCTAGACGGCCCAACC AGAAGCCTAATCCTCTGGCGG AGCCAGATGCGTGATCATGAGG CCTACATGGCCTGGCACCAGCG CCTTACC

Конфигурация синтетических генов

Аминокислотные последовательности 41 неоантигена соединяли по схеме "голова к хвосту". Порядок последовательностей неоантигенов определяли в соответствии со стратегией, сводящей к минимуму образование преогнозируемых соединительных эпитопов, которые могут быть получены путем смежного расположения двух смежных неоантигенных пептидов.

С этой целью были разработаны индивидуальные инструменты для разделения 41 неоантигена на 4 меньших перечня (подперечни) аналогичной совокупной длины и создания для каждого подперечня 2 миллионов скремблированных схем синтетического гена с отличным порядком неоантигенов. Работа с инструментарием велась итеративно. Для каждого цикла была сгенерирована скремблированная схема, которая сравнивалась с уже созданными схемами. Если количество прогнозируемых соединительных эпитопов в новой схеме было меньше, чем количество наилучшей предыдущей схемы, новую схему считали наилучшей. Каждую скремблированную схему анализировали, оценивая количество потенциальных соединительных эпитопов, которые, по прогнозам, связываются с одним из подмножеств из 9 гаплотипов HLA класса I с $IC_{50} \leq 1500$ nM (с учетом только 9-мерных эпитопов, прогнозируемых рекомендованным IEDB способом, включенным в программное обеспечение IEDB 2.17). 9 гаплотипов HLA класса I совокупно покрывают 82% населения мира по оценке посредством анализа гаплотипов,

аннотированных для субъектов в проекте "1000 геномов". Исключали схемы скремблирования с использованием неоантигенов, которые формировали прогнозируемые соединительные эпитопы с N-концевым Т-клеточным энхансером или С-концевой последовательностью мпетки. В качестве дополнительного ограничения также в каждой схеме исключали соединения, содержащие 9-мерный пептид, соответствующий белку, аннотированному в человеческом протеоме дикого типа.

Наилучшие схемы, полученные после скремблирования 2 миллиона раз каждого из 4 подперечной, были затем соединены для создания общей схемы, содержащей 41 неоантиген. Из всех возможных комбинаций лучших 4 схем выбирали вариант с минимальным количеством прогнозируемых эпитопов, образованных вновь сформированными соединениями.

Всю описанную процедуру применяли два раза независимо для генерации двух искусственных генов, которые будут кодироваться альтернативно вектором GAd20 или MVA. Для вектора MVA разработаны схемы скремблирования с дополнительным ограничением, связанным с предотвращением возникновения соединений с прогнозируемыми соединительными эпитопами, которые уже присутствовали в схеме, выбранной для трансгена аденовируса.

Аминокислотная последовательность оптимизированной схемы для GAd20 приведена в SEQ ID NO: 541) и для MVA SEQ ID NO: 543. Неоантигены во вставке GAd20 с SEQ ID NO: 541 были представлены в следующем порядке: FR1-AS13-AS7-AS6-AS8-P87-FUS3-AS43-AS57-AS51-AS18-AS55-AS23-AS47-MS1-AS37-AS15-AS19-AS11-AS3-P16-P82-FUS5-FUS1-M12-MS6-FUS2-P22-FUS6-MS8-MS3-AS16-M86-M84-M10-FUS8-FUS7-FUS19-AS41-FUS15-P35. Неоантигены во вставке MVA с SEQ ID No: 543 были представлены в следующем порядке: FR1-AS51-AS6-AS18-AS7-AS43-FUS3-P87-AS8-AS13-AS57-AS55-AS19-AS3-AS23-AS15-AS11-AS37-MS1-AS47-P16-FUS1-FUS6-P22-M12-MS8-FUS5-P82-FUS2-MS3-MS6-AS16-P35-M10-AS41-FUS8-M84-FUS19-FUS15-M86-FUS7

Для каждого вектора оценивали пять дополнительных альтернативных оптимизированных схем скремблированных неоантигенов. Пять альтернативных схем имели одинаковое количество прогнозируемых соединительных эпитопов по сравнению с SEQ ID NO: 541 и SEQ ID NO: 543. Пять альтернативных схем для Gad20 представлены в SEQ ID NO: 554, SEQ ID NO: 555, SEQ ID NO: 556, SEQ ID NO: 623 и SEQ ID NO: 624. Пять альтернативных схем для MVA представлены в SEQ ID NO: 557, SEQ ID NO: 558, SEQ ID NO: 559, SEQ ID NO: 625 и SEQ ID NO: 626. Неоантигены в альтернативных оптимизированных схемах располагались в следующем порядке:

SEQ ID NO: 554: FR1-AS13-AS8-P87-FUS3-AS43-AS57-AS51-AS7-AS6-AS18-P16-P82-FUS5-FUS1-M12-MS6-FUS2-P22-FUS6-MS8-MS3-AS55-AS23-AS47-MS1-AS37-AS15-AS19-AS11-AS3-AS16-M86-M84-M10-FUS8-FUS7-FUS19-AS41-FUS15-P35

SEQ ID NO: 555: FR1-AS13-FUS3-P87-AS7-AS43-AS57-AS51-AS6-AS8-AS18-AS55-AS23-AS47-MS1-AS37-AS15-AS19-AS11-AS3-P16-P82-FUS5-FUS1-M12-MS6-FUS2-P22-FUS6-MS8-MS3-AS16-M86-M84-M10-FUS8-FUS7-FUS19-AS41-FUS15-P35

SEQ ID NO: 556: FR1-AS13-AS7-AS43-AS8-P87-FUS3-AS57-AS51-AS6-AS18-AS55-AS23-AS47-MS1-AS37-AS15-AS19-AS11-AS3-P16-P82-FUS5-FUS1-M12-MS6-FUS2-P22-FUS6-MS8-MS3-AS16-M86-M84-M10-FUS8-FUS7-FUS19-AS41-FUS15-P35

ID NO: 623: P16-P82-FUS5-FUS1-M12-MS6-FUS2-P22-FUS6-MS8-MS3-AS16-M86-M84-M10-FUS8-FUS7-FUS19-AS41-FUS15-P35-AS55-AS23-AS47-MS1-AS37-AS15-AS19-AS11-AS3-FR1-AS13-AS8-P87-FUS3-AS43-AS57-AS51-AS7-AS6-AS18

SEQ ID NO: 624: AS16-M86-M84-M10-FUS8-FUS7-FUS19-AS41-FUS15-P35-P16-P82-FUS5-FUS1-M12-MS6-FUS2-P22-FUS6-MS8-MS3-AS55-AS23-AS47-MS1-AS37-AS15-AS19-AS11-AS3-FR1-AS13-FUS3-P87-AS7-AS43-AS57-AS51-AS6-AS8-AS18

SEQ ID NO: 557: FR1-AS51-AS6-AS18-AS7-AS43-FUS3-P87-AS8-AS13-AS57-AS55-AS37-MS1-AS3-AS23-AS15-AS11-AS19-AS47-P16-FUS1-FUS6-P22-M12-MS8-FUS5-P82-FUS2-MS3-MS6-AS16-P35-M10-AS41-FUS8-M84-FUS19-FUS15-M86-FUS7

SEQ ID NO: 558: AS55-AS19-AS3-AS15-AS23-AS11-AS37-MS1-AS47-FR1-AS51-AS6-AS18-AS7-AS43-FUS3-P87-AS8-AS13-AS57-P16-FUS1-FUS6-P22-M12-MS8-FUS5-P82-FUS2-MS3-MS6-AS16-P35-M10-AS41-FUS8-M84-FUS19-FUS15-M86-FUS7

ID NO: 559: AS16-P35-M10-AS41-FUS8-M84-FUS19-FUS15-M86-FUS7-AS55-AS19-AS3-AS23-AS15-AS11-AS37-MS1-AS47-P16-FUS1-FUS2-P82-MS8-FUS5-FUS6-P22-M12-MS3-MS6-FR1-AS51-AS6-AS18-AS7-AS43-FUS3-P87-AS8-AS13-AS57

ID NO: 625: AS16-P35-M10-AS41-FUS8-M84-FUS19-FUS15-M86-FUS7-FR1-AS51-AS6-AS18-AS7-AS43-FUS3-P87-AS8-AS13-AS57-AS55-AS19-AS3-AS15-AS23-AS11-AS37-MS1-AS47-P16-FUS1-FUS6-P22-M12-MS8-FUS5-P82-FUS2-MS3-MS6

SEQ ID NO: 626: AS55-AS11-AS19-AS23-AS3-AS15-AS37-MS1-AS47-FR1-AS51-AS6-AS18-AS7-AS43-FUS3-P87-AS8-AS13-AS57-AS16-P35-M10-AS41-FUS8-M84-FUS19-FUS15-M86-FUS7-P16-FUS1-FUS6-P22-M12-MS8-FUS5-FUS2-MS3-MS6

Вставка последовательностей Т-клеточного энхансера и последовательностей меток

Небольшой фрагмент пептида длиной 28aa из инвариантной цепи китайского окуня (MGQKEQIHTLQKNSERMSKQLTRSSQAV; SEQ ID NO: 549) помещали на N-конец каждого трансгена,

кодирующего 41 неоантиген. Данные доклинических исследований показали, что эта последовательность повышает иммунологический ответ вирусного вектора. Небольшой участок 7 аминокислот (последовательность метки; последов.: SHNNHHN; SEQ ID NO: 627) добавляли к С-концу трансгена с целью мониторинга экспрессии кодируемого трансгена.

Аминокислотные последовательности оптимизированной схемы для GAd20, включающего в себя последовательность TCE и не включающего последовательность тега, представлены в SEQ ID NO: 550 и для MVA SEQ ID NO: 551.

Преобразование в нуклеотидную последовательность и оптимизация для удаления прогнозируемых сайтов связывания миРНК.

Преобразование из аминокислотной последовательности в нуклеотидную последовательность выполняли с помощью оптимизации кодонов в соответствии с использованием кодонов человека с применением дополнительных ограничений, позволяющих максимально избежать следующих признаков:

- внутренние ТАТА-боксы, chi-сайты и сайты посадки рибосомы
- растяжки АТ-богатой или GC-богатой последовательности
- мотивы нестабильности РНК
- повторяющиеся последовательности и вторичные структуры РНК
- (криптические) донорский и акцепторный сайты сплайсинга в высших эукариотах
- мотивы терминации TTTTnT для вектора MVA

Затем добавляли сайты рестрикции EcoR1, BamH1 и последовательность Козак ближе к 5'-концу оптимизированной нуклеотидной последовательности. 2 СТОП-кодона, а затем сайты рестрикции AscI и NotI добавляли ближе к 3'-концу оптимизированной нуклеотидной последовательности.

Затем оптимизированную нуклеотидную последовательность каждого трансгена дополнительно анализировали с помощью программного обеспечения РИТА и Miranda для обнаружения прогнозируемых целевых сайтов миРНК, которые могут понизить экспрессию синтетического трансгена. 9 сайтов связывания миРНК, обнаруженные обоими способами, удаляли путем модификации нуклеотидной последовательности областей, которые предположительно будут связываться с "семенами" миРНК, путем введения синонимических изменений в соответствующие кодоны. Синтез трансгенов GAd20 и MVA проводили стандартными способами.

Кодон-оптимизированная полинуклеотидная последовательность, кодирующую схему расположения неоантигена GAd20 SEQ ID NO: 541 представлена в последовательности SEQ ID NO: 542.

Кодон-оптимизированная полинуклеотидная последовательность, кодирующая схему расположения неоантигена MVA (neoMVA) SEQ ID NO: 543 представлена в последовательности SEQ ID NO: 544.

Кодон-оптимизированная полинуклеотидная последовательность, кодирующую схему расположения неоантигена GAd20, включающая в себя последовательность TCE и исключающая последовательность метки SEQ ID NO: 550 представлена в последовательности SEQ ID NO: 551.

Кодон-оптимизированная полинуклеотидная последовательность, кодирующую схему расположения неоантигена MVA, включающая в себя последовательность TCE и исключающая последовательность метки SEQ ID NO: 552 представлена в последовательности SEQ ID NO: 553.

Последовательность Козак: CGCGACTTCGCCGCC; SEQ ID NO: 545

Полинуклеотид, кодирующий TCE: ATGGGCCAGAAAGAGCAGATCCACACACTG-CAGAAAAACAGCGAGCGGATGAGCAAGCAGCTGACCAGATCTTCTCAGGCCGTG; SEQ ID NO: 546

Полинуклеотид, кодирующий серин-гистидиновую метку: AGCCATCACCATCACCACCAT; SEQ ID NO: 547

Два стоп-кодона (TAGTAA)

Полипептидная последовательность TCE: MGQKEQIHTLQKNSERMSKQLTRSSQAV; SEQ ID NO: 549

Продукция вирусного вектора

Продукция вирусного вектора GAd20

Трансген GAd20 субклонировали в транспортную плазмиду челночного типа между промотором CMV с двумя повторами TetO и BGH polyA посредством сайтов рестрикции ECOR1-NOT1.

Полученную экспрессионную кассету переносили в геном GAd20 путем гомологичной рекомбинации в подходящих штаммах E. coli, трансформированных фрагментом ДНК CMV-трансген-BGH и конструктом, несущим геном GAd20.

Рекомбинация включала CMV и BGH в качестве гомологичных плеч, которые уже присутствовали в конструкте GAd20 вместо делеции E1 (сайт встраивания трансгена). Затем рекомбинантные векторы GAd20 восстанавливали путем трансфекции комплементарных E1, экспрессирующих TetR клеток M9 и амплифицировали путем последующей реинфицирования свежих клеток M9.

Промотор CMV с сайтами TetO: SEQ ID NO: 628

Ccattgcatacgttgatccatataataatgtacatttatattggctcatgtccaacattaccgccatgttgacattgattattgactagttattaatagtaataat tacggggtcattagttcatagccatataatggagttccgcgttacataactacggtaaatggcccgctggctgaccgcccaacacccccccattgacgtcaat

aatgacgtatgtcccatagtaacccaataggacttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaactgccacttggcagtfacatcaagtgtatcatatgc
caagtacgccccctattgacgtcaatgacggtaaatggccgcctggcattatgccagtfacatgaccttattggacttctacttggcagtfacatctacgtatttagtc
atcgctattaccatggatgatcggttttggcagtfacatcaatgggcgtggatagcgggttgactcacggggattccaagtctccacccttggcagtfacatcaatgggagttt
gttttggaccaaaatacaacgggacttccaaaatgtcgaacaactccgccccattgacgcaaatggcggttaggcgtgacgtgggaggtctatataagcaga
gctctccatcatcagtgatagagatctccatcatcagtgatagagatcgtcgtcagcagctcgttttagtgaaccgtcagatcgctcggagacgcatccacgctgttttgacc
tccatagaagacaccgggaccgatccagcctccgcgccgggaacgggtgcatggaacgcggattccccgtccaagagtga

BGH polyA SEQ ID NO: 629

ctgtgccttctagttgccaccatctgtgtttgccctccccctgcttctctgacctggaagggtgccactcccactgtcctttctataaaaatgaggaaat
tgcacgcattgtctgagtaggtgctattctattctgggggggtggggggggcaggacagcaagggggaggattgggaagacaatagcaggcatgctggggatgc
ggtgggctctatggcc

Продукция вирусного вектора MVA

Трансген MVA субклонировали в плазмиду челночного типа p94 посредством сайтов рестрикции BAMHI-ASCI под контролем раннего/позднего промотора осповакцины P7.5 (SEQ ID NO: 630) между последовательностями, гомологичными локусу делеции III MVA (области Flank III-1 и -2). Дополнительная экспрессионная кассета для белка eGFP, фланкированная повторяющейся последовательностью под названием "Z", присутствовала в плазмиде челночного типа p94 между областями Flank III.

Исходный вектор MVA, используемый для генерации вирусов рекомбинантных вакцин, нес флуоресцентный белковый трансген HcRed1-1 в локусе делеции III и был указан как MVA-RED 476 MG.

Рекомбинантный MVA с трансгенной вставкой в локусе делеции III получали посредством двух событий рекомбинации *in vivo* в фибробластных клетках куриного эмбриона (CEF). Первое событие рекомбинации происходило в клетках, инфицированных MVA-RED 476 MG и трансфицированных плазмидой челночного типа p94, и приводило к замещению гена белка HcRed кассетой трансген/eGFP. Инфицированные клетки, содержащие промежуточный элемент MVA-GREEN, выделяли посредством сортировки зеленых клеток с помощью флуоресцентного сортирования (FACS). Промежуточный рекомбинантный MVA, полученный в результате первой рекомбинации, нес как трансген, так и кассету eGFP, но был нестабильным из-за наличия повторяющихся Z-областей. Таким образом, спонтанное второе событие рекомбинации происходило с задействованием Z-областей и удаляло кассету eGFP. Полученный рекомбинантный MVA был бесцветным и нес трансгенную кассету в локусе делеции III (сайт встраивания) MVA-RED 476 MG. Его выделяли посредством флуоресцентного сортирования бесцветных инфицированных клеток и амплифицировали путем реинфицирования свежих клеток CEF. Полученный лизат использовали для инфицирования клеток Age1 с получением исследуемой партии.

Ранний/поздний промотор P7.5 SEQ ID NO: 630

GATCACTAATTCCAAACCCACCCGCTTTTTATAGTAAGTTTTTACCCATAAATAATAAATAC
AATAATTAATTTCTCGTAAAAGTAGAAAATATATTCTAATTTATTGCACGGTAAGGAAGTAGAATC
ATAAAGAACAAGTACGGATC

Белок neoGAd20 SEQ ID NO: 541 (без TCE, без HIS-метки)

QNLQNGGSSRSATLPGRRRRRRLRRRRQPISVAPAGPPRRPNQKPNPPGGARCVIMRPTWPGTS
AFTKRSFAVTERIIDYWAQKEKGSFLRPSCDYWAQKEKISIPRTHLCLVGLVLSGHSRSLYEAGMTL
GGKILFFLFLLLPLSPFLIFTEISCTLSSEENEYLPRPEWQLQVPFRELKNVSVLEGLRQGRGGPCSCH
CPRPSQARLTPVDVAGPFLCLGDPGLFPPVKSSITGGKSTCSAPGPQSLPSTPFSTYPQWVILITELGMECT
LGQVGAQSPREEDGWRGGHSRFKADVPAPQGPCWGGQPGSAPSSAPPEQSLLDWKFEMSYTVGGPPP
HVHARPRHWKTDRDGHSTYKVNCLLLQDGFHGCVSITGAAGRRNLSIFLFLMLCKLEFHACKIQNKN
CPDFKKFDGPGGERGGRTARALWARGDSVLTALDPQTPVRAPSLTRAAA AVHYKLIQQPISLFSITD
RLHKTFSQLPSVHLCSITFQWGHPIFCSTNDICVTANFCISVTFKPCFLLHEASASQCHLFLQPQVGTTP
PHTASARAPSGPPHPHESCPAGRRPARAAQTCAARRQHGLPGCEEAGTARVPSLHLHLHQAALGAGRGR
GWGEACAQVPPSRGVLRFDLKVRYLHSQWQHYHRSGEAAGTPLWRPTRNVPFRELKNQRTAQGAP
GIHHAASPVAANLCDPARHAQHTRIPCGAGQVRAGRGPEAGGGVLPQRPAPPEKPGCPCRRGQPRLHT
VKMWRVAVMMVDPDRQVHYDFGLGVPGDSTRRAVRRMNTFYEAGMTLGEKFRVGNCKHLKMTRPNS
KMALNSEALS SVSECGASACDVSLIAMDSAFVQKDWGVKFFIRDFYAYKDFLWCFPFSLVFLQEIQI
CCHVSLCCICSTRICLGLLELFLSRALRALHVLWNGFQLHCQTEYNQKLQVNQFSESKSLYHREKQ
LIAMDSAICEERGAAGSLISCETMPAILKLQKNCLLSLRTALTHNQDFSIYRLCCKRGLSLCHASQARSPAF
PKPVRPLPAPITRITPQLGGQSDSSQPLLTTGRPQGWQDQALRHTQQASPASCATITIPHSALGDHSGD
PGPAWDTCPPLPLTTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCGPLGGNTTLQQLGEASQAPSGSLIPLRLPLLWEVR
GQPDFSAALHSSLNELGEIARELHQFAFDLLIKSHFVQKDWGLKFFIRDFWGMELAAASRRFSWDHH
SAGGPPRVPSVRSAAQVQPKDPLPLRTLAGCLARTAHLRPGAESLPQPQLHCTLWFQSSSELSPTGAPV
PSRRPTWRGTTVSPRTATSSARTCCGTKWPSSQEAALGLGSGLLRFSCGTAIRKMHFSLKEHPPPPCPP
EAFQRAAGEGPGRRGARRVLPQSPFCRAGAGEWLGHQSLRHVVGYGHLDTS GSSSSSSSWPNSKM
ALNSLNSIDDAQLTRIAPRSHCCFWEVNAP

Полинуклеотид neoGAd20 SEQ ID NO: 542 (без TCE, без HIS-метки)

CAGAACCTGCAGAACGGCGGAGGCTCTAGAAGCTCTGCTACACTTCTGGCAGGCGGCGGAG
AAGATGGCTGAGAAGAAGGCGGCAGCCTATCTCTGTGGCTCTGCTGGACCTCCTAGACGGCCAA

CCAGAAGCCTAATCCTCCTGGCGGAGCCAGATGCGTGATCATGAGGCCTACATGGCCTGGCACCAG
 CGCCTTACCAAGAGAAGCTTTGCCGTGACCGAGCGGATCATCGACTATTGGGCTCAAAAAGAGA
 AGGGCAGCAGCAGCTTCCCTGCGGCCTAGCTGTGATTATTGGGCCAGAAAAGAAAGATCAGCATC
 CCCAGAACACACCTGTGCCTGGTGTCTGGGAGTGTGTCTGGACACTCTGGCAGCAGACTGTATGAG
 GCCGGCATGACACTCGGCGGCAAGATCCTGTTCTTCTGTTCTGCTGCTCCCTCTGAGCCCCTTCA
 GCCTGATCTTACCGAGATCAGCTGCTGCACCCTGAGCAGCGAGGAAAACGAGTACCTGCCTAGAC
 CTGAGTGGCAGCTGCAGGTCCCCTTCAGAGAGCTGAAGAACGTTTCCGTGCTGGAAGGCCTGAGAC
 AGGGCAGACTTGGCGGCCCTTGTAGCTGTCACTGCCCCAGACCTAGTCAGGCCAGACTGACACCTG
 TGGATGTGGCCGACCTTTCCTGTGTCTGGGAGATCCTGGCCTGTTTCCACCTGTGAAGTCCAGCAT
 CACAGGCGGCAAGTCCACATGTTCTGCCCTGGACCTCAGAGCCTGCCTAGCACACCCTTCAGCAC
 ATACCCTCAGTGGGTATCCTGATCACCGBAATCGGCATGGAATGCACCCTGGGACAAGTGGGAGC
 CCCATCTCCTAGAAGAGAAGAGGATGGCTGGCGCGGAGGCCACTCTAGATTCAAAGCTGATGTGC
 CCGTCTCCTCAGGCCCTTGTGGGGAGGACAACCTGGATCTGCCCATCTTCTGCCCCACCTGAAC
 AGTCCCTGCTGGATTGGAAGTTCGAGATGAGCTACACCGTCGGCGGACCTCCACCTCATGTTTCATG
 CCAGACCTCGGCACTGGA AAAACCGACAGAGATGGCCACAGCTACACCAGCAAAGTGA ACTGCCTC
 CTGCTGCAGGATGGCTTCCACGGCTGTGTGTCTATTACTGGCGCCGCTGGCAGACGGAACCTGAGC
 ATCTTTCTGTTTCTGATGCTGTGCAAGCTCGAGTTCACGCCTGCAAGATCCAGAACAAGAACTGCC
 CCGACTTCAAGAAGTTCGACGGCCCTTGGCGGAGAAAAGAGGGCGGAGGCAGAACAGCTAGAGCCCTT
 TGGGCTAGAGGCGACAGCGTTCGACACCAGCTCTGGACCCTCAGACACCTGTTAGGGCCCCTAGC
 CTGACAAGAGCTGCCGCCGCTGTGCACTACAAGCTGATCCAGCAGCCAATCAGCCTGTTTCAGCATC
 ACCGACCGGCTGCACAAGACATTCAGCCAGCTGCCAAGCGTGCACCTGTGCTCCATCACCTTCCAG
 TGGGACACCCCTCTATCTTTTGTCTCCACCAACGACATCTGCGTGACCGCCA ACTTCTGTATCAGCG
 TGACCTTCTGAAGCCTTGTCTTCTGCTGCACGAGGCCAGCGCCTCTCAGTGCCACTTGTCTGCA
 GCCCAAGTGGGCACACCTCCTCCACATAACAGCCTCTGCTAGAGCACCTAGCGGCCCTCCACATCC
 TCACGAATCTTGTCTGCGGAAGAAGGCCTGCCAGAGCCGCTCAAACATGTGCCAGACGACAGC
 ACGGACTGCCTGGATGTGAAGAGGCTGGAACAGCCAGAGTGCCTAGCCTGCACCTCCATCTGCATC
 AGGCTGCTCTTGGAGCCGGAAGAGGATAGAGGATGGGGCGAAGCTTGTGCTCAGGTGCCACCTTCTA
 GAGGCGTGCTGAGATTCTGGACCTGAAAGTGCCTACCTGCACAGCCAGTGGCAGCACTATCACA
 GATCTGGCGAAGCCGCGGAACACCCCTTTGGAGGCCAACAAGAAAACGTGCCCTTCCGGGAACTG
 AAGAACCAGAGAACAGCTCAGGGCGTCTCCTGGAATCCACCATGCTGCTTCTCCAGTGGCCGCCAAC
 CTGTGTGATCCTGCCAGACATGCCAGCACACCAGGATTCCTTGTGGCGCTGGACAAGTGC GCGCT
 GGAAGAGGACCTGAAGCAGGCGGAGGTGTTCTGCAACCTCAAAGACCCGCTCCTGAGAAGCCTGG
 CTGCCCTTGCAAGAGGACAGCCTAGACTGCACACCGTGAAAATGTGGCGAGCCGTGGCCATGA
 TGGTGCCGATAGACAGTCCACTACGACTTTGGACTGGGCGTGCCAGGCGATAGCAGCTCGGAGA
 GCCGTACAGCGATGAACACCTTTTACGAAGCGGGACTGACCTGGGCGAGAAGTTCAGAGTGGG
 CAACTGCAAGCAGCTGAAGATGACCCGCGCTAACAGCAAGATGGCCCTGAATAGCGAGGCCCTGT
 CTGTGGTGTCTGAATGTGGCGCCTCTGCCTGTGACGTGTCCCTGATCGCTATGGACTCCGCCTTTGT
 GCAGGGCAAAGACTGGGGCGTGAAGAAGTTCATCCGGCGGGACTTCTACGCCTACAAGGACTTCC
 TGTGGTGTCTCCCTTCTCTCTGGTGTTCCTGCAAGAGATCCAGATCTGCTGTGATGTGCTGCTGCCTG
 TGCTGCATCTGCTGTAGCACCAGAATCTGCCTGGGCTGTCTGCTGGA ACTGTTCTGAGCAGAGCC
 CTGAGAGCACTGCACGTGCTGTGGAACGGATTCCAGCTGCACTGCCAGACCGAGTACAACCAGAA
 ACTGCAAGTGAACCAGTTCAGCGAGAGCAAGAGCCTGTACCACCGGAAAAGCAGCTCATTGCCA
 TGGACAGCGCCATCTGCGAAGAGAGAGGCGCCGAGGATCTCTGATCTCCTGCGAAAACAATGCC
 GCCATCCTGAAGCTGCAGAAGAATTGCCTCCTAAGCCTGCGAACCCTCTGACACACAACCAGGAC
 TTCAGCATCTACAGACTGTGTTGCAAGCGGGGCTCCCTGTGCCATGCAAGCCAAGCTAGAAGCCCC
 GCCTTTCCTAAACCTGTGCGACCTCTGCCAGCTCCAATCACCAGAATTACCCCTCAGCTCGGCGGCC
 AGAGCGATTCTCAACCTCTGCTGACCACCGGCAGACCTCAAGGCTGGCAAGACCAAGCTCTGA
 GACACACCAGCAGGCTAGCCCTGCCTTGTGCCACCATACAATCCCCATCCACTCTGCCGCTCT
 GGGCGATCATTCTGGCGATCCTGGACCAGCCTGGGACACATGTCCTCCACTGCCACTCACAACT
 GATCCCTAGGGCTCCTCCACCTTACGGCGATTCTACCGCTAGAAGCTGGCCCAGCAGATGTGGACC
 ACTCGGAGGCAACACAACCCTCCAGCAACTGGGAGAAGCCTCTCAGGCTCCTAGCGGCTCTCTGAT
 CCCTCTCAGACTGCCTCTCCTGTGGGAAGTTCGGGGCCAGCCTGATTCTTTTGGCCGACTGCACAGC
 TCCCTGAACGAGCTGGGAGAGATCGCTAGAGAGCTGCACCAGTTCGCCTTCGACCTGCTGATCAAG
 AGCCACTTCGTGCAAGGCAAGGATTGGGGCCTCAAAAAGTTTATCCGCAGAGACTTCTGGGGCATG
 GAACTGGCCGAGCAGAGAAGATTAGCTGGGATCATCATAGCGCAGGCGGCCACCTAGAGTGCC
 ATCTGTTAGAAGCGGAGCTGCCAGGTGCAGCCTAAAGATCCTCTGCCACTGAGAACA ACTGGCCGG
 CTGCCTTGCTAGAACAGCCATCTTAGACTGCGCGGAGTCTCTGCCTCAGCCACA ACTGC ACTGT
 ACCGTGTGGTTCAGCTCCAGCAGCTGTCTCCTACTGGTGGCCCTTGGCCACTAGACGCCCTACTT
 GGAGGCAACCGTGTCAACAAGAACC GCCACAAGCAGCGCCAGAACCTGTTGTGGCACA AAG
 TGGCCCTCCAGCCAAGAAGCCGCTCTCGGACTTGAAGCGGACTGCTGAGGTTCTCTTGTGGAACC
 GCCGCCATTCGGAAGATGCACTTTAGCCTGAAAGAACACCCTCCACCACCTTGTCTCCAGAGGCT
 TTCAAAGAGCTGCTGGCGAAGGCGGACCTGGTAGAGGTGGTGTGCTAGAAGAGGTGCTAGGGTGTCT

GCAGAGCCCATTCTGTAGAGCAGGCGCAGGCGAATGGCTGGGCCATCAGAGTCTGAGACATGTCCG
 TCGGCTACGGCCACCTGGATACAAGCGGAAGCAGCTCTAGCTCCAGCTGGCCTAACTCAAAAATGG
 CTCTGAACAGCCTGAACTCCATCGACGACGCCAGCTGACAAGAATCGCCCCTCCTAGATCTCACT
 GCTGCTTTTGGGAAGTGAACGCCCCA

Белок neoMVA SEQ ID NO: 543 (без TCE, без HIS-метки)

QNLQNGGGSRSSATLPGRRRRRRLRRRRQPISVAPAGPPRRPNQKPNPPGGARCVIMRPTWPGTS
 AFTGMECTLGQVGAAPSPREEDGWRGGHSRFAKADVPAPQGPCWGGQPGSAPSSAPPEQSLDDYWAQ
 KEKISIPRTHLCWKFEMSYTVGGPPPHVHARPRHWKTDYWAQKEKSSSFLRPSVFPRELKNVSV
 LEGLRQGRLLGGPCSHCPRPSQARLTPVDVAGPFLCLGDPGLFPPVKSSITEISCCTLSSEENEYLPRPEW
 QLQYEAGMTLGGKILFFLLPLSPFSLIFLVLGVLSGHSRSLKRSFAVTERIITGGKSTCSAPGPQSLP
 STPFSTYPQWVILITELDGHYSYTSKVNCLLLQDGFHGCVSITGAAGRNLISIFLMLCKLEFHACQWQH
 YHRSGEAAGTPLWRPTRNVAMMVPDRQVHYDFGLKIQNKCPDVLRFDLKVRYLHVSVPRELKNQR
 TAQGAPGIHHAASPVAANLCDPARHAQHTRIPCGAGQVRAGRGPEAGGGVLPQRPAPPEKPGCPCRRG
 QPRLHTVKMWRACHLFLQPQVGTTPPHHTASARAPSGPPHPHESCPAGRRPARAAQTCARRQHGLPGCE
 EAGTARVPSLHLHLHQAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRGHYKLIQQPISLFSITDRLHKTFSQLPSVHL
 CSITFQWGHPIFCSTNDICVTANFCISVTFLLKPCFLLHEASASQFKKFDGPCGERGGGRTARALWARGD
 SVLTPALDPQTPVRAPSLTRAAAAGVPGDSTRRAVRRMNTFCGASACDVSLIAMDSACEERGAAGSLI
 SCESLYHREKQLIAMDSAIFVQKDWGVKKFIRRDFTMPAILKLQKNCLLSLSKMLNSEALSUVSEY
 EAGMTLGEKFRVGNCKHLKMRPTEYNQKLQVNFSESKRTALTHNQDFSIYRLCCKRGSLSCHASQAR
 SPAFPKPVRLPAPITRITPQLGGQSDSSQPLTTGRPQGWQDQALRHTQQASPASCATITIPHSALGD
 HSGDPGPAWDTCPPLPLTTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCGPLYAYKDFLWCFPFSVFLQEIQCCHVS
 CLCCICSTRICLGLLELFLSRALRALHVLWNGFQLHCQNTTLQQLGEASQAPSGSLIPLRLPLLWEV
 RGNSKMLNSLNSIDDAQLTRIAPPRSHCCFWEVNAPFVQKDWGLKFFIRRDFAFQRAAGEGGPGR
 GGARRGARVLQSPFCRAGAGEWLGHQSLRWGMELAAASRRFSWDHHSAGPPRVPSVRSAAQVQPK
 DPLPLRTLGLARTAHLRPGAESLPQQLHCTIARELHQFAFDLLIKSHKMHFSLKEHPPPCPPHVVG
 YGHLDTSGSSSSSWPQPSFAALHSSLNELGELWFQSSSELSPTGAPWPSRRPTWRGTTVSPRTATSSAR
 TCCGTKWPSQEAALGLGSGLLRFSCGTAIRS

Полинуклеотид neoMVA SEQ ID NO: 544

CAGAACCTGCAGAACGGCGGAGGCTCTAGAAGCTCTGCTACACTTCTGGCAGGCGGCGGAG
 AAGATGGCTGAGAAGAAGGCGGCAGCCTATCTCTGTGGCTCCTGCTGGACCTCCTAGACGGCCAA
 CCAGAAGCCTAATCCTCCTGGCGGAGCCAGATGCGTGATCATGAGGCCTACATGGCCTGGCACCAG
 CGCCTTTACCGCATGGAATGTACACTGGGCCAAGTGGGAGCCCCATCTCCTAGAAGAGAAGAGG
 ATGGCTGGCGCGGAGGCCACTCTAGATTCAAAGCTGATGTGCCCGCTCCTCAGGGCCCTTGTGGG
 GAGGACAACAGTAGATCTGCCCCATCTTCTGCCCCACCTGAACAGAGCCCTGCTGGATGACTATTGGG
 CTCAAAAAGAGAAGATCAGCATCCCCAGAACACACACCTGTGCTGGAAGTTCGAGATGAGCTACACC
 GTTGGCGGCCCTCCACCACATGTTACAGCCAGACCTAGACACTGGAAAACCGACAGAGATTATTGG
 GCCCAGAAAAGAAAAGGGCAGCAGCAGCTTCTGCGGCCTAGCTGTGTGCCCTTCCGGGAAGTAA
 GAACGTGTCCGTTCTGGAAGGCCTGAGGCAGGGCAGACTTGGCGGACCTTGTAGCTGCCACTGTCC
 TAGACCAAGCCAGGCCAGACTGACCCCTGTGGATGTGGCTGGCCATTTCTGTGTCTGGGCGACCC
 TGGACTGTTCCCTCCAGTGAAGTCTAGCATCACCGAGATCAGCTGCTGCACCCTGAGCAGCGAGGA
 AAACGAGTACCTGCCTAGACCTGAATGGCAGCTGCAGTACGAGGCCGGCATGACACTCGGAGGCA
 AGATCCTGTTCTTCTGTTCTGCTGCTCCCTCTGAGCCCCTCAGCCTGATCTTTCTGGTGCTGGGC
 GTGCTGTCTGGCCACTCTGGAAGCAGACTGAAGAGAAGCTTCGCCGTGACCGAGCGGATCATCACA
 GGCGGCAAGAGCACATGTTCTGCCCCTGGACCTCAGTCTCTGCCAGCACACCCTTCAGCACATA
 CCTCAGTGGGTATCCTGATCACCGAGCTGGATGGCCACAGCTACACCAGCAAAGTGAAGTGCCTC
 CTGCTGCAGGATGGCTTCCACGGCTGTGTGTCTATTACTGGCGCCGCTGGCAGACGGAACCTGAGC
 ATCTTTCTGTTTCTGATGCTGTGCAAGCTCGAGTTCACGCCTGCCAATGGCAGCACTACCACAGAT
 CTGGCGAAGCCGCTGGAACCCACTTTGGAGGCCTACCAGAAACGTGGCCATGATGGTGCCCGAC
 AGACAGGTGCACTACGACTTCGGCCTGAAGATCCAGAACAAGAACTGCCCCGACGTGCTGCGGTTT
 CTGGATCTCAAAGTGCCTACCTGCACAGCGTGCCTTCCAGAGAGCTGAAAAACCGAGAGAACAGC
 CCAGGGCGCTCCTGGAATCCATCATGCTGCTTCTCCAGTGGCCGCAATCTGTGCGATCCTGCCAG
 ACATGCCCAGCATAACAGGATTCCTTGTGGCGCTGGACAAGTGCAGCGCTGGAAGAGGACCTGAAG
 CTGGTGGCGGAGTTCTGCAGCCTCAAAGACCTGCTCCTGAGAAGCCTGGCTGCCCCTGTAGAAGAG
 GACAGCCTAGACTGCACACCGTGAAGATGTGGCGGGCCTGCCACTTGTTCCTCAGCCACAAGTGG
 GCACCCCTCCACCTCATAACAGCCTCTGCTAGAGCACCTAGCGGCCACCTCATCTCACGAATCTTG
 TCCTGCCGGAAGAAGGCCTGCCAGAGCCGCTCAAACATGTGCCAGACGACAGCAGCGGATGCCCG
 GATGTGAAGAAGCCGGAACAGCAGAGTGCCTAGCCTGACCTTTCATCTGCATGACGCGCTCTTG
 GAGCCGGAAGAGGTAGAGGATGGGGAGAAGCTTGTGCCAGGTGCCACTTCTAGAGGCCACTAC
 AAGCTGATCCAGCAGCCAATCAGCCTGTTCTCCATCACCGACCGCTGCACAAGACATTCAGCCAG
 CTGCCTTCCGTGCATCTGTGCAGCATCACCTTCCAGTGGGGACACCCTCCTATCTTTTGTCCACCA
 ACGACATCTGCGTGACCGCCAACCTTCTGTATCAGCGTGACCTTCCCTGAAGCCTTGTCTTCTGCTGCA
 CGAGGCCTCCGCCAGCCAGTTTAAAGAAGTTTACCGGCCCTGCGGCGAGAGAGGCGGAGGAAGAA

CTGCAAGAGCCCTTTGGGCCAGAGGGCGACTCTGTTCTGACACCAGCTCTGGACCCTCAGACACCTG
 TTAGGGCCCCTAGCCTGACAAGAGCTGCCGCTGCTGTTGGAGTGCCTGGCGATTCTACTAGAAGGG
 CCGTGCGGCGGATGAACACCTTTTGTGGCGCATCTGCCTGCGACGTGTCCCTGATCGCTATGGATA
 GCGCCTGCGAGGAAAGAGGGCGCAGCCGGATCTCTGATCTCTTGCAGAGCCTGTACCACCGGAA
 AAGCAGCTCATTGCCATGGACAGCGCCATCTTCGTGCAGGGCAAAGACTGGGGCGTGAAGAAGTT
 CATCCGGCGGGACTTTACCATGCCTGCCATTCTGAAGCTGCAGAAGAATTGTCTTCTAAGCCTGAA
 CAGCAAGATGGCCCTGAATAGCGAGGCCCTGTCTGTGGTGTCCGAGTATGAGGCTGGAATGACCCT
 GGGCGAGAAGTTCAGAGTGGGCAACTGCAAGCACCTGAAGATGACCCGGCCTACCGAGTACAACC
 AGAAACTGCAAGTGAACCAGTTCAGCGAGAGCAAGCGGACCCTCTGACCCACAACCAGGACTTC
 AGCATCTACCGGCTGTGCTGCAAGAGGGGCTCTCTGTGTCATGCTAGCCAGGCTAGAAGCCCCGCC
 TTTCTAAGCCTGTGACACCTCTGCCTGCTCCTATCACCAGAATCACCCTCAGCTCGGCGGGCAGT
 CTGATTCATCTCAGCCACTGCTGACCACCGCAGACCTCAAGGATGGCAAGACCAGGCTCTGAGAC
 ACACAGCAGGCTAGCCCAGCCTCTTGCGCCACCATCACAAATACCAATACATTCTGCCGCTCTGG
 GCGATCACAGCGGAGATCCTGGACCTGCCTGGGATACTTGTCTCCTCTGCCCTAACTACACTGAT
 CCCTAGGGCTCCTCCACCTTACGGCGATAGCACAGCCAGATCCTGGCCTAGCAGATGTGGCCCTCT
 GGGCTACGCCTACAAGGACTTCTGTGGTGTCTCCCTTCTCTGTGGTGTCTGCAAGAAATCCAG
 ATCTGCTGTACGTGTCTGCTGTGATCTGCTGTAGCACCCGGATCTGTCTGGGCTGTCTGC
 TGGAAGTGTCTGAGCAGAGCCCTGAGAGCACTGCACGTGTGTGGAACGGATTCCAGCTGCACT
 GCCAGGGCAACACCACACTGCAACAGCTGGGAGAAGCCTCTCAGGCCCAAGCGGTTCTCTGATCC
 CTCTCAGACTGCCCTCCTGTGGGAAGTGCGGGGCAATTCTAAGATGGCTCTCAACAGCCTGAAC
 CCATCGACGACGCCAGCTGACAAGAATCGCCCCTCCAAGAAGCCACTGTTGCTTTTGGGAAGTGA
 ACGCCCTTTTGTGCAGGGTAAAGATTGGGGCCTCAAAAAGTTTATCAGACGGGACTTCGAGGCTT
 TCCAGAGAGCAGCTGGCGAAGGCGGACCTGGCAGAGGTGGTGTAGAAAGAGGTGCTAGAGTGCTG
 CAGAGCCATTCTGTAGAGCTGGCGCTGGCGAATGGCTGGGCCACCAATCTTATAGATGGGGAATG
 GAACTGGCCGCTAGCAGGCGGTTAGCTGGGATCATCATTCTGCCGCGGACCTCCAAGAGTGCCA
 AGCGTTAGAAGCGGAGCAGCCAGGTCCAGCCTAAAGATCCACTGCCACTGAGAACACTGGCCGG
 CTGCCTTGCCAGAACAGCTCATCTTAGACCTGGCGCCGAAAGCCTGCCTCAACCTCAGCTGCATTG
 CACAATCGCCAGAGAAGTGCACCAGTTCGCCTTCGACCTGCTGATCAAGAGCCACAAGATGCACTT
 CTCACTGAAAGAGCACCCGCCACCGCCGTGCCACCGCACGTTGTCCGGCTATGGCCACCTGGATAC
 AAGCGGCTCCTCTAGCAGTAGCTCCTGGCCTCAGCCTGACAGCTTTGCTGCCCTGCATAGCTCCCTG
 AATGAGCTGGGCGAAGTGTGGTCCAGTCCAGCGAAGTGTCTCCTACTGGCGCTCCATGGCCAAGC
 AGAAGGCCTACTTGGAGAGGCACCACCGTGTCTCCAAGAACCCTACAAGCAGCGCCAGAACCTG
 TTGCGGCACAAAATGGCCCTCCAGCCAAGAAGCTGCCCTCGGACTTGAAGCGGACTGCTGAGATT
 CAGCTGTGGCACAGCCGCCATCAGA

Белок экспрессионной кассеты neoGAd20 SEQ ID NO: 550

MGQKEQIHTLQKNSERMKQLTRSSQAVQNLQNGGSRSSATLPGRRRRRWLRRRRQPISVAPA
 GPPRRPNQKPNPPGGARCVIMRPTWPGTSAFTKRSFAVTERIIDYWAQKEKSSSFLRPSCDYWAQKEK
 ISIPRTHLCLVLGVLSGHSRLEYEAGMTLGGKILFFLFLLLPLSPFLIFTEISCCTLSSEENEYLPRPEWQ
 LQVPFRELKNVSVLEGLRQRLGGPCSHCPRPSQARLTPVDVAGPFLCLGDPGLFPPVKSSITGGKSTC
 SAPGPQSLPSTPFSTYPQWVILITELGMECTLGQVGAAPSPREEDGWRGGHSRKFADVPAPQGPCWGGQ
 PGSAPSSAPPEQSLLDWKFEMS YTVGGPPHVHARPRHWKTDRDGHSYTSKVNCLLLQDGFHGCVSIT
 GAAGRRLNSIFLFLMLCKLEFHACKIQNKNCDFKFDGPCGERGGRTARALWARGDVLTPALDPQ
 TPVRAPSLTRAAA VHYKLIQQPISLFSITDRLHKTFSQLPSVHLCISITFQWGHPIFCSTNDICVTANFCIS
 VTFLKPCFLLHEASASQCHLFLQPQVGTTPPHASARAPSGPPHPHESCPAGRRPARAAQT CARRQHGLP
 GCEEAGTARVPSLHLHLHQAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRGVLRFDLKVRYLHSQWQHYHRSGE
 AAGTPLWRPTRNVFRELKNQRTAQGAPGIHHAASPVAANLCDPARHAQHTRIPCGAGQVRAGRGPEA
 GGGVLPQRPAPPEKPGPCRRGQPRLHTVKMWRAVAMMVPDRQVHYDFGLGVPDSTRRAVRRMN
 TFYEAGMTLGEKFRVGNCKHLKMTRPNSKMALNSEALS VVSECGASACDVSLIAMDSAFVQKDWG
 VKKFIRRFYAYKDFLWCFPFLVFLQEIQICCHVSLCCICSTRICLGCLLEFLSRALRALHVLWNGF
 QLHCQTEYNQKLQVNQFSESKSLYHREKQLIAMDSAICEERGAAGSLISCETMPAILKLQKNCLLSLRTA
 LTHNQDFS IYRLCCKRGLCHASQARSPAFPKPVRPLPAPITRITPQLGGQSDSSQPLTTGRPQGWQDQ
 ALRHTQQASPASCATITIPHS AALGDHSGDPGPAWDTCPPLPLTTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCGPLG
 GNTTLQQLGEASQAPSGSLIPLRLPLLWEVRGQPDFAALHSSLNELGEIARELHQFAFDLLIKSHFVQG
 KDWGLKKFIRRFDFWGMELAAARRFSDHHSAGGPPRVPSVRS GAAQVQPKDPLPLRTL AGLCLARTAH
 LRPGAESLPQPQLHCTLWFQSSSELPTGAPWPSRRPTWRGTTVPRTATSSARTCCGTKWPSSQE AALG
 LGSGLLRFSCGTAIRKMHFSLKEHPPPCPEAFQRAAGEGGPGRGGARRGARVLQSPFCRAGAGEWL
 GHQSLRHVVGYGHLDTS GSSSSSSWPNSKMALNSLNSIDDAQLTRIAPPRSHCCFW EVNAP

Полинуклеотид экспрессионной кассеты neoGAd20 SEQ ID NO: 551

Ccattgcatagctgtatccatatacataatgtacattatattgctcatgctcaacattaccgcatgtgacattgattattgactagttattaatgtaataat
 tacggggtcattgattcattagccatataatggaggtccgcttacataactacggtaaatggccgctgctgaccgccaacgacccccccattgactcaat
 aatgacgtatgtcccatagtaacgccaataggacttccattgacgtcaatgggtggagtatttacggtaaacgcccactggcagtacatcaagtgtatcatatgc
 caagtacgccccattgacgtcaatgacggtaaatggccgctgcatatgcccagttacgacttatgggacttctactggcagttacatctacgtattagtc

atcgtattaccatggtgatgcggtttggcagtacatcaatgggcgtggatagcgggttgactcacggggattccaagtccacccattgacgtcaatgggagttt
 gtttggcaccaaaatcaacgggactttcaaaatgtcgtacaactccgccccattgacgcaaatggcggttaggcgtgtacgggtggaggtctatataagcaga
 gctctccatcatcagtgatagatctccatcatcagtgatagatcgtcgtcagcgtctgttagtgaaccgtcagatcgcctggagacgccatccacgtgtttgacc
 tccatagaagacaccgggaccgatccagcctccgcggcgggaacgggtcattggaacgcggattccccgtccaagagtgatctccgtttatctaggtacc
 agatatcaGAATTCGGATCCCCGCGACTTCGCCGCCATGGGCCAGAAAGAGCAGATCCACACACTGCAGA
 AAAACAGCGAGCGGATGAGCAAGCAGCTGACCAGATCTTCTCAGGCCGTGCAGAACCTGCAGAAC
 GCGGAGGCTCTAGAAGCTCTGCTACACTTCTGGCAGGCGGCGGAGAAGATGGCTGAGAAGAAG
 GCGGCAGCCTATCTCTGTGGCTCCTGCTGGACCTCTAGACGGCCCAACCAGAAGCCTAATCCTCC
 TGGCGGAGCCAGATGCGTGATCATGAGGCCTACATGGCCTGGCACCAGCGCCTTACCAAGAGAA
 GCTTTGCCGTGACCGAGCGGATCATCGACTATTGGGCTCAAAAAGAGAAGGGCAGCAGCAGCTTC
 CTGCGCCTGAGTGTGATTATTGGGCCAGAAAAGAAAAGATCAGCATCCCCAGAACACACCTGTGC
 CTGGTCTGGAGTGTCTGTGGACACTCTGGCAGCAGACTGTATGAGGCCGGCATGACACTCGGC
 GGCAAGATCCTGTTCTTCTGTTCTGCTGCTCCCTCTGAGCCCCTTACGCCTGATCTTACCGAGA
 TCAGCTGCTGCACCCTGAGCAGCGAGGAAAACGAGTACCTGCCTAGACCTGAGTGGCAGCTGCAG
 GTCCCCTTACAGAGAGCTGAAGAACGTTTTCCGTGCTGGAAGGCCTGAGACAGGGCAGACTTGGCGG
 CCCTTGTAGCTGTCACTGCCCCAGACCTAGTCAGGCCAGACTGACACCTGTGGATGTGGCCGGACC
 TTTCTGTGTCTGGGAGATCCTGGCCTGTTTCCACCTGTGAAGTCCAGCATCACAGGCGGCAAGTCC
 ACATGTTCTGCCCCTGGACCTCAGAGCCTGCCTAGCACACCCTTACGCACATAACCCTCAGTGGGTCT
 ATCCTGATCACCGAACTCGGCATGGAATGCACCCTGGGACAAGTGGGAGCCCCATCTCCTAGAAGA
 GAAGAGGATGGCTGGCGCGGAGGCCACTCTAGATTCAAAGCTGATGTGCCCGCTCCTCAGGGCCCT
 TGTTGGGGAGGACAACCTGGATCTGCCCCATCTTCTGCCCCACCTGAACAGTCCCTGCTGGATTGG
 AAGTTCGAGATGAGCTACACCGTCGGCGGACCTCCACCTCATGTTTCATGCCAGACCTCGGCCTGG
 AAAACCGACAGAGATGGCCACAGCTACACCAGCAAAGTGAAGTGCCTCCTGCTGCAGGATGGCTT
 CCACGGCTGTGTGTCTATTACTGGCGCCGCTGGCAGACGGAACCTGAGCATCTTTCTGTTTCTGATG
 CTGTGCAAGCTCGAGTTCACGCCTGCAAGATCCAGAACAAGAACTGCCCCGACTTCAAGAAGTTC
 GACGGCCCTTGCGGAGAAAGAGGGCGGAGGCAGAACAGCTAGAGCCCTTTGGGCTAGAGGGCGACAG
 CGTTCTGACACCAGCTCTGGACCCTCAGACACCTGTTAGGGCCCCTAGCCTGACAAGAGCTGCCGC
 CGCTGTGCACTACAAGCTGATCCAGCAGCAATCAGCCTGTTACGCATCACCGACCGGCTGCACAA
 GACATTCAGCCAGCTGCCAAGCGTGCACCTGTGCTCCATCACCTTCCAGTGGGGACACCCTCCTAT
 CTTTTGCTCCACCAACGACATCTGCGTGACCGCAACTTCTGTATCAGCGTGACCTTCTGAAGCCT
 TGCTTTCTGCTGCACGAGGCCAGCGCCTCTCAGTGCCACTTGTCTTCTGCAGCCCCAAGTGGGCACAC
 CTCTCCACATACAGCCTCTGCTAGAGCACCTAGCGGCCCTCCACATCCTCACGAATCTTGTCTGC
 CGGAAGAAGGCCTGCCAGAGCCGCTCAAACATGTGCCAGACGACAGCACGGACTGCCTGGATGTG
 AAGAGGCTGAAAGCAGCAGAGTGCCTAGCCTGCACCTCCATCTGCATCAGGCTGTCTTGGAGCCG
 GAAGAGGTAGAGGATGGGGCGAAGTGTGTCTCAGGTGCCACCTTCTAGAGGCGTGTGTGAGATTC
 CTGGACCTGAAAGTGCCTACCTGCACAGCCAGTGGCAGCACTATCACAGATCTGGCGAAGCCGCC
 GGAACACCCCTTTGGAGGCCAACAAGAAACGTGCCCTTCCGGAACTGAAGAACCAGAGAACAGC
 TCAGGGCGCTCCTGGAATCCACCATGCTGCTTCTCCAGTGGCCGCCAACCTGTGTGATCCTGCCAG
 ACATGCCCAGCACACCAGGATTCCTTGTGGCGCTGGACAAGTGCGCGCTGGAAGAGGACCTGAAG
 CAGGCGGAGGTGTTCTGCAACCTCAAAGACCCGCTCCTGAGAAGCCTGGCTGCCCTTGCAGAAGAG
 GACAGCCTAGACTGCACACCGTGAAAATGTGGCGAGCCGTGGCCATGATGGTGGCCGATAGACAG
 GTCCACTACGACTTTGGACTGGGCGTGCCAGGCGATAGCACTCGGAGAGCCGTGACACGGATGAA
 CACCTTTTACGAAGCCGGGATGACCCTGGGCGAGAAGTTCAGAGTGGGCAACTGCAAGCACCTGA
 AGATGACCCGGCCTAACAGCAAGATGGCCCTGAATAGCGAGGCCCTGTCTGTGGTGTCTGAATGTG
 GCGCCTCTGCTGTGACGTGTCCCTGATCGCTATGGACTCCGCCTTTGTGCAGGGCAAAGACTGGG
 GCGTGAAGAAGTTCATCCGGCGGGACTTCTACGCCTACAAGGACTTCCCTGTGGTGTCTCCCTTCTC
 TCTGGTGTCTGCAAGAGATCCAGATCTGCTGTCATGTGTCCTGCCTGTGCTGCATCTGCTGTAGC
 ACCAGAATCTGCCTGGGCTGTCTGCTGGAAGTGTTCCTGAGCAGAGCCCTGAGAGCACTGCACGTG
 CTGTGGAACGGATTCCAGCTGCACTGCCAGACCGAGTACAACCAGAAACTGCAAGTGAACCAGTT
 CAGCGAGAGCAAGAGCCTGTACCACCGGGAAGAGCAGCTCATTGCCATGGACAGCGCCATCTGCG
 AAGAGAGAGGCGCCGAGGATCTCTGATCTCCTGCGAAACAATGCCCGCCATCCTGAAGCTGCAG
 AAGAATTGCCTCCTAAGCCTGCGAACCCTCTGACACACAACCAGGACTTACAGCATCTACAGACTG
 TGTTGCAAGCGGGGCTCCCTGTGCCATGCAAGCCAAGCTAGAAGCCCCGCTTTCCTAAACCTGTG
 CGACCTCTGCCAGCTCCAATCACCAGAATTACCCCTCAGCTCGGCGGCCAGAGCGATTCACTCAA
 CCTCTGCTGACCACCGGCAGACCTCAAGGCTGGCAAGACCAAGCTCTGAGACACACCCAGCAGGC
 TAGCCCTGCCTCTGTGCCACCATACAATCCCCATCCACTCTGCCGCTCTGGGCGATCATTCTGGC
 GATCCTGGACCCAGCCTGGGACACATGTCCTCCACTGCCACTCACAACTGATCCCTAGGGCTCCT
 CCACCTTACGGCATTCTACCCTAGAGCTAGACTGGCCAGCAGATGTGGACCCTCGGAGGCAACACA
 ACCCTCAGCAACTGGGAGAAGCCTCTCAGGCTCCTAGCGGCTCTCTGATCCCTCTCAGACTGCCTC
 TCCTGTGGGAAGTTCGGGGCCAGCCTGATTCTTTTGGCCACTGCACAGCTCCCTGAACGAGCTGG
 GAGAGATCGCTAGAGAGCTGCACCAGTTCGCCTTCGACCTGCTGATCAAGAGCCACTTCGTGCAAG
 GCAAGGATTGGGGCCTCAAAAAGTTTATCCGCAGAGACTTCTGGGGCATGGAAGTGGCCGCCAGC

AGAAGATTCAGCTGGGATCATCATAGCGCAGGCGGCCACCTAGAGTGCCATCTGTTAGAAGCGG
 AGCTGCCAGGTGCAGCCTAAAGATCCTCTGCCACTGAGAACACTGGCCGGCTGCCTTGCTAGAAC
 AGCCATCTTAGACCTGGCGCCGAGTCTCTGCCTCAGCCAACTGCACTGTACCCTGTGGTTCCAG
 TCCAGCGAGCTGTCTCCTACTGGTGCCCTTGCCATCTAGACGCCCTACTTGAGAGGGCACCACC
 GTGTCACCAAGAACCGCCACAAGCAGCGCCAGAACCTGTTGTGGCACAAAGTGGCCCTCCAGCCA
 AGAAGCCGCTCTCGGACTTGGAAGCGGACTGCTGAGGTTCTCTTGTGGAACCGCCGCTTCGAA
 GATGCACTTTAGCCTGAAAGAACCCCTCCACCACCTTGTCTCCAGAGGCTTTCCAAAGAGCTGC
 TGGCGAAGGCGGACCTGGTAGAGGTGGTGTAGAAAGAGGTGCTAGGGTGTGCAGAGCCCATTCT
 GTAGAGCAGGCGCAGGCGAATGGCTGGGCCATCAGAGTCTGAGACATGTCTCGGCTACGGCCAC
 CTGGATAACAAGCGGAAGCAGCTCTAGCTCCAGCTGGCCTAACTCAAAAATGGCTCTGAACAGCCTG
 AACTCCATCGACGACGCCAGCTGACAAGAATCGCCCTCCTAGATCTCACTGTGCTTTTGGGAA
 GTGAACGCCCCAAGCCATCACCATCACCACATTAGTAAAGGCGCGCCTAGCGGCCGCgatctgtgtgccc
 ttctagttgccagccatctgtgtttgccctccccgtgcttcttgacctggaaggtgccactcccactgtccttctataaaaatgaggaaattgcatcgcatgt
 ctgagtaggtgcatctattctgggggtgggggtggggcaggacagcaagggggaggattgggaagacaatagcaggcatctggggatgcgggtggcttat
 gcc

Белок экспрессионной кассеты неоMVA SEQ ID NO: 552

MGQKEQIHTLQKNSERMASKQLTRSSQAVQNLQNGGSRSSATLPGRRRRRWLRRRRQPISVAPA
 GPPRRPNQKPNPPGGARCVIMRPTWPGTSAFTGMECTLGQVVGAPSPRREEDGWRGGHSRFDKADVPAPQ
 GPCWGGQPGSAPSSAPPEQSLDDYWAQKEKISIPRTHLCWKFEMSYTVGGPPPHVHARPRHWKTDRD
 YWAQKEKSSSFLRSCVPFRELKNVSVLEGLRQRLGGPCSCHCPRPSQARLTPVDVAGPFLCLGDPG
 LFPPVKSSITEISCTLSSEENEYLPRPEWQLQYEAGMTLGGKILFFLLPLSPFSLIFLVLGVLSGHS
 RLRKRSFAVTERIITGGKSTCSAPGPQSLPSTPFSTYPQWVILITELDGHSYTSKVNCLLLQDGFHGCVSITG
 AAGRRNLSIFLFLMLCKLEFHACQWQHYHRSGEAAGTPLWRPTRNVAMMVPDRQVHYDFGLKIQNK
 NCPDVLRFDLKLVRYLHVSVPFRELKNQRTAQGAPGIHHAASPVAANLCDPARHAQHTRIPCGAGQVRA
 GRGPEAGGGVLQQRPAPEKPGCPCRRGQRLHTVKMWRACHLFLQPQVGTPPPHTASARAPSGPPHP
 HESCPAGRRPARAAQTCARRQHGLPGCEEAGTARVPSLHLHLHAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRG
 HYKLIQQPISLFSITDRLHKTFSQLPSVHLCSITFQWGHPIFCSTNDICVTANFCISVTFKPCFLLHEASA
 SQFKKFDGPCGERGGRTARALWARGDSVLTALDPQTPVRAPSLTRAAAAGVVPDSTRRAVRRMN
 TFCGASACDVSLIAMDSACEERGAAGSLISCESLYHREKQLIAMDSAIFVQKDWGVKKFIRRDFTMPA
 ILKLQKNCLLSLNSKMALNSEALSVVSEYEAGMTLGEKFRVGNCKHLKMTRPTEYNQKLQVNFSESK
 RTALTHNQDFSIYRLCCKRGLCHASQARSPAFKPVRLPAPITRITPQLGGQSDSSQPLLTGRPQGWQ
 DQALRHTQQASPASCATITIPHSALGDHSGDPGPAWDTCPPLPLTTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCGP
 LGYAYKDFLWCFPSLVFLQEIQCCHVSLCCICSTRICLGLLELFLSRALRALHVLWNGFQLHCQG
 NTTLQQLGEASQAPSLIPLRLPLLWEVRGNSKMALNSLNSIDDAQLTRIAPPRSHCCFWEVNAPFVQ
 GKDWGLKKFIRRDFAFQRAAGEGPGRRGARRARVLPQSPFCRAGAGEWLGHQSLRWGMELAAASR
 RFSWDHHSAGPPRVPVSRGAAQVQKDPDLRLRLTAGCLARTAHLRPGAESLPQQLHCTIARELHQF
 AFDLLIKSHKMHFSLKEHPPPCPPHVVGYGHLDTSGSSSSSWPQPSFAALHSSLNELGELWFQSSSEL
 SPTGAPWPSRRPTWRGTTVSPRTATSSARTCCGTKWPSSQEAALGLGSGLLRFSCGTAIR

Полинуклеотид экспрессионной кассеты неоMVA SEQ ID NO: 553

gatcaacttaaccaccaccgctttttatagtaagttttaccataataataataataataataatttctgtaaaagtagaaaatatattctaatatttgc
 acgtaaggaagtagaatcataagaacagtgaacGGATCCCGCGACTTCGCCGCCATGGGCCAGAAAGAGCAGATCCA
 CACTGCAGAAAAACAGCGAGCGGATGAGCAAGCAGCTGACCAGATCTTCTCAGGCCGTGCAGA
 ACCTGCAGAACGGCGGAGGCTCTAGAAGCTCTGCTACACTTCTGCGAGGCGGCGGAGAAGATGG
 CTGAGAAGAAGGCGGCAGCCTATCTCTGTGGCTCCTGCTGGACCTCCTAGACGGCCCAACCAGAAG
 CCTAATCCTCCTGGCGGAGCCAGATGCGTGATCATGAGGCCTACATGGCCTGGCACCAGCGCCTTT
 ACCGGCATGGAATGTACACTGGGCAAGTGGGAGCCCCATCTCCTAGAAGAGAAGAGGATGGCTG
 GCGCGGAGGCCACTCTAGATTCAAAGCTGATGTGCCCGCTCCTCAGGGCCCTTGTGGGGAGGACA
 ACCTGGATCTGCCCCATCTTCTGCCCCACCTGAACAGAGCCTGCTGGATGACTATTGGGCTCAAAA
 AGAGAAGATCAGCATCCCAGAACACACCTGTGCTGGAAGTTCGAGATGAGCTACACCGTTGGCG
 GCCCTCCACCACATGTTACGCCAGACCTAGACACTGGAAAACCGACAGAGATTATTGGGCCCAGA
 AAGAAAAGGGCAGCAGCAGCTTCTGCGGCCTAGCTGTGTGCCCTTCCGGGAAGTGAAGAACGTG
 TCCGTTCTGGAAGGCCTGAGGCAGGGCAGACTTGGCGGACCTTGTAGCTGCCACTGTCTTAGACCA
 AGCCAGGCCAGACTGACCCCTGTGGATGTGGCTGGCCATTTCTGTGTCTGGGCGACCCTGGACTG
 TTCCCTCCAGTGAAGTCTAGCATCACCGAGATCAGCTGCTGCACCCTGAGCAGCGAGGAAAACGAG
 TACCTGCCTAGACCTGAATGGCAGCTGCAGTACGAGGCCGGCATGACACTCGGAGGCAAGATCCT
 GTTCTTCTGTTCTGCTGCTCCCTCTGAGCCCCCTCAGCCTGATCTTTCTGGTGCTGGGCGTGTGT
 CTGGCCACTCTGGAAGCAGACTGAAGAGAAGCTTCGCCGTGACCGAGCGGATCATCACAGGCGGC
 AAGACACATGTTCTGCCCTGGACCTCAGCTCTGCCCAGCACACCCTTCAGCACATACCCCTCAGT
 GGGTACCTGTATCACCAGCTGGATGGCCAGCTACACCAGCAAAGTGAAGTGCCTCCTGCTGC
 AGGATGGCTTCCACGGCTGTGTGTCTATTACTGGCGCCGCTGGCAGACGGAACCTGAGCATCTTTC
 TGTTTCTGATGCTGTGCAAGCTCGAGTTCACGCCTGCCAATGGCAGCACTACCACAGATCTGGCG
 AAGCCGCTGGAACCCCACTTTGGAGGCCTACCAGAAACGTGGCCATGATGGTGGCCGACAGACAG

GTGCACTACGACTTCGGCCTGAAGATCCAGAACAAGAAGTGCCTCCGACGTGCTGCGGTTCTGGAT
 CTCAAAGTGCCTACCTGCACAGCGTGCCCTTCAGAGAGCTGAAAAACCAGAGAACAGCCCAGGG
 CGCTCCTGGAATCCATCATGCTGCTTCTCCAGTGGCCGCAATCTGTGCGATCCTGCCAGACATGCC
 CAGCATAACCAGGATTCCTTGTGGCGCTGGACAAGTGCAGCGCTGGAAGAGGACCTGAAGCTGGTGG
 CGGAGTTCTGCAGCCTCAAAGACCTGCTCCTGAGAAGCCTGGCTGCCCCTGTAGAAGAGGACAGCC
 TAGACTGCACACCGTGAAGATGTGGCGGGCCTGCCACTTGTCTTCCAGCCACAAGTGGGCACCCC
 TCCACCTCATAACAGCCTCTGCTAGAGCACCTAGCGGCCACCTCATCTCACGAATCTTGTCTGCC
 GGAAGAAGGCCTGCCAGAGCCGCTCAAACATGTGCCAGACGACAGCACGGACTGCCCGGATGTGA
 AGAAGCCGGAACAGCCAGAGTGCCTAGCCTGCACCTTCATCTGCATCAGGCCGCTCTTGGAGCCGG
 AAGAGGTAGAGGATGGGGAGAAGCTTGTGCCAGGTGCCACCTTCTAGAGGCCACTACAAGCTGA
 TCCAGCAGCCAATCAGCCTGTTCTCCATCACCAGCGCTGCACAAGACATTACGCCAGCTGCCTT
 CCGTGCATCTGTGCAGCATACCTTCCAGTGGGACACCCCTCTATCTTTGTCTCCACCAACGACAT
 CTGCGTAGCCGCAACTTGTATCAGCGTGCACCTTCTGAAGCCTTGCTTTCTGCTGCCAGAGGCC
 TCCGCCAGCCAGTTAAGAAGTTTGACGGCCCTGCGCGAGAGAGGGCGGAGGAAGAACTGCAAG
 AGCCCTTTGGGCCAGAGGCGACTCTGTTCTGACACCAGCTCTGGACCCTCAGACACCTGTTAGGGC
 CCCTAGCCTGACAAGAGCTGCCGCTGCTGTTGGAGTGCCTGGCGATTCTACTAGAAGGGCCGTGCG
 GCGGATGAACACCTTTTGTGGCGCATCTGCCTGCGACGTGTCCCTGATCGCTATGGATAGCGCCTG
 CGAGGAAAGAGGGCGCAGCCGGATCTCTGATCTTGTGCGAGAGCCTGTACCACCGGAAAAGCAGC
 TCATTGCCATGGACAGCGCCATCTTGTGCGAGGGCAAAGACTGGGGCGTGAAGAAGTTCATCCGGC
 GGGACTTTACCATGCCTGCCATTCTGAAGCTGCAGAAGAATTGTCTTCTAAGCCTGAACAGCAAGA
 TGGCCCTGAATAGCGAGGCCCTGTCTGTGGTGTCCGAGTATGAGGCTGGAATGACCCTGGGCGAGA
 AGTTCAGAGTGGGCAACTGCAAGCACCTGAAGATGACCCGGCCTACCGAGTACAACCAGAACTG
 CAAGTGAACCAGTTCAGCGAGAGCAAGCGGACCGCTCTGACCCACAACCAGGACTTCAGCATCTA
 CCGGCTGTGCTGCAAGAGGGGCTCTCTGTGTCATGCTAGCCAGGCTAGAAGCCCCGCTTTCCTAA
 GCCTGTACAGACCTCTGCCTGCTCCTATCACCAGAATCACCCCTCAGCTCGGCGGCCAGTCTGATTCA
 TCTCAGCCACTGCTGACCACCGGCAGACCTCAAGGATGGCAAGACCAGGCTCTGAGACACACACA
 GCAGGCTAGCCCAGCCTCTTGCGCCACCATCACAAATACCAATACATTCTGCCGCTCTGGGCGATCA
 CAGCGGAGATCCTGGACCTGCCTGGGATACTTGTCTCCTCTGCCCTAACTACACTGATCCCTAGG
 GCTCCTCCACCTTACGGCGATAGCACAGCCAGATCCTGGCCTAGCAGATGTGGCCCTCTGGGCTAC
 GCCTACAAGGACTTCTGTGGTGTCTCCCCTTCTCTCTGGTGTCTCTGCAAGAAATCCAGATCTGCT
 GTCACGTGTCTGCCTGTGCTGTATCTGCTGTAGCACCCGGATCTGTCTGGGCTGTCTGCTGGAAT
 GTTCTGAGCAGAGCCCTGAGAGCACTGCACGTGCTGTGGAACGGATTCCAGCTGCACTGCCAGGG
 CAACACCACACTGCAACAGCTGGGAGAAGCCTCTCAGGCCCAAGCGTTCTCTGATCCCTCTCAG
 ACTGCCCTCTGTGGGAAGTGGGGCAATTCTAAGATGGCTCTCAACAGCCTCAACTCCATCGA
 CAGCCCCAGCTGACAAGAATCGCCCTCCAAGAAGCCACTGTTGCTTTTGGGAAGTGAACGCCCC
 TTTTGTGCAGGGTAAAGATTGGGGCCTCAAAAAGTTTATCAGACGGGACTTCGAGGCTTCCAGAG
 AGCAGCTGGCGAAGGCGGACCTGGCAGAGGTGGTGTAGAAGAGGTGCTAGAGTGTGCGAGAGCC
 CATTCTGTAGAGCTGGCGCTGGCGAATGGCTGGGCCACCAATCTCTTAGATGGGGAATGGAATGG
 CCGTAGCAGGCGGTTTAGCTGGGATCATCATTCTGCCGGCGGACCTCCAAGAGTGCCAAGCGTTA
 GAAGCGGAGCAGCCAGGTCCAGCCTAAAGATCCACTGCCACTGAGAACAAGTGGCCGGCTGCCTT
 GCCAGAACAGCTCATCTTAGACCTGGCGCCGAAAGCCTGCCTCAACCTCAGCTGCATTGCACAATC
 GCCAGAGAACTGCACCAGTTCGCCTTCGACCTGCTGATCAAGAGCCACAAGATGCACTTCTCACTG
 AAAGAGCACCCGCCACCGCCGTGCCACCGCACGTTGTGCGCTATGGCCACCTGGATACAAGCGGC
 TCCTCTAGCAGTAGCTCCTGGCCTCAGCCTGACAGCTTTGCTGCCCTGCATAGCTCCCTGAATGAGC
 TGGGCGAACTGTGGTTCAGTCCAGCGAACTGTCTCCTACTGGCGCTCCATGGCCAAGCAGAAGGC
 CTACTTGGAGAGGCACCACCGTGTCTCCAAGAACCCTACAAGCAGCGCCAGAACCCTGTTGCGGCA
 CAAAATGGCCCTCCAGCCAAGAAGCTGCCCTCGGACTTGGAAAGCGGACTGCTGAGATTACAGCTGTG
 GCACAGCCGCCATCAGAAGCCATCACCATCACCACCATTAGTAAAGGCGCGCC

Аминокислотная последовательность дополнительных пяти схем расположения неоантигенов для экспрессии GAd20 приведена в SEQ ID NO: 554, 555, 556, 623 и 624.

SEQ ID NO: 554

MGQKEQIHTLQKNSERMSKQLTRSSQAVQNLQNGGSRSSATLPGRRRRRWLRRRRQPISVAPA
 GPPRRPNQKPNPPGGARCVIMRPTWPGTSAFTKRSFAVTERIILVLGVLSGHSRSLYEAGMTLGGKILF
 FLFLLPLSPFLIFTEISCTLSSEENEYLPRPEWQLQVPFRELKNVSVLEGLRQGRLLGGPSCSCHCPRPSQ
 ARLTPVDVAGPFLCLGDPGLFPPVKSSITGGKSTCSAPGPQSLPSTPFSTYPQWVILITELGMECTLGQVG
 APSPREEDGWRGGHSRKFADVPAPQGPCWGGQPGSAPSSAPPEQSLDDYWAQKEKGSSSFLRPSCD
 YWAQKEKISIPRTHLCWKFEMS YTVGGPPPHVHARPRHWKTDVRGVPGDSTRRAVRRMNTFYEAGMTL
 GEKFRVGNCKHLKMRPNKMLNSEALS SVSEGCASACDVS LIAMDSAFVQKLDWGVKFFIRDFY
 AYKDFLWCFPSL VFLQEIQCCHVSLCCICSTRICLGLLELFLSRALRALHVLWNGFQLHCQTEYN
 QKLQVNQFSESKSLYHREKQLIAMDSAICEERGAAGSLISCETMPAILKLQKNCLLSLRTALHQNDFSI
 YRLCCKRGLS LCHASQARSPAFPKPVRPLPAPITRITPQLGGQSDSSQPLLTTGRPQGWQDQALRHTQQAS
 PASCATITIPHSALGDHSGDPGPAWDTCPPLPLTTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCGPLGDGHSYTSKV

NCLLLQDGFHGCVSITGAAGRRNLSIFLFLMLCKLEFHACKIQNKNCPDFKKFDGPCGERGGGRTARAL
WARGDSVLTALDPQTPVRAPSLTRAAA VHYKLIQQPISLFSITDRLHKTFSQLPSVHLC SITFQWGHPP
IFCSTNDICVTANFCISVTF LKPCFLLHEASASQCHLFLQPQVGT PPPHTASARAPSGPPHPHESCPAGRRP
ARAAQTCARRQHGLPGCEEAGTARVPSLHLHLHQAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRGVLRFLDLKVR
YLHSQWQHYHRSGEAAGTPLWRPTRNVFPRELKNQRTAQGAPGIHHAASPVAANLCDPARHAQHTRI
PCGAGQVRAGRGP EAGGGVLPQRPAPPEKPGPCRRGQPR LHTVKMWR AVAMMVPDRQVHYDFGL
GNTTLQQLGEASQAPSGSLIPLRLPLLWEVRGQPD SFAALHSSLNELGEIARELHQFAFDLLIKSHFVQG
KDWGLKKFIRRD FWMELAAARRFSDHHSAGGPPRVPSVRS GAAQVQPKDPLPLR TLAGCLARTAH
LRPGAESLPQPQLHCTLWFQSSSELPTGAPWPSRRPTWRGTTVSPRTATSSARTCCG TKWPSSQE AALG
LGSGLLRFSCGTAAIRKMHFSLKEHPPPPCPPEAFQRAAGEGGPGRGGARRGARVLQSPFCRAGAGEWL
GHQSLRHVVGYGHLDTSGSSSSSSWPNSKMALNSLNSIDDAQLTRIAPPRSHCCFWEVNAP

SEQ ID NO: 555

MGQKEQIHTLQKNSERM SKQLTRSSQAVQN LQNGGSRSSATLPGRRRRRWLR RRRRQPISVAPA
GPPRRPNQKPNPPGGARCVIMRPTWPGTSAFTKR SFAVTERIITEIS CCTLSSEENEYLPRPEWQLQYEAG
MTLGGKILFFL FLLLPLSPFSLIFDYWAQKEKGSSSFLR PSCVPFRELKNVSVLEGLRQGR LGGPCSCHCP
RPSQARLTPVDVAGPFLCLGDPGLFPPVKSSITGGK STCSAPGPQSLPSTPFSTYPQWVILITELGMECTL
GQVGAPSPRREEDGWRGGHSR FKADVAPQGPCWGGQPGSAPSSAPPEQSLDDYWAQKEKISIPRTH
LCLVLGVLSGHSGSRLWKFEMSYTVGGPPPHV HARPRHWKTDRDGHSYTSKVNCLLLQDGFHGCVSIT
GAAGRRNLSIFLFLMLCKLEFHACKIQNKNCPDFKKFDGPCGERGGGRTARALWARGDSVLTALDPQ
TPVRAPSLTRAAA VHYKLIQQPISLFSITDRLHKTFSQLPSVHLC SITFQWGHPPIFCSTNDICVTANFCIS
VTF LKPCFLLHEASASQCHLFLQPQVGT PPPHTASARAPSGPPHPHESCPAGRRPARAAQTCARRQHGLP
GCEEAGTARVPSLHLHLHQAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRGVLRFLDLKVRYLHSQWQHYHRSGE
AAGTPLWRPTRNVFPRELKNQRTAQGAPGIHHAASPVAANLCDPARHAQHTRIPCGAGQVRAGRGP EA
GGVLPQRPAPPEKPGPCRRGQPR LHTVKMWR AVAMMVPDRQVHYDFGLGVPGDSTRRAVRRMN
TFYEAGMTLGEKFRVGNCKH LKMTRPNSKMALNSEALS VVSECGASACDVSLIAMDSAFVQ GKDWG
VKKFIRRD FYAYKDFLWCFPFLVFLQEIQICCHV SCLCCICCCSTRICLGCLLEFLSRALRALHVLWNGF
QLHCQTEYNQKLQVNQFSESKSLYHREKQLIAMDSAICEERGAAGSLISCETMPAILKLQKNCLLSLRTA
LTHNQDFSIYRLCCKRGS LCHASQARSPAFPKPVRPLPAPITRITPQLGGQSDSSQPLTTGRPQGWQDQ
ALRHTQQASPASCATITIP IHSAAALGDHSGDPGPAWDTCPPLPLTTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCGPLG
GNTTLQQLGEASQAPSGSLIPLRLPLLWEVRGQPD SFAALHSSLNELGEIARELHQFAFDLLIKSHFVQG
KDWGLKKFIRRD FWMELAAARRFSDHHSAGGPPRVPSVRS GAAQVQPKDPLPLR TLAGCLARTAH
LRPGAESLPQPQLHCTLWFQSSSELPTGAPWPSRRPTWRGTTVSPRTATSSARTCCG TKWPSSQE AALG
LGSGLLRFSCGTAAIRKMHFSLKEHPPPPCPPEAFQRAAGEGGPGRGGARRGARVLQSPFCRAGAGEWL
GHQSLRHVVGYGHLDTSGSSSSSSWPNSKMALNSLNSIDDAQLTRIAPPRSHCCFWEVNAP

SEQ ID NO: 556

MGQKEQIHTLQKNSERM SKQLTRSSQAVQN LQNGGSRSSATLPGRRRRRWLR RRRRQPISVAPA
GPPRRPNQKPNPPGGARCVIMRPTWPGTSAFTKR SFAVTERIIDYWAQKEKGSSSFLR PSCVPFRELKNV
SVLEGLRQGR LGGPCSCHCPRPSQARLTPVDVAGPFLCLGDPGLFPPVKSSILVLGVLSGHSGSRLYEAG
MTLGGKILFFL FLLLPLSPFSLIFTEIS CCTLSSEENEYLPRPEWQLQTGGKSTCSAPGPQSLPSTPFSTYPQ
WVILITELGMECTLGQVGAPSPRREEDGWRGGHSR FKADVAPQGPCWGGQPGSAPSSAPPEQSLDD
YWAQKEKISIPRTHLCWKFEMSYTVGGPPPHV HARPRHWKTDRDGHSYTSKVNCLLLQDGFHGCVSIT
GAAGRRNLSIFLFLMLCKLEFHACKIQNKNCPDFKKFDGPCGERGGGRTARALWARGDSVLTALDPQ
TPVRAPSLTRAAA VHYKLIQQPISLFSITDRLHKTFSQLPSVHLC SITFQWGHPPIFCSTNDICVTANFCIS
VTF LKPCFLLHEASASQCHLFLQPQVGT PPPHTASARAPSGPPHPHESCPAGRRPARAAQTCARRQHGLP
GCEEAGTARVPSLHLHLHQAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRGVLRFLDLKVRYLHSQWQHYHRSGE
AAGTPLWRPTRNVFPRELKNQRTAQGAPGIHHAASPVAANLCDPARHAQHTRIPCGAGQVRAGRGP EA
GGVLPQRPAPPEKPGPCRRGQPR LHTVKMWR AVAMMVPDRQVHYDFGLGVPGDSTRRAVRRMN
TFYEAGMTLGEKFRVGNCKH LKMTRPNSKMALNSEALS VVSECGASACDVSLIAMDSAFVQ GKDWG
VKKFIRRD FYAYKDFLWCFPFLVFLQEIQICCHV SCLCCICCCSTRICLGCLLEFLSRALRALHVLWNGF
QLHCQTEYNQKLQVNQFSESKSLYHREKQLIAMDSAICEERGAAGSLISCETMPAILKLQKNCLLSLRTA
LTHNQDFSIYRLCCKRGS LCHASQARSPAFPKPVRPLPAPITRITPQLGGQSDSSQPLTTGRPQGWQDQ
ALRHTQQASPASCATITIP IHSAAALGDHSGDPGPAWDTCPPLPLTTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCGPLG
GNTTLQQLGEASQAPSGSLIPLRLPLLWEVRGQPD SFAALHSSLNELGEIARELHQFAFDLLIKSHFVQG
KDWGLKKFIRRD FWMELAAARRFSDHHSAGGPPRVPSVRS GAAQVQPKDPLPLR TLAGCLARTAH
LRPGAESLPQPQLHCTLWFQSSSELPTGAPWPSRRPTWRGTTVSPRTATSSARTCCG TKWPSSQE AALG
LGSGLLRFSCGTAAIRKMHFSLKEHPPPPCPPEAFQRAAGEGGPGRGGARRGARVLQSPFCRAGAGEWL
GHQSLRHVVGYGHLDTSGSSSSSSWPNSKMALNSLNSIDDAQLTRIAPPRSHCCFWEVNAP

SEQ ID NO: 623

MGQKEQIHTLQKNSERM SKQLTRSSQAVGVP GDSTRRAVRRMNTFYEAGMTLGEKFRVGNCKH
LKMTRPNSKMALNSEALS VVSECGASACDVSLIAMDSAFVQ GKDWGVKKFIRRD FYAYKDFLWCFPF
SLVFLQEIQICCHV SCLCCICCCSTRICLGCLLEFLSRALRALHVLWNGFQLHCQTEYNQKLQVNQFSES
KSLYHREKQLIAMDSAICEERGAAGSLISCETMPAILKLQKNCLLSLRTALTHNQDFSIYRLCCKRGS L

HASQARSPAFPKPVRPLPAPITRITPQLGGQSDSSQPLLTTGRPQGWQDQALRHTQQASPASCATITIPHS
 AALGDHSGDPGPAWDTCPPLPLTTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCGPLGGNTTLQQLGEASQAPSGSLIP
 LRLPLLWEVRGQPDFAALHSSLNELGEIARELHQFAFDLLIKSHFVQGKDWGLKKFIRRFDFWGMELAA
 SRRFSWDHHSAGPPRVPVSVRSAAAQVQPKDPLPLRTLALGCLARTAHLRPGAESLPQQLHCTLWFQSS
 ELSPTGAPWPSRRPTWRGTTVSPRTATSSARTCCGTKWPSSQEAALGLGSGLLRFSCGTAIRKMHFSL
 KEHPPPPCPEAFQRAAGEGGPGRRGARRGARVLQSPFCRAGAGEWLGHQSLRHVVGYGHLDTSGSSS
 SSSWPNSKMALNSLNSIDDAQLTRIAPPRSHCCFWEVNAAPDGHSYTSKVNCLLLQDGFHGCVSITGAAG
 RRNLSIFLFLMLCKLEFHACKIQNKNCDFKFKFDGPGCGERGGGRTARALWARGDSVLTALDPQTPVR
 APSLTRA AAAAVHYKLIQQPISLFSITDRLHKTFSQLPSVHLCSITFQWGHPPIFCSTNDICVTANFCISVTF
 KPCFLLHEASASQCHLFLQPQVGTTPPHTASARAPSGPPHPHESCPAGRRPARAAQTCARRQHGLPGCE
 EAGTARVPSLHLHLHQAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRGVLRFLDLKVRYLHSQWQHYHRSGEAAG
 TPLWRPRTNRVFPRELKNQRTAQGAPGIHHAASVVAANLDCPARHAQHTRIPCGAGQVRAGRPEAGGG
 VLQPPQRPAPKPGCPCRRGQPRLHTVKMWRAVAMMVPDRQVHYDFGLQNLQNGGSSRSTALPGRR
 RRRRWRRRRQPIVAPAGPPRRPNQKPNPPGGARCVMRPTWPGTSAFTKRSFAVTERIILVLGVLSGHS
 GSRLYEAGMTLGGKILFFLFLLLPLSPFSLIFTEISCTLSSEENEYLPRPEWQLQVPFRELKNVSVLEGLR
 QGRLGGPCSCHCPRPSQARLTPVDVAGPFLCLGDPGLFPPVKSSITGGKSTCSAPGPQSLPSTPFSTYPQW
 VILITELGMECTLGQVQVAPSPRREEDGWRGGHSRFAKADVPAPQGPCWGGQPGSAPSSAPPEQSLLDDY
 WAQKEKGS SFLRPSCDYWAQKEKISIPRTHLCLWKFEMS YTVGGPPPHVHARPRHWKTDR

SEQ ID NO: 624

MGQKEQIHTLQKNSERMASKQLTRSSQAVGNTTLQQLGEASQAPSGSLIPLRLPLLWEVRGQPDFA
 AALHSSLNELGEIARELHQFAFDLLIKSHFVQGKDWGLKKFIRRFDFWGMELAA SRRFSWDHHSAGPP
 RVPSVRSAAAQVQPKDPLPLRTLALGCLARTAHLRPGAESLPQQLHCTLWFQSS ELSPTGAPWPSRRPT
 WRGTTVSPRTATSSARTCCGTKWPSSQEAALGLGSGLLRFSCGTAIRKMHFSLKEHPPPPCPEAFQ
 AAGEGGPGRRGARRGARVLQSPFCRAGAGEWLGHQSLRHVVGYGHLDTSGSSSSSSWPNSKMALNSL
 NSIDDAQLTRIAPPRSHCCFWEVNAAPGVPGDSTRRAVRRMNTFYEAGMTLGEKFRVGNCKHLKMTRP
 NSKMALNSEALSVVSECGASACDVSLIAMDSAFVQGKDWGVKKFIRRFDFYAYKDFLWCFPFSLVFLQE
 IQICCHVSCLCCICSTRICLGCLLELFLSRALRALHVLWNGFQLHCQTEYNQKLQVNQFSESKSLYHRE
 KQLIAMDSAICEERGAAGSLISCETMPAILKLQKNCLLSLRTALHQNQDFSIYRLCCKRGS LCHASQARS
 PAFPKPVRPLPAPITRITPQLGGQSDSSQPLLTTGRPQGWQDQALRHTQQASPASCATITIPHS AALGDH
 SGDPGPAWDTCPPLPLTTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCGPLGDGHSYTSKVNCLLLQDGFHGCVSITGA
 AGRNLSIFLFLMLCKLEFHACKIQNKNCDFKFKFDGPGCGERGGGRTARALWARGDSVLTALDPQTP
 VRAPSLTRA AAAAVHYKLIQQPISLFSITDRLHKTFSQLPSVHLCSITFQWGHPPIFCSTNDICVTANFCISV
 TFLKPCFLLHEASASQCHLFLQPQVGTTPPHTASARAPSGPPHPHESCPAGRRPARAAQTCARRQHGLPG
 CEEAGTARVPSLHLHLHQAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRGVLRFLDLKVRYLHSQWQHYHRSGEA
 AGTPLWRPRTNRVFPRELKNQRTAQGAPGIHHAASVVAANLDCPARHAQHTRIPCGAGQVRAGRPEAG
 GGVLQPPQRPAPKPGCPCRRGQPRLHTVKMWRAVAMMVPDRQVHYDFGLQNLQNGGSSRSTALPG
 RRRRWRRRRQPIVAPAGPPRRPNQKPNPPGGARCVMRPTWPGTSAFTKRSFAVTERIITEISCTLS
 SEENEYLPRPEWQLQYEAGMTLGGKILFFLFLLLPLSPFSLIFDYWAQKEKGS SFLRPSCVPFRELKNV
 VLEGLRQGRLGGPCSCHCPRPSQARLTPVDVAGPFLCLGDPGLFPPVKSSITGGKSTCSAPGPQSLPSTPF
 STYPQWVILITELGMECTLGQVQVAPSPRREEDGWRGGHSRFAKADVPAPQGPCWGGQPGSAPSSAPPEQS
 LLDDYWAQKEKISIPRTHLCLVLGVLSGHS GSRLWKFEMS YTVGGPPPHVHARPRHWKTDR

Аминокислотная последовательность дополнительных пяти схем неоантигенов для экспрессии
 MVA представлена в SEQ ID NO: 557, 558, 559, 625 и 626.

SEQ ID NO: 557

MGQKEQIHTLQKNSERMASKQLTRSSQAVQNLQNGGSSRSTALPGRRRRRWRRRRQPIVAPA
 GPPRRPNQKPNPPGGARCVMRPTWPGTSAFTGMECTLGQVQVAPSPRREEDGWRGGHSRFAKADVPAPQ
 GPCWGGQPGSAPSSAPPEQSLLDDYWAQKEKISIPRTHLCLWKFEMS YTVGGPPPHVHARPRHWKTDRD
 YWAQKEKGS SFLRPSCVPFRELKNVSVLEGLRQGRLGGPCSCHCPRPSQARLTPVDVAGPFLCLGDPG
 LFPVKSSITEISCTLSSEENEYLPRPEWQLQYEAGMTLGGKILFFLFLLLPLSPFSLIFLVLGVLSGHS
 RLKRSFAVTERIITGGKSTCSAPGPQSLPSTPFSTYPQWVILITELDGHSYTSKVNCLLLQDGFHGCVSITG
 AAGRNLSIFLFLMLCKLEFHACCHLFLQPQVGTTPPHTASARAPSGPPHPHESCPAGRRPARAAQTCAR
 RQHGLPGCEEAGTARVPSLHLHLHQAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRGHYKLIQQPISLFSITDRLHKT
 FSQLPSVHLCSITFQWGHPPIFCSTNDICVTANFCISVTFKPCFLLHEASASQVAMMVPDRQVHYDFGL
 KIQNKNCDFVLRFLDLKVRYLHSVVPFRELKNQRTAQGAPGIHHAASVVAANLDCPARHAQHTRIPCGA
 GQVRAGRPEAGGGVLQPPQRPAPKPGCPCRRGQPRLHTVKMWRAQWQHYHRSGEAAGTPLWRPRT
 NFKKFDGPGCGERGGGRTARALWARGDSVLTALDPQTPVRAPSLTRA AAAAVGVPGDSTRRAVRRMNT
 FCGASACDVSLIAMDSACEERGAAGSLISCESLYHREKQLIAMDSAIFVQGKDWGVKKFIRRDFTMPAI
 LKLNCLLSLNSKMALNSEALSVSEYEAAGMTLGEKFRVGNCKHLKMTRPTEYNQKLQVNQFSESK
 RTALHQNQDFSIYRLCCKRGS LCHASQARS PAFPKPVRPLPAPITRITPQLGGQSDSSQPLLTTGRPQGWQ
 DQALRHTQQASPASCATITIPHS AALGDHSGDPGPAWDTCPPLPLTTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCGP
 LGYAYKDFLWCFPFSLVFLQEIQCCHVSCLCCICSTRICLGCLLELFLSRALRALHVLWNGFQLHCQ
 NNTLQQLGEASQAPSGSLIPLRLPLLWEVRGNSKMALNSLNSIDDAQLTRIAPPRSHCCFWEVNA PFVQ

GKDWGLKKFIRRDFAFQRAAGEGGPGRGGARRGARVLQSPFCRAGAGEWLGHQSLRWGMELAASR
RFSWDHHSAGGPPRVPSVRSAAQVQPKDPLPLRRTLAGCLARTAHLRPGAESLPQQLHCTIARELHQF
AFDLLIKSHKMHFSLKEHPPPPCPPHVVGYGHLDTSGSSSSSSWPQPSFAALHSSLNELGELWFQSSSEL
SPTGAPWPSRRPTWRGTTVSPRTATSSARTCCGTKWPSSQEAALGLGSGLLRFSCGTAAIR

SEQ ID NO: 558

MGQKEQIHTLQKNSERMASKQLTRSSQAVDGHYSYTSKVNCLLLQDGFHGCVSITGAAGRNLISIFL
FLMLCKLEFHACQWQHYHRSGEAAGTPLWRPTRNVAMMVPDRQVHYDFGLVLRFLDLKVRYLHSKI
QNKNCDPVPFRELKNQRTAQGAPGIHHAASPVAANLCDPARHAQHTRIPCGAGQVRAGRGEAGGGV
LQPQRPAPEKPGPCRRGQPRRLHTVKMWRACHLFLQPVGTTPPHTASARAPSGPPHPHESCPAGRRPA
RAAQTCARRQHGLPGCEEAGTARVPSLHLHLHQAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRGHYKLIQQPISLF
SITDRLHKTFSQLPSVHLCSITFQWGHPPFCSTNDICVTANFCISVTLKPCFLLHEASASQFKKFDGPGC
ERGGRTARALWARGDSVLTALDPQTPVRAPSLTRAAAQVQNLQNGGSRSSATLPGRRRRRWRRLR
RRQPISVAPAGPPRRPNQKPNPPGGARCVIMRPTWPGTSAFTGMECTLGQVVGAPSPREEDGWRGHS
RFKADVPAPQGPCWGGQPGSAPSSAPPEQSLDDYWAQKEKISIPRTHLCWKFEMSYTVGGPPPHVHA
RPRHWKTDRDYWAQKEKGSSSFLRPSVFPRELKNVSVLEGLRQGRGGPCSCHCPRPSQARLTPVDV
AGPFLCLGDPGLFPPVKSSITEISCTLSSEENEYLPRPEWQLQYEAGMTLGGKILFFLFLLLPLSPFSLIFL
VLGVLSGHSRSLKRSFAVTERIITGGKSTCSAPGPQSLPSTPFSTYPQWVILITELGVPDSTRRAVRRM
NTFCGASACDVSLIAMDSACEERGAAGSLISCESLYHREKQLIAMDSAIFVQKDWGVKKFIRRDFTMP
AILKLQKNCLLSLNSKMALNSEALSVVSEYEAGMTLGEKFRVGNCKHLKMTRPTEYNQKLQVNQFSES
KRTALTHNQDFSIYRLCCKRGSLSCHASQARSPAFPKPVRPLPAPITRITPQLGGQSDSSQPLTTGRPQGW
QDQALRHTQQASPASCATITIPHSAALGDHSGDPGPAWDTCPPLPLTTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCG
PLGYAYKDFLWCFPFLVFLQEIQCCHVSLCCICSTRICLGCLELFLSRALRALHVLWNGFQLHCQ
GNTTLQQLGEASQAPSGSLIPLRLPLLWEVRGNSKMALNSLNSIDDAQLTRIAPPRSHCCFWEVNAPFV
QKDWGLKKFIRRDFAFQRAAGEGGPGRGGARRGARVLQSPFCRAGAGEWLGHQSLRWGMELAAS
RRFSWDHHSAGGPPRVPSVRSAAQVQPKDPLPLRRTLAGCLARTAHLRPGAESLPQQLHCTIARELHQ
FAFDLLIKSHKMHFSLKEHPPPPCPPHVVGYGHLDTSGSSSSSSWPQPSFAALHSSLNELGELWFQSSSE
LSPTGAPWPSRRPTWRGTTVSPRTATSSARTCCGTKWPSSQEAALGLGSGLLRFSCGTAAIR

SEQ ID NO: 559

MGQKEQIHTLQKNSERMASKQLTRSSQAVGNTTLQQLGEASQAPSGSLIPLRLPLLWEVRGNSKMA
LNSLNSIDDAQLTRIAPPRSHCCFWEVNAPFVQKDWGLKKFIRRDFAFQRAAGEGGPGRGGARRGA
RVLQSPFCRAGAGEWLGHQSLRWGMELAASRRFSWDHHSAGGPPRVPSVRSAAQVQPKDPLPLRRTL
AGCLARTAHLRPGAESLPQQLHCTIARELHQF AFDLLIKSHKMHFSLKEHPPPPCPPHVVGYGHLDTSG
SSSSSSWPQPSFAALHSSLNELGELWFQSSSELSPGAPWPSRRPTWRGTTVSPRTATSSARTCCGTKWP
SSQEAALGLGSGLLRFSCGTAAIRDGHYSYTSKVNCLLLQDGFHGCVSITGAAGRNLISIFLFLMLCKLEF
HACQWQHYHRSGEAAGTPLWRPTRNVAMMVPDRQVHYDFGLKIQNKPCDVLRFDLKVRYLHVSF
FRELKNQRTAQGAPGIHHAASPVAANLCDPARHAQHTRIPCGAGQVRAGRGEAGGGVLPQRPAPEK
PGPCRRGQPRRLHTVKMWRACHLFLQPVGTTPPHTASARAPSGPPHPHESCPAGRRPARAAQTCARR
QHGLPGCEEAGTARVPSLHLHLHQAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRGHYKLIQQPISLFSITDRLHKT
SQLPSVHLCSITFQWGHPPFCSTNDICVTANFCISVTLKPCFLLHEASASQFKKFDGPGCGERGGRTAR
ALWARGDSVLTALDPQTPVRAPSLTRAAAQVGVPGDSTRRAVRRMNTFCGASACDVSLIAMDSATE
YNQKLQVNQFSESKYEAGMTLGEKFRVGNCKHLKMTRPTMPAILKLQKNCLLSLNSKMALNSEALSV
VSECEERGAAGSLISCESLYHREKQLIAMDSAIFVQKDWGVKKFIRRDFTALTHNQDFSIYRLCCKR
GSLCHASQARSPAFPKPVRPLPAPITRITPQLGGQSDSSQPLTTGRPQGWQDQALRHTQQASPASCATIT
IPIHSAALGDHSGDPGPAWDTCPPLPLTTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCGPLGYAYKDFLWCFPFLVFL
QEIQCCHVSLCCICSTRICLGCLELFLSRALRALHVLWNGFQLHCQQLNNGGSRSSATLPGRRR
RRWLRRRRQPISVAPAGPPRRPNQKPNPPGGARCVIMRPTWPGTSAFTGMECTLGQVVGAPSPREEDG
WRGGHSRFKADVPAPQGPCWGGQPGSAPSSAPPEQSLDDYWAQKEKISIPRTHLCWKFEMSYTVGGP
PPHVHARPRHWKTDRDYWAQKEKGSSSFLRPSVFPRELKNVSVLEGLRQGRGGPCSCHCPRPSQAR
LTPVDVAGPFLCLGDPGLFPPVKSSITEISCTLSSEENEYLPRPEWQLQYEAGMTLGGKILFFLFLLLPLS
PFLIFLVLGVLSGHSRSLKRSFAVTERIITGGKSTCSAPGPQSLPSTPFSTYPQWVILITEL

SEQ ID NO: 625

MGQKEQIHTLQKNSERMASKQLTRSSQAVGNTTLQQLGEASQAPSGSLIPLRLPLLWEVRGNSKMA
LNSLNSIDDAQLTRIAPPRSHCCFWEVNAPFVQKDWGLKKFIRRDFAFQRAAGEGGPGRGGARRGA
RVLQSPFCRAGAGEWLGHQSLRWGMELAASRRFSWDHHSAGGPPRVPSVRSAAQVQPKDPLPLRRTL
AGCLARTAHLRPGAESLPQQLHCTIARELHQF AFDLLIKSHKMHFSLKEHPPPPCPPHVVGYGHLDTSG
SSSSSSWPQPSFAALHSSLNELGELWFQSSSELSPGAPWPSRRPTWRGTTVSPRTATSSARTCCGTKWP
SSQEAALGLGSGLLRFSCGTAAIRQNLQNGGSRSSATLPGRRRRRWRRLRRRQPISVAPAGPPRRPNQK
PNPPGGARCVIMRPTWPGTSAFTGMECTLGQVVGAPSPREEDGWRGGHSRFKADVPAPQGPCWGGQ
GSAPSSAPPEQSLDDYWAQKEKISIPRTHLCWKFEMSYTVGGPPPHVHARPRHWKTDRDYWAQKEK
GSSSFLRPSVFPRELKNVSVLEGLRQGRGGPCSCHCPRPSQARLTPVDVAGPFLCLGDPGLFPPVKSSI
TEISCTLSSEENEYLPRPEWQLQYEAGMTLGGKILFFLFLLLPLSPFSLIFLVLGVLSGHSRSLKRSFAV
TERIITGGKSTCSAPGPQSLPSTPFSTYPQWVILITELDGHYSYTSKVNCLLLQDGFHGCVSITGAAGRNL

SIFLFLMLCKLEFHACQWQHYHRSGEAAGTPLWRPTRNVAMMVPDRQVHYDFGLVLRFLDLKVRYLH
 SKIQNKNCDPVPFRELKNQRTAQGAPGIHHAASPVAAANLCDPARHAQHTRIPCGAGQVRAGRGP
 GVLQQRPAPEKPGPCRRGQPRLLHTVKMWRAHLFLQPQVGTTPPHTASARAPSGPPHPHESCPAGR
 RPARAAQTCARRQHGLPGCEEAGTARVPSLHLHLHQAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRGHYKLIQQP
 ISLFSITDRLHKTFSQLPSVHLCSITFQWGHPIFCSTNDICVTANFCISVTFKPCFLLHEASASQFKKFDG
 PCGERGGRTARALWARGDSVLTALDPQTPVRAPSLTRAAA AVGVPDSTRRAVRRMNTFCGASAC
 DVSLIAMDSACEERGAAGSLISCESLYHREKQLIAMDSAIFVQGKDWGVKKFIRRDFTMPAILKLQKNC
 LLSLNSKMALNSEALSVVSEYEAGMTLGEKFRVGNCKHLKMTRPTEYNQKLQVNQFSESKRTALTHN
 QDFSIYRLCCKRGSLSCHASQARSPAFPKPVRPLPAPITRITPQLGGQSDSSQPLTTGRPQGWQDQALRH
 TQQASPASCATITIPHSALGDHSGDPGPAWDTCPPLPLTTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCGPLGYAYK
 DFLWCFPFSLVFLQEIQCCHVSCLCCICSTRICLGCLELFLSRALRALHVLWNGFQLHCQ

SEQ ID NO: 626

MGQKEQIHTLQKNSERMSKQLTRSSQAVDGHYSYTSKVNCLLLQDGFHGCVSITGAAGRNLISIFL
 FLMLCKLEFHACVFPFRELKNQRTAQGAPGIHHAASPVAAANLCDPARHAQHTRIPCGAGQVRAGRGP
 GGGVLPQRPAPEKPGPCRRGQPRLLHTVKMWRQWQHYHRSGEAAGTPLWRPTRNKIQNKNCDPV
 AMMVPDRQVHYDFGLVLRFLDLKVRYLHSHLFLQPQVGTTPPHTASARAPSGPPHPHESCPAGRRA
 RAAQTCARRQHGLPGCEEAGTARVPSLHLHLHQAALGAGRGRGWGEACAQVPPSRGHYKLIQQPISL
 SITDRLHKTFSQLPSVHLCSITFQWGHPIFCSTNDICVTANFCISVTFKPCFLLHEASASQFKKFDG
 ERGGRTARALWARGDSVLTALDPQTPVRAPSLTRAAA AVQNLQNGGSRSSATLPRRRRRWLRR
 RRQPIVAPAGPPRRPNQKPNPPGGARCVIMRPTWPGTSAFTGMECTLGQVGPSPRREEDGWRGGHS
 RFKADVPAPQGPCWGGQPGSAPSSAPPEQSLDDYWAQKEKISIPRTHLCWKFEMSIVGGPPPHVHA
 RPRHWKTDRDYWAQKEKGSSSFLRPSVFPFRELKNVSVLEGLRQGRLLGGPCSCHCPRPSQARLTPVDV
 AGPFLCLGDPGLFPVVKSSITEISCTLSSEENEYLPRPEWQLQYEAGMTLGGKILFFLLPLSPFSLIFL
 VLGVLGSHSGSRLKRSFAVTERIITGGKSTCSAPGPQSLPSTPFSTYPQWVILITELGNTTLQQLGEASQAP
 SGSLIPLRLLWEVRGNSKMALNSLNSIDDAQLTRIAPRSHCCFWEVNAPFVQGKDWGLKKFIRRD
 EAFQRAAGEGGPGRGGARRGARVLQSPFCRAGAGEWLGHQSLRWGMELAAARRFSWDHHSAGGPPR
 VPSVRSAAAQVQPKDPLRLTAGCLARTAHLRPGAESLPQQLHCTIARELHQAFDILLIKSHKMHFSL
 KEHPPPPCPPHVGYGHLDTSGSSSSSSWPQDSFAALHSSLNELGELWFQSSSELSPTGAPWPSRRPTWR
 GTTVSPRTATSSARTCCGKWPSSQEAALGLGSGLLRFSCGTA AIRGVPDSTRRAVRRMNTFCGASAC
 DVSLIAMDSACEERGAAGSLISCESLYHREKQLIAMDSAIFVQGKDWGVKKFIRRDYFYEAGMTLGEKFR
 VGNCKHLKMTRPTMPAILKLQKNCLLSLNSKMALNSEALSVVSETEYNQKLQVNQFSESKRTALTHNQ
 DFSIYRLCCKRGSLSCHASQARSPAFPKPVRPLPAPITRITPQLGGQSDSSQPLTTGRPQGWQDQALRH
 TQQASPASCATITIPHSALGDHSGDPGPAWDTCPPLPLTTLIPRAPPYGDSTARSWPSRCGPLGYAYK
 FLWCFPFSLVFLQEIQCCHVSCLCCICSTRICLGCLELFLSRALRALHVLWNGFQLHCQ

SEQ ID NO: 713. Полинуклеотидная последовательность полной GAd20, включающая в себя экспрессионную кассету GAd20

catcatcaataatataccttatttggattgaggccaatataataatgaggtggcgggggcaggcggggcgggtgacgtaggacgcgcgagtaggggtg
 ggaggtgtagcggaaagtggcatttgcaagtgggaggagctgacatgcaatctccgtcgcggaaatgtgacgttttgatgagcgcgcctactccggaagt
 gcaatttccgcgcctttaccggatctagtagtaatttggcgggaccatgtaagattggcatttccgcgaaagtgaacggggaagtgaactgaata
 ataggcgcttagtcatacgcgtaataatttaccgagggcggaggacttgaccgattacgtggaggactcggccagggtttttacgtaatttccgcgctccgggt
 caaagtctccgtttttattgctgccgtactgacggcggccattgcatagctgtatccatataataatgtacatttattggctcatgtccaacattaccgcatgtt
 gacattgattattgactagttattaatgaatacaattacggggtcattgctatagccatataatggagttccgcgtacataacttacggtaaatggcccgcctgctg
 accgccaacgacccccgccattgacgtcaataatgacgtatgtccatagtaacgcaatagggactttcattgacgtcaatgggtggagattttacggtaaac
 tggccactggcagfacatcaagtgtatcatatgccaagtacccccattgacgtcaatgacggtaaatggcccgcctggcattatgccagfacatgacctatgg
 gacttctacttggcagfacatctacgtattgctacgctattaccatggtatgctgggtttggcagfacatcaatgggcgtgatacgggttactcaggggattt
 ccaagtctccaccattgacgtcaatgggagttgtttggcaccaaaatcaacgggactttcaaatgtcgtacaactcggccattgacgcaaatggcggt
 aggcgtgtagcggtaggtctatataagcagagctctccatcatgtagatgagatctccatcatgtagatagatgacgacgagctggttagtgaccgctcag
 atcgcctggagacgcatccacgctgtttgacctccatagaagacaccgggaccgatccagcctccgcggccgggaacgggtcattggaacgcggattccccg
 gccaagagttagatctccgtttatctaggtaccagatatacagaattcggatcccgacgtccgcatggccagaagagcagatccacacactcagaana
 acagcgagcggatgagcaagcagctgaccagatcttctcagggcgtgcagaacctgcagaacggcggaggctctagaagctctgacacttctcggcaggcg
 gcggagaagatggctgagaagaaggcggcagcctatctgtgctcctgctgacacctagacggccaaccagaagcctaactctcctgaggcagccagat
 gcgtgatcatgaggcctacatggcctggcaccagcgccttaccagaagaagctttgcccgtgaccgagcggatcatcactattggcctcaaaaagagaaggc
 agcagcagcttctcggcctagctgtgattattggccagaagaagaatcagcagatccccagaacacacctgtgcctggtgctggagtgctgctggact
 ctggcagcagactgtatgagggcggcatgacactggcgcaagatcctgttctctgttctgctgctcctctgagccccctcagcctgacttaccgagatca
 gctgctgaccctgagcagcaggaaaacgagtagctgctagacctgagtgagcagctgacggctcccttcagagagctgaagaacgtttccgtgctggaaggc
 ctgagacagggcagacttggcgccctgtgactgctactgcccagacctagtcaggccagactgacacctgtgagtggtggccgaccttctgtgctgggag
 atcctggcctgtttaccctgtgaagtccagcatcacagcggcaagtcacatgttctgccccggacctcagagcctgctagcacaccttcagcacataacctc
 agtgggtacatctgatcaccgaactcggcatggaatgaccctgggacaagtggagccccatctctagaagaagaaggatggctggcgggagggcactct
 agattcaagctgatgtcccgtcctcagggccctgttgggaggacaacctgtagctgccccatctctgccccactgaacagctccctgctgattggaagctc
 agatgagctacaccgtcggcggacctccacctatgttcatgctccagacctggcactggaaaaccgacagagatggccacagctacaccagcaagtgactg
 cctcctgctcagagatggcctccagggctgtgtctattactggcggcctggcagcggaaacctgagcatcttctgtttctgactgctgcaagctcaggtccac
 gcctgcaagatcagaacaagaactgccccgactcaagaagttgacggccctgaggcaagaaggcggaggcagaacagctagagcccttgggctagag

gcgacagcgtttgacaccagctctggaccctcagacacctgftagggccctagcctgacaagagctgccgccctgtgactacaagctgatccagcagccaa
tcagcctgttcagcatcaccgaccgctgcacaagacatcagccagctgccaagcgtgcacctgtgctccatcaccttccagtgaggacacctctatcttttgc
ccaccaacgacatctgctgaccgccaactctgtatcagctgaccttctgaagcctgttctgtgacagagggccagcgctctcagtgccactgtttctgca
gccccaaagtgaggcacacctctccacatacagctctgtagagcacctagcggccctccacatctcacaatctgtctgcccgaagaagcctgccagagc
cgtcaaacatgtgcccagacgacagcagggactgcctggatgtaagagggctggaacagccagagtgccctagcctgcacctccatctgcatcaggctgtcttgg
agccgggaagagtagagtagggggcgaagctgtgctcaggtgccaccttctagagcgtgctgagattcctggacctgaaagtgcctacctgcacagccagt
ggcagcactatcacagatctgcccgaagcggccggaacaccttggagggccaacaagaacgtgccctccgggaactgaaagaaccagagaacagctcagg
gcgctcctggaatccacatgctgcttccagtgcccaccaactgtgtgatctgcagacatgccagcaccagggattccttggcgctggacaagtgcg
cgctggaagagggactgaaagcaggggaggtgttctgcaacctaaaagaccgctcctgagaagcctggctgcccctgcaagaaggacagccttagactgcac
accgtgaaaatgtggcgagccgtggccatgatgtgcccgatagacaggtccactacgactttggactggcgctgccagggcagatgactcggagagccgtcag
acggatgaacacctttacgaaagcgggatgacctggcgagaagttcagagtgggcaactgcaagcactgaaagatgaccggcctaacagcaagatggcc
ctgaatagcagggccctgtctgtgtgctgaatgtggcgccctctgctgtgacgtgtcctgatcgtatggactcgcctttgtgcaaggcaagactggggcgt
gaaagagttcatccggcgggactctacgctacaaggacttctgtgtgcttccccctctctgtgttctgcaagagatccagatctgtctcatgtgtctgct
gtgtgcatctgtgtagaccagaatctgctgggtgtctgtggaactgttctgagcagagccctgagagcactgacgctgtgtggaacggattccagctgc
actgccagaccgagtaacaaccagaactgcaagtgaaacagttcagcgaagcaagagcctgtaccaccgggaaagcagctatggccatggacagcggccat
ctgccaagagagagggccgcaggaatctctgacttctgcaacaatgccgctcctgaaagcctgcaagaagctgcaagaagctgcaagcctctgcaagcctgac
acacaaccaggaacttgcagctctacagactgtgttgaagcggggctccctgtgccatgcaagccaagctagaagccccgcttctaaacctgtgacacctg
ccagctcaatcaccagaattacccctcagctcggcggccagagcattatctcaacctctgctgaccaccggcagacctcaagctggcaagaccaagctctg
agacacaccagcaggctagccctgctctgtgccaccatcacaatccccatccactctgcccctgtggcgatcttggcgatctggaccagcctgggaca
catgtctccactgccaactcacaactgatccctagggctcctccacttaccggcgatttaccgtagaagctggcccagcagatgtggaccactcggagggca
cacaacctccagcaactgggagaagcctctcaggtcctagcggctctgatccctcagactgcctcctgtgggaagttcggggccagcctgattctttgc
cgcactgcacagctccctgaacgagctgggagagatcgtagaagctgcaccagttcgccttcgacctgctgatcaagagccacttctgcaaggcaaggattg
ggcctcaaaaagtttatccgcagagacttctggggcatggaactggccgacgagaagattcagctgggatcatatagcgcagcggcccactagagtg
catctgtagaagcggagctgccaggtgcagcctaaaatgcttccactgagaactggccggctgcttgcctgtagaacagccatcttagacctggcggcga
gtctctgctcagccacaactgactgtacctgtggttccagtcagcagctgtctcctactggtgcccttggccatctagacgcccacttggagagccaccac
cgtgtcacaagaaccgccacaagcagcggcagaacctgtgtggcacaagtggccctccagccaagaagccgctctcggacttggaaagcggactgctgagg
ttctctgtggaaccggccattcggaaagatgactttagcctgaaaagaacacctccaccacttgcctccagaggttccaagagctgtggcgaagcgg
acctgtagaggtgtgctagaagaggtgtaggggtgtgcagagccattctgtagagcagcgcagggcaatggctggccatcagagctgtagacatgtc
tcggctacggccacctggatacaagcgggaagcagctctagctcagctgcccctaaataaaatgctctgaaacgctgaactccatgcagacgcccagctga
caagaatcggccctctagatctcactgctctttgggaagtgaacgccccaaagccatcaccatcaccaccattagtaaagcgcgctagcggccgctgctgt
gtgcttctagttgccagccatctgttggccctccccgctgcttctgacctggaaagtgccactccactgtccttctcaataaaatgaggaattgcatc
cattgtctgagtaggtgtcattcttctggggggtgggggtggggcagggacgaaaggggaggtgggaaagacaatagcagggatgctggggatcggtggg
ctctatggccgggcccgcgactgcgcttaggctgacctgtgtgctgcccagggccgagttgggtctagcagatgagatgaccgattgagtgggtaa
ggtggcgctggtagcaggggtggcggtgtataaattgggggtctaaaggggtctctgttctgtcaacagccgcccagatgagcagaccggcaacagctttg
atggaagcattttagtcctctatgacagctgcgcatgctcactggccggagtgcgctcagaatgtatgaggttcaactggtgatggacgtccgttctgctcaa
attgctactatggcctacgcgaccgtgggaggaactcggctgacgcccggcagactccgcccgcctccgcccgcgaccgcgcagcagctgactg
ggactttacagctcttgggtggcagcagcggcctctcgcgctcctcggactgagaaactgactgctgtctttaaactggaagacttggaccggag
ctgggtcaactgaccagcaggttccagcttgcgtgagagcagcttgcctccccctaaatggccataataataaaagcagctgttggattaaagcaagtgt
gttcttttaactctccgcgctgtaagcccgggaccagcggctcggctggtttagggtggggtgatitttccaacagctgtacaggtggctctggatgttta
gatacatgggatgagtcacccctgggtggaggtagcaccactgcaagcttctgctcgggggtgtgtgtatgatccagctgtagcagggagcctgggc
gtgtgtctgaaaaatgtccttaagcaagaggttatagctaggggagggccctgtgtgaagtgtttcaaatctgcttagctgggaggggtgcatccgggggata
tgatgtgactctggactggatttttaggttgctatgttcccggccagatccctctgggattcatgtgtgcaggaccaccagcaggtatataccagtgactgggaa
atltatctgtagagcttagacgggaatgcatggaagaactggagacgcccctgtggcctccagatlttccatacattctccatgatgatgcaatgggcccgtggg
aagctcctgagcaaaaactgttctggcatcgtcacatctgattatgtccagggtgaggtcatatagacatctttacgaatggggggcaaggggtcccggac
tgggggatgatgtacctcgggccccggggcgtagtccccacagatctgactcctccaggcttctatttcagagggagggatataccactcggggcga
tgaaaaagacagtttctgcccagggagattaactgggatgagagcaggttctgagcagctgtgactttccacagccggtggcccatatatacagcctatcacc
ggctgcagctgtagttaaagagctgagctgcccctcctccggagcagggggccacctggtgagcatalcctgacgtgatgttctccctgaccagttccg
ccagaagcgtcgcggccagcgaagcagctcttcaaggaagcaaaatlttcagcgtttcagccatcggccgtgggcatgtttcagcgtctgggtcag
cagctccagcctgtccagagctcggatgtctctacggatctgatacagagatctctcgtttcggggtggggcgttctgctgtagggcaccagccg
atggcgctccagcggggccagatgctcttccatgggcgagggctcctgtaggggtgtctgggtcaggtgaaaggggtgctccgggtggcactgg
ccagggtgcccctgaggctgttctgctgtgtgctgaatcgtgccctctcgcctcgcgctcggccaggtagcatttgaccatggtctctgtagtcgagaccctc
gcggcgtgcccctgtgcgagactttcccttggaggtggcggccagcaggggcaactcagcgtctcagggcgtagagctgggagcggagaacacggact
ctggggagtaggcgtccgcccagggcagcagaccgtctgcattccaccagccaagtgaattccggggcgtcaggggtcaaaaaccaggttccccatg
ctttttagtgcgttcttaccctgctctccatgagggcgggtgctcctctcgggtgacgaagagggctgctccgtgctcccgtagaccgactcagggcctgtctccagcg
gagtgctctgtcctcctgtagaagaactctgaccactctgagacgaagggcccgcgtccagggcagacgaaggagggccagctgggaaggggtagcgggtgt
gtccactagcgggtccacttccaggggtgtgacggcagatgtccccctcctccgctccagaaaagtattggtgtgtaggtgtagacagctgaccgggggt
cccaacgggggggtataaaaggggggtggtgccccttctctcactctcctccgcatcgtctgcgagaccagctgctgggtaagtctctcctcgaaggc
ggcagtgacctcagcgtcaggtgtcagtttcaaaaatgaggaagattgatgtcactgtccggaggtgatactttgaggggtacctgggtccatctgtgcaaa
aacactatltttgtatcaagctgtggcgatgaccgtagagggcggttgagagcagcttggcagtaggagcagggctgtgtttgtcgcgctcggctcgt
ctftggccgaggtgtgagttgacgtactcggggccacgacttccactcggggaacacgggtgtgctcgtctgtgggatcagggcaccctccagccgggt
tgtcaggggtgacctgtcagctgtggcgacctaccgcagacgctgtgtgtccagcagagggcggcccttgcgcaagcagaaggggggtaggg
gttccagctgtcctctgttggggggtccgctcgtatgtaaaagccccggggagcagggcgggtcaaaagtagctgatctgcaagcttgcagcttccagagccc

gctgccattcgcgggcggcagcgcgctcgtaggggtgagggcgggccccagggcatgggggtgggtgagcgcggaggcgtacatgccgcagatgtca
tacactacaggggtccctgagataaccgaggtagggtgggtagcagcggccccggatgctggcgcgcacgtatgcatagagctctgggagggggcc
agcatgtgggcccaggtgggtgcgctgggggctcggcgcggaagacgatctgcctgaagatggcgtggagttggaggagatgtgggcccgtggaag
acgtgaaagctgtcttctgcaagcccacggagctccctgacgaaggaggcgtaggactcgcgcaagcttggcaccagctcggcggtgacctggacgtcgaagcgc
acagtagtcgagggctcgcggatgatgtacatctctcccccctcttttccacagctcgcggttgaggacgaactctcgcggcttccagctcttggagg
gaaccctcctgtccgaacgtaagagcctagcatgtagaactggtgacggcctgtagggcagcagccctctccacggcagcgcgtaggcctgcgcc
gccttgcggaggagggtggtgaggcgaaggtgacctgacctgacctgacctgacctgacctgacctgacctgacctgacctgacctgacctgacctg
gtagtccgtgcgcttttggagcgcgggtgggacgggagaggtgaggtcattgaagaggatctccccgctcgaaggcatgaagttctggtgatgcgaaaggc
cctgggaccgaggagcgggtggtgacctggggcggcagggacgatctcgtcaagccgtttatgtgtgccacgatgtagactccaggagagcgggctgg
ccctgatggaggggagcttttaagtctcgtaggtaaagctcctgggcgattccaggccgtgctcctcaggcccagcttcaagtgagggtggccgacg
gaaggtatccagaggtcggggccatgagggtctgacggcggtcgcggaaggttctgaactgccccccagccattttcgggggtgatgcagtagaagg
tgaggggcttctccagggggtccatctgagctctcggcgaggtcgcgcggcagcgaccagagcctcgtcggccccagttcatgaccagcatgaag
ggcacgaggtgcttccaaaaggctccatccaagttaggtttctacatcgtaggtgacaaaaggcgcctcgtcgaaggatgagaccgattgggaagactgg
atctcccgccaccagttggaggattggctgtgtggtgaaagtgaagctccgtctcggggcagcactcgtgctggcttttgaaaagcagccagcagactg
gcagcgtgcacgggtgtatctctgacaggtgaaacctggcgacctctgacgaggaagcagccagcgggaatcfaagtcccccggctgggctcctgtggct
ggtggtctttacttgggtgtcggccgacatctgctcctggggcaggtgatggtggaacagaccaccagccgcgagagcgcaggtccagatctggcgt
cggcggcgaggtttagacgacatcgcacattggagctgctcatggtctccagctcccgcggcggcaggtcagccgggagttccctggagggtcactc
cagagacgggtcaaggcgcggacagtgtgagatgtatctgattcaagggtcagctgttgaggcggagtcgatgcttcaggagggccagccccggggg
ccacgatgttccccggggcgcgaggggagggcgaagctgggggtgtttcagaagcggtagcggcgggccccggaggtaggggggttccggc
cccacaggcatggcgaggggacgcttccgcgcgggcaggggctggtgctcgaagagcgttgcgtgcgacgacgcgaggttgg
gttctgtatctggcctctgagtaagaccacgggtcccgtgacctgaaactgaaagagagttcgacaatcaatctggcatctgacagcggcctggc
caggatctctgacgtcggcagttgctgtaggcgatttctgcatgactgctgatcttctctctgagatctctctgctggcgcgctccacgtggc
cgccaggtctggagatgacacctgagctgcgagaaaggctgagtcggcctcgtccagaccggctgtagaccagccccctcggcgtcgcggcg
cgcatgaccacctggccaggtgagctccactgctcgtgaaagcggcgtatgtcgcagcggctgaaaaggtatgtaggggtggcgtgctcggc
gacgaagaatgacatgaccagcggcaactggttcatgtctcccgaagcctccagcggctccatggcctcgtagaagttccagcggcaagttgaaaa
actgggaggtgcgagcggacaggtcaactcctcctcagaagaacggatgagctcggcgacagtgcgcacctcgcgctcgaagggccacgggggct
cttctctccaccttcttccatgattgcttcttctcctcagccgggagggggggcggcggggggaggggagggggcggcgggcgccgacccg
ggaggcggctgatgaagcgtcgtacatctccccggatgctggcggatgctcggtagcggcggcgttctccggggggcagctcgaagacggcg
ctctcatttccggggggggggcgccgtgaggtagcgaagcggcgtgactatgcatcttaacaattgctgtgtaggtacggcgaagggactgattgagtc
cagatccaccggatccgaaaactttggagaaaagcgtctatccagtcgacgtcgaaggtagggctgagcaccgtggcggggggggggcgggaggtc
ctggcggagatgctgctgatgataaagtagggcgttgaagggcgatggtgacagggacacctgcttgggtccggcctgttggatgcggaagg
ggtcggccatgccccagcctgttctgacaccggcgcaggtctttagtaacttctcatgagcttccaccggcacttctctctctctctctctctctc
gtttctcgcggcccatgctgtagcccaagcccctgagcggctgcagcagggccaggtcggcaccagcgcctcgccaagatggcctgctgacctga
gtgagggtcctcgaagtcacatgctcacgaagcgtgtaggacaccgtgtgtaggtgtaggtgacgttggccatgacggaccagttgacggtctgtgtcc
cggctcgagagctccgtgtaccagcgcggaagggcgggaatcgaacagtagctgttcaagtcgcaccagatactgtagccaccaggaagtg
cggcggaggtggcagtagggggcagcgtgggtggcggggcgccggggcggcaggtcttccagatgagcgggtgtagtccagtagatgacctggacat
ccaggtgatcctcggcgggtggtggcgcgcgtagctgcggaccgggttcagatgttgcagggggcagaaaggttccatgctggcagcgtctggc
cggtagggcgcggcagctgtgacgctctatacacacaaaaaacgaaagcgttcaaggcgttctgttctgtagcctggagaaagttaagtgggtggtg
gtgtggccggttcgagaccaagctgactcagccggctgaaagccgcaactggtgtattggcagctccgctcagccagcggcctgtatcctcaggtacg
gtcagagcccttggcttctggccaagcggcgtggcgcgactgggatagatgctgcgatgagaggacaaaagcggcctgcttccgtagctggaaaaca
atcggcagggtgtgctggcgtacccgggttcagcccctatggcgcttggatggccgaaaccggcctaactgggctgtggcagccccgtctcagga
ccccggcagccgacttctcagttacgggagcagccccttggttttttatgttagatcctcgtctggcagatgcggcctcggccggccgatcagc
agcagcaacagcaggcatgacagccccctctctctccccggcggcaccagcggcggcggcggcgttccgggtgccccggggcgcgtggagtcagatg
agccaccggcggcggcactagcagtagcttggacttggagggggcaggggactggcggcgtggggggcagctctcagagcggcaccggggtgca
gtgaaaaggagcgcgctgagggctacctgcccggcaaacctgttccgaccggggggcagggagcccaggagatgcccaggtgaggttcaag
cggggcgcgagctgcggcggcttggacagacagcgcctgctgcgcgaggaagacttgaagcagacagcagcggcagcagccccgcgcgcgca
cgtggcggcggcggcactggtgaccgctcagcagcagcggtaaccaggagcgaacttcaaaaaagctcaacaaccacgtgcgcacgctgtggcgcg
cgaggaggtgacctgggtctcatctgtgggacctgtggagggcagctgacagaacccccagcagcaagccccctgaccgcgagctgttctgtgtg
agcacagcagggaacagaggcctttagggaggcgtctgaacatcaccagcggagggggcgtgctcctgacctgataaacatctcagagcatag
ggtgcaaggagcagcctgagcctggccgagaaggtggcggcattaactattctatgctgagcctgggcaagttctacgtcgcgaagatcaagaccctc
cgtgccatagacaaggaggtgaagatagacgcttctacatgcatggcgtgaaaggtgtaacctgagcagcagctgggaggtgtaccgcaacgagcgc
atccacaaggcgtgagcggcagcggc
gggaggtcaggtctactttgacatggggccgacctgacctggcagccgagccggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc
gatgacgaggaagaggagactatgagtagaggaggcagtagcttggaggactgacctggctggtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgtgt
accggcgggtccggc
accggagcctcagcagcagcctcaggttaaccggctggcgccatcttgaagcggtagtgcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc
ccatagtcaacgcctggcggagagcaggccatccggcagacgagccggactgggtgacgatgcgctgctgcaagcgggtggcgggtaacaacagcggc
aacgtgcagaaacctggaccgctgtgacggagctgcggagggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc
gctaagcctctttagcaccagccggcgaactgaccggggcagaggaactacaaactctttagcgcgctgctggctgagctgacctgacctgacctg
agagcaggtgtaccagctggggccgactcttccagaccagcagacagggcgttcaaacctgtaacctgacagcagcttcaagaactcgcggggcgtg
tgggagtgaaaggc
ggagcgtctcggggagaccttggccacctgctgacgtgacgtgacggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc

gatgaagaagcgcaagcacaagaggaagcccctgtgaaaaaaatcatgtatatgctcaggcgcctcttctggc gaaaagattccaagfatggtatccaataag
gtactgaagtcgtagagatacatctaaagcacttttgacagataaaacattccaaccgaacctcagatagggcagctcagtggaacgaggctgatgccacagc
agcaggaggtagagtttgaaaaagactaccctatgagacctgtatggtatcctatgccagcctaccaatgccaacgggggcaaggaattatggttccaatg
aacaaggagtgtggagctaaagtaaaaatgcaattttcttaacaccacaaccttaatgctcgggaggaaccggcaatccgaaccaaaagggtgtgtgtac
agcgaagatgtccacttgaaitcaccgatactatctgtcttaacgccaaaaaggatgatgtaatgcaaaaatcatgttgggtcagcaagccatgcccaacaga
cccaacctattggattagataatftcattgggttattgtttacaacgaccggtaacatgggagtgctggcgggtcaggcctcagttgaatgctgtgtgga
cttcgaggatagaacacagaactgtcatatcagcttctgcttgatcaattggggatagaaccagatacttccatgtggaaccaggcagtgatagctatgatca
gatgtcagaattattgaaaacatgggactgaggatgaactgcccaactactgcttccctttggggcgcataggatfactgatacttatcaaggataaaaaatacca
atggcaatggtcagtgaccacaaatgatcagctcgcggaccgcaacgaatagggggtgggaaacaacttccatggagatcaacatccaggccaacctttgga
gaaacttctctatgcaaacgtggggctctacctgccagacaagctcaagtacaaccccacaacgtggacatctctgacaacccaacacctatgactacatgaac
aagcgggtgtgtggccctggctgtggactgcttgtcaatgtgggagccaggtgtccctggactacatggacaacgtcaacccctcaaccaccaccgcaat
gctgggtctgcctaccgctcatgatctgggcaacggcgctatgtccctttcacatccaggatccccagaagtctttgcatcaagaacctctgctctgcc
ggctctacacctcagtggaactcaggaaggatgtaaatgtctacagagctctctgggcaatgaccttaggggtgatggggccagcatcaagttgaca
gcataccctctatgctacatftttcccatggcccacaacaccgctccagctgtgaggcctctgagaaacgacaccaacgaccatgcttfaatgactacctc
tggggccaacatgctctaccacccaagcgaaggcccaacgtgccatctccatccctctcgaactgggccccttttagagctgggctttaccgctta
agaccaaggagacccccctgggctcgggtttgatccctctttgttactcgggacatccctacctggatggcacttctactcaaccacactttcaagaa
gatatccatcatgtatgactctccgtcagctggccggcaacgaccgcttgcctaccccaatagattcaggtcaagcgcgctggacggcagggtctaca
cgtggcccagtgcaacatgaccaaggactgttctctgtgcatgtctggcaactacaacataggtaccagggtttacatccagagagctacaaggacag
gatgtactcttctcagaatftccaacctatgaccgacaggtgtggacgagaccaatcaaggactatcaagccattggcaccaccaccagcacaacact
cgggttctgtgggtacttggcggccacctgctcggaggtcagggctaccccgaacttccctacccttgataggcaagaccgctgacagctcacc
cagaaaaagtctctcgcaccgacctctggcgcacccctctctagcaacttcatgtccatgggtgctcagcggacctgggcaaacctgtttatgcaac
tctgccatgctgctgacatgactttgaggtggaccatggacgagccacctctctatattgtttgaaagtctcagctggtcagagtgaccagccgac
cgggtgtcagcagaccgtgactctgctacgcccctctcagccgcaacgcccactaaaggacagcggccgctgcatgacgggtccaccga
gcaagagctcagggcaatggcagagacctgggatgctgaccctatftttggcaccatgacaacgcttccgggctttatctccgagacaagctcgcctg
ccattgtcaaacggcggcgcgagaccgggggctgctcactgctggcctttgctgggaccgctcgaactgctactctttgaccttggctctcc
gatcagcgcctcaggaatattatgattgagtaggggctgctgcccgcagcgcctcctcgcggaccgctcagatgctccatggatgcaaccaccatg
gaaaccgtgcaaggcccccactggccgctgctcttctgttcatgttttgcacgctttgtgactggcctcagagctccatggatgcaaccaccatg
aactgtcaaaaggagtgccaacgccatgctccagagccccaggctccagccacctgcccgaaccagggaacagctttaccgcttctggagcgcactc
cccctactccgagccacagcgcgctatcggggggccacctttttgccacttgaagaaaatgcaagacggaatgatgacagatgcttttaataaa
tgaagactgtgactttaataacacgggctcttctgttatttattcaacaccgctcgcctttgaaaatcgaagggttctgccgtgctcgcctgctgcccac
ggcgagagacagtgctgatactggaagcggctcggcaactggaactgggaccaccatgcccggcagtggttctcggggaagtctcgtccacagggtgc
gggtcagctgcagcgcgctcaggggtcgggagccgagatcttgaagtcgcaagtggggcccgaacctgctcgcgcgaggttgcggtacagggttgcagc
actggaaccaccagcaggggcggatftacgctggccagcaggtctctgctgctgatcagctgctgctcagatctccgcgttctcagggcgaatgggtcat
cttcagacctgctgccaggaaggcgggagcccaggttgcctgtcagctcagcgggcaatgagaggtgccaccggccgactgctgctgctgg
gtacaacgcgctatgaagcttcatgctgctaaaagccacctgggtctggctccctcgaagaaatccacagactgctggagaactgctcgcggg
acagctggcagctgcagggcagcgcgctcaggttggcaactgaccacgttgcgacccaccggttttactatcttggccttggaaacctgctcctttag
cggcgtgcccgttctgctgctgctacatcctctctacactgttcttctgtgatctgttctccgtcagacactttaggtcggcctcctgctgggtcagcgggtg
ctcccacagcgcgcaaccggtggctccaattcttgggtcagccccggctagggctcagaggtgaggaagcggccatcaggaagcggccatcaggtc
ctggctgtaaaagtcagctgcaaggccgctgcttctgctcagccaggtcttgcagatggcggcagcgcctcggctgctggcagcatctaaatttctt
caggctgttatccagctgactgttccatcatggcacgcccctccatgcccctctccagggcagaccatgggagcgttgggggtttatcacttccagc
gcgaggacaccgtacttctgatttcttctctccccctcttccggcgcgcccctgctgtgctcttaccgctcaccaaagggtctgttccagcgaagc
ggcgaccgagcgttccgcccctgactgcttcatcagctaccggcgggttctgaaagccaccatggtcagcggcctgctcttctctgcttctcagc
ctatttctggggaggggttctcgcctcctcggcaagggcgggagcttcttttttttgggagccggcggatggagctcggccacggcgaccgaggtcag
ggcgtggggtgggggtgctcgggtaccaggcctcgtcggcctggacttctctgactccagggcggcgggagctcttgggggctcgcgctcag
cggcggcggagacggggaggggacgggacgggacggcctccacaggggtgttctcgcgagaccggcggcgcgctgggggttctctcgcgctgg
tctgtgcccactgcccattgtatctctctctagcagagagacataaggagctatcatcaagctgagaaggaggaagcttaaccacccccagagac
cggcagctgcccggcgtcggcgtcggccgctaccgcccagcgcggccaccaccagcagacccccacggacccccggcggcagcaccctgtctg
aggaagcggcgtgagcagggaccgggcttctcggcagagggaggttgaagaggaggaataaggaggaagccctcagtccaaaagatcata
aagagcaagc
gtgcttgaagcactgctcagctgctcagctgctcagc
gctcagccttftccccgggtgccccccggcggcgaacagcagctcagagcccaaccgctcacttctaccggctttgtgggtcccagggt
cctggccactateacatcttcttcaaaatgcaagatccccatctcgtcccgcgaaccgtagccggcggataagatgctggcctgcccagggcaccac
atacctgatacggcctttggaagatgtccaagatctcaggggtctggggcgaacgagaagcgggagcaaacctctcgaacaggaaaacagcgaat
gagagctcactggagcgtggtgagctgagggcgacaaccccctggcgggtgctcaagcgcagcagcaggtcaccactttgctaccccgcgctca
acctcccccaagatgacgggctgagggctgactgctcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc
tcagccgtggtcagc
tcaccgtagagctggaggtctcagcggcttctcgtgacccgagatgagagaagggcagggagacctacactacacttccagggctactgtcggc
aggcttgaagatctcaacgtggagctcagcaacctggtgctcacttgggacttctcatgaaaaccgcttgggagagcgtgctacactccacctgccc
ggagggc
tcaaggagctggaagcttctcagcgcgctcacaagactctgacgggcttcaacagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagcagc
cgcttctcaaaacctccagcaggggctcccagctcaccagcaagcagctgttgaaaaatttagaacctttatctggagcgttctggcagctcctaccggc
ctgctgcccctcccagcgacttctgccccctgttaccgagtgccccccgctggtgggcccactgctactgttcaactggcgaactactctcctacc

acgggacctcatggaggactccagcggcgaggggctcatggagtccactgcccgtgcaacctctgcacccccaccgctcctggtctgcaacccaactg
ctcagcgagagtcagattatcggtacctcagctacagggctcctcctcagacgagaagtcgggctcggggctaaaaactcactcggggctgtggactt
ccgctacctgcgcaaatfttactctgaagactaccacgcccagaatcaggttttacgaggaccaatcccggccccaaggcggagctgaccgctcgctca
tcaccaggcgagatctagccaattgcaagccatccaaaagcccgcaagagttttgctgaagaggggctggggggtgtatctgacccccagtcgggt
gaggagctcaaccgggtccccgctgcaccgcccgggacctgtctccaggataagcatcgccatggctccagaagaagcagcagcgccgcccgtg
ccggcccccacatgctggaggaagagggaatactgggacagtcaggcagaggaggtttcggacgaggaggagccggagacggagatggaagatggg
aggaggacagcttagacgaggaggttccgaagccgaagaggcagggcgaacaccgtaaccctcggccgagccccctcgagggcggccccgaagtccgct
cccagcatcagcagcaacagcagcgctataactcggctcctccaccgcccggaccacggccgaccgagaccaaccgtagatgggacaccaccggaacc
ggggccggtaatgctcctcgggagaggaagcaagcgcagcgcaaggctaccgctcgtggcgcgctcacaagaagccatagtcgcttgcctgaagactgc
ggggggaacatctcctcggccgctcctcctcctccaccacgggtgtggcttccccgtaacgctcctcactactacgccccctactgccc
ggcagtgagccagagggggcagcgccggc
aacgcggtcggggggccctgctgctgaggtgaacgaaccctgctgaccgccaactgaggaaaccgaatcttcccactctctatgcatctccaagcagag
cagaggcgagatcaggaactgaaagttaaaacaggtctctgctcctcaccgagctgtctgtatcacaagagcgaagaccagcttcggcgacgctgg
aggacgctgagcactctcagcaaatctgcccgctcactctaaaggactagctcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc
cgtcatgagcaaggacatccacgccaatacatgtgagctatcagcagatgggactcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggcggc
tcagtggcggccacatgatctcacaggttaatgacatccgaccatcgaaccaataattggtgaagcagggcgcaattaccaccagccccgaataatcc
caaccaggaggtggccgctcctggtgtatcaggaatcccgccccaccaccgactactcctcgtgattccaggccgaagtcaaatgactaactca
ggggcacagctcggggcgtcgtcgtcacagggtgcccctcctgccagggtataactcactggagatccgagcagaggtattcagctaacgacgagt
cgggtgagctcctcgtcggctcagacctgacgggacctccagatagccggagccggcggatctcctcagccccggcaggcgctactgactctcagagct
cgtctcggc
gaccagttatcccgaacttgacggcgggactcgggtgagcggctacgactgaatgctgggtggaccgggtcagagcaactcgcctgaagcacttgac
cactccgcccctcagctgttcccgtgacagccgggtgagttcagacttttccctcggcactcgcaccggagcggccggcggcggcggcggcggcggc
catccgagtcagctcctcctacctaatacagggaatcaccgcccctcctactggcggagttgaaaaggggcctctatcctaaccattgctcattgtct
aacctggattacccaagatcttctgtctgctgctgagataataaaggctgagatcagaatctactggacttatcccttcaattgatcataactgtaataa
taaaaactcactactgaaatctgatgcaagactctgccaatftttcagcaacactcctccctcctcccaactctgtactctaggcggcctcctagctgcaact
cctccacagctgaaaggatgctcagatcctcctcctcctccgaccacgatctcatgtgttacagatgaaacggcggagatcgtgacgagactcaac
ccgtgtaccctacgataccgagatcgtccgacttctgctccttctaccctccttctgatatccgaggaatgcaagaaatccagctgggggtgctgctcc
gacctgtcagagccccctaccaccacaatggggccctgactctaaaatggggggcggcctgaccctggacaaggagggaatctcacttccaaaacatca
ccagtgctgacccccctcaaaaaagcaagaacaacatcagcctcagaccggcggcaccctcggcgtcagctccggggcctcaacccttttccactcccc
cctagcggctcagtgggcacaacttactgtgagctcagccctctacttggaaagactcaaaactaactctggccaccaaggaccctcaactgtgtccgaag
gcaactgtctagaaacagagcctccctcagatgcaagtgacagcagtagctggccttagcgtcacggccccacttagcafaaactgacagcctaggact
agacatgcaagcggccatcagctcctcagatggaactggctcctaaactggcggggccccctcaactgtggccgaggggtatcaatgcttggcagtagccacagg
taatggtattggactaatgaaaccaacacacactcagggcaaaactgctcggcggccttaggcttatacacaacggaactaagctcagcagggagc
atgaggctaaacaataacacactgatactagatgtaactaccattgaggctcaaggccaactgagcctaagagtgggcctggggccactatagtagattctagt
agtcataacctaaccattagatgcttaggggattgtatgtaactcttcaaaccaaaacggcttagagggccaactaactaacaagggccttgtgtatgacg
gaaatgccaatagcagttatgttgcaaggcctggaatacagccctactggcacaacagaaaaactatacagactaaataggtctagggatgagtagacac
tgaggagccatgatgacaactagggctctgactaagcttgaactcagagcagcattgtgtgggaaacaaaatgatgacaggcttacttgggaccacac
ggaccatcgccaactgctcagattactgaaaaagatgcaaaactaacctggactgactaactggtggcagtcaggtgtgagcagagatctattgcccctt
aaagtgacctgtgccaatcactagtcactcagtggttcagatatacctaaggtttagaaaatgggggtgctgagtagtaactctcactaatgagcgaatactg
gaaftttgaaacggagactcaactaatggcacacatatacaaacgagtggtttttagcctaactactggcctatcctaagggtcaactacaactgcaaaaagt
aacattgacagcaggtctacatgaaaggggagataactaacctgacattacaactcaatgacctaagtgaaacaggggataaccctgtcagtaaatatt
ccatgacattctcaggggtggccaaatggaagctacatagggcacaattttgtaacaaactccttacttctcactacgcccgaataaagaagacagag
atgctgtttttagattcaaaatgtgtcttttatttttcaagctacagatctccagtagcttaagaatagagcttaataaactgcatgagaaccctccacatagctt
aaactagtgagagaagtactcgcctacatggggtagagtcataatcgtgcatcagatagggcgggtggtgctcagcagcggcgaataaactgctccgccc
ccgctcctcctcaggaatacaactggcagtggtcctcagcagatctcgcaccgcccgcagataaggcggccttctcctcggggcagcagcggcaccct
gatctcactaaatcagcagtaactgacgacagcaccacaatattgtcaaaatcccagctgcaaggcgtgtatcacaagctcatggcggggaccacagaa
cccacgtggccatataccacaagcgcaggtagattaagtgccgaccctcataaacgctggacataaacattcctcttggcagtggttaattccaccctccc
ggtaccatataacctctgattaacatggcgccatccaccacatcctaaccagctggccaaaactgcccggcgtatatactcaggggaaccgggactgg
aacaatgacagtgagagcccaggactcgaaccatggatcatgctcgtcatgatatcaatgttgccacaacacaggcagcagctgacatacacttctcaggatt
acaagctcctccggttagaacatataccagggaacaaccctctgaatcagcgtaaatcccactgaggggaagacctgcacgtaactcaggtgtgcat
tgtcaaatgttactcgggagcagcggatgatcctcagtagtgagcgggtttctgctcaaaaggaggtagacgatccctactgtacggagtgccggag
acaaccgagatcgtgtgctgtagtgcagcgaatggaacggcggagctgacatattctggaagtctcactcagcagcaccagcactaatcagagtgfgaa
gaggccaagtgcgaacgagtagatataaggaatfaaaatgacgtaaatgtgtaaaaggcaaaaacggcgaaaaaatacacagaccaacggcgaacgaa
aacccggcaaaaaataccagaagtctcaacaaccgcaactccttccacgatacgtcacttctcaaaaatgcaaaactacatttccacatgtacaaaac
caaaacccctcccctgaccggccacaactacataatcaaaacgtaaaagcctacgtcaccggcccggcctcggcccggccacactcattatcattggcctca
atccaaaataaggtatattgatgatg

Пример 11. Неоантигены, включенные в NeoGAd20 и NeoMVA, являются иммуногенными *in vitro*

Перекрывающиеся 15-мерные пептиды были сконструированы таким образом, чтобы охватывать каждый неоантиген, встроенный в NeoGAd20 и NeoMVA, для оценки их способности активировать Т-клетки с использованием анализа рестимуляции экзогенного аутологичного нормального донора, как описано в примере 1, в качестве пулов с использованием продукции TNF α и IFN γ CD8⁺ и CD4⁺ Т-клетками в качестве показателя. В табл. 25 представлена максимальная частота встречаемости

TNF α ⁺IFN γ ⁺CD8⁺ и TNF α ⁺IFN γ ⁺CD4⁺ Т-клеток и максимальное кратное изменение относительно отрицательного контроля для пула проанализированных пептидов, что указывает на самую высокую частоту появления TNF α ⁺IFN γ ⁺CD8⁺ и TNF α ⁺IFN γ ⁺CD4⁺ Т-клеток и итоговое кратное изменение для нормальных доноров, оцениваемых для пептида. В табл. 26 представлены использованные пептидные последовательности. На фиг. 7 показано число пациентов с положительным ответом на CD8⁺ для каждого исследуемого пула пептидов для выбранных неоантигенов. На фиг. 8 показано число пациентов с положительным ответом на CD4⁺ для каждого исследуемого пула пептидов для выбранных неоантигенов.

Таблица 25

Идентификатор неоантигена (альтернативное название)	Максимальное кратное изменение относительно фоновых CD8 ⁺ клеток	Максимальная частота встречаемости двойных положительных TNF α /IFN γ CD8 ⁺ Т-клеток	Максимальное кратное изменение относительно фоновых CD4 ⁺ клеток	Максимальная частота встречаемости двойных положительных TNF α /IFN γ CD4 ⁺ Т-клеток
AS18 (C2-NO1)	9,17	0,110	7,51	0,053
P87 (C2-NO4)	9,20	0,460	7,86	0,110
AS55 (C2-NO5)	1354,17	32,500	19,38	0,310
AS57 (C2-NO6)	4,67	0,056	11,00	0,110
AS15 (C2-NO11)	4,36	0,061	9,17	0,110
AS7 (C2-NO13)	52,60	2,630	2,50	0,045
AS43 (C2-NO15)	28,75	0,460	5,67	0,040
AS51 (C2-NO17)	33,13	0,530	8,75	0,140
AS16 (C2-NO19)	24,17	0,290	7,78	0,140
AS41 (C2-NO20)	190,60	9,530	2,20	0,022
AS6 (C2-NO22)	6,50	0,078	31,67	0,380
AS3 (C2-NO23)	7,92	0,095	3,86	0,054
AS11	5,11	0,07	2,98	0,03
AS13	1,67	0,10	1,96	0,05
AS47 (C2-NO30)	4,80	0,240	2,58	0,031

AS8 (C2-NO33)	54,55	0,600	4,08	0,049
AS19	5,87	0,63	2,59	0,1
AS37	19,47	0,74	7,51	0,04
AS23	3,24	0,07	5,08	0,01
MS1	5,56	0,1	50,19	0,39
MS3	36,15	0,47	13,61	0,09
MS6	4,17	0,08	111,97	0,87
MS8	4,44	0,14	15,60	0,40
P82	2,92	0,09	4,44	0,17
P16 (C2-NO8)	2,44	0,039	2,44	0,039
FUS1 (C2-NO9)	1,94	0,031	8,33	0,100
P22 (C2-NO10)	1,56	0,025	18,16	0,075
FUS2 (C2-NO14)	3,13	0,05	2,14	0,03
FUS3 (C2-NO21)	3,94	0,063	2,75	0,033
FUS6 (C2-NO28)	3,50	0,056	2,27	0,016
FUS5 (C2-NO32)	32,50	0,390	3,43	0,048
FUS8	1,89	0,08	7,15	0,04
FUS15 (C2-NO35)	1,75	0,028	2,79	0,039
P35	14,44	0,26	3,47	0,03
FUS19(C2-NO37)	1,88	0,030	3,15	0,013
FUS7	8,89	0,16	36,13	0,04
M84	1,39	0,03	35,84	0,31
M86	4,22	0,08	6,18	0,05
M10	1,89	0,09	14,14	0,1
M12	6,67	0,12	8,94	0,05
FR1	7,92	0,38	4,89	0,04

Таблица 26

Идентификатор неоантигена (альтернативное название)	Перекрывающиеся пептидные последовательности* (SEQ ID NO:)
AS18 (C2-NO1)	WKFEMSYTVGGPPPH (560) VGGPPPHVHARPRHW (561) PPHVHARPRHWKTD (562)
P87 (C2-NO4)	YEAGMTLGGKILFFL (563) GKILFFLFLPLSP (564) FFLFLPLSPFSLIF (565)
AS55 (C2-NO5)	DGHSYTSKVNCLLQ (566) VNCLLQDGFHGCVS (567) GFHGCVSITGAAGR (568) TGAAGRRLSIFLFL (569) LSIFLFLMLCKLEFH (570) LFLMLCKLEFHAC (571)

AS57 (C2-NO6)	TGGKSTCSAPGPQSL (572) APGPQSLPSTPFSTY (573) STPFSTYPQWVILIT (574)
AS15 (C2-NO11)	VLRFLDLKVRYLHS (269)
AS7 (C2-NO13)	DYWAQKEKGGSSFLR (576) QKEKGGSSFLRPSC (577)
AS43 (C2-NO15)	VPFRELKNVSVLEGL (578) VSVLEGLRQGRLLGGP (579) QGRLLGGPCSCHCPRP (580) SCHCPRPSQARLTPV (581) QARLTPVDVAGPFLC (582) VAGPFLCLGDPGLFP (583) GDPGLFPPVKSSI (584)
AS51 (C2-NO17)	GMECTLGQVQAPSPR (585) VGAPSPREEDGWRG (586) EEDGWRGGHRSFKAD (587) HSRFKADVAPQGPC (588) PAPQGPCWGGQPGSA (589) GGQPGSAPSSAPPEQ (590) GSAPSSAPPEQSLLD (591)
AS16 (C2-NO19)	GNTTLQQLGEASQAP (592) GEASQAPSGSLIPLR (593) GSLIPLRLPLLWEVRG (594)
AS41 (C2-NO20)	EAFQRAAGEGGPGRG (595) EGGPGRGGARRGARV (596) ARRGARVLQSPFCRA (597) QSPFCRAGAGEWLGH (598) CRAGAGEWLGHQSLR (599)
AS6 (C2-NO22)	DYWAQKEKISIPRTH (600) QKEKISIPRTHLC (601)
AS3 (C2-NO23)	VAMMVDPDRQVHYDFG (602) VPDRQVHYDFGLR (603)
AS11	VPFRELKNQRTAQGA (631) QRTAQGAPGIHHAAS (632) GIHHAASPVAAANLCD (633) VAANLCDPARHAQHT (634) ARHAQHTRIPCGAGQ (635) IPCGAGQVRAGRGPE (636) RAGRGPEAGGGVLQP (637) GGGVLQPQRPAPEKP (638) RPAPEKPGCPCRRGQ (639) CPCRRGQPRLHTVKM (640) RGQPRLHTVKMWRA (641)
AS13	KRSFAVTERII (265)
AS47 (C2-NO30)	FKKFDGPCGERGGGR (604) GERGGRTARALWAR (605) ARALWARGDSVLTPA (606) DSVLTPALDPQTPVR (607) DPQTPVRAPSLTRAA (608) PVRAPSLTRAAAAV (609)

AS8 (C2-NO33)	LVLGVLSGHSGSRL (255)
AS19	QWQHYHRSGEAAGTP (710) GEAAGTPLWRPTRN (711)
AS37	CHLFLQPQVGTPPPH (642) VGTPPPHTASARAPS (643) ASARAPSGPPHPHES (644) PPHPHESCPAGRRPA (645) PAGRRPARAAQTCA (646) AAQTCARRQHGLPGC (647) QHGLPGCEEAGTARV (648) EAGTARVPSLHLHLH (649) SLHLHLHQAALGAGR (650) AALGAGRGRGWGEAC (651) RGWGEACAQVPPSRG (652)
AS23	KIQNKNCPCD (285)
MS1	HYKLIQQPISLFSIT (653) ISLFSITDRLHKTF (654) RLHKTFSQLPSVHLC (655) LPSVHLCITFQWGH (656) ITFQWGHPPIFCSTN (657) PIFCSTNDICVTANF (658) ICVTANFCISVFLK (659) ISVTLKPCFLLHEA (660) CFLLEASASQ (661)
MS3	RTALTHNQDFSIYRL (662) DFSIYRLCCKRGSCL (663) CKRGSCLCHASQARSP (664) ASQARSPAFKPVPR (665) FPKPVRLPAPITRI (666) PAPITRITPQLGGQS (667) PQLGGQSDSSQPLLT (668) SSQPLTTGRPQGWQ (669) GRPQGWQDQALRHTQ (670) QALRHTQQASPASCA (671) ASPASCATITIPHS (672) ITIPHSAAALGDHSG (673) ALGDHSGDPGPAWDT (674) PGPAWDTCPPLPLTT (675) PPLPLTTLIPRAPP (676) IPRAPPYGDSTARS (677) GDSTARSWPSRCGLG (678)
MS6	YAYKDFLWCFPSLV (679) CFPSLVFLQEIQIC (680) LQEIQICCHVSCLCC (681) HVSCLCCICSTRIC (682) CCSTRICLGCLLELF (683) GCLLEFLSRALRAL (684) SRALRALHVLWNGFQ (685) VLWNGFQLHCQ (686)

MS8	TMPAILKLQKNCLLSL (444)
P82	YEAGMTLGEKFRVGN (687) EKFRVGNCKHLKMTRP (688)
P16 (C2-NO8)	GVPGDSTRRAVRRMN (611) DSTRRAVRRMNTF (612)
FUS1 (C2-NO9)	CGASACDVSLIAMDSA (211)
P22 (C2-NO10)	SLYHREKQLIAMDSAI (349)
FUS2	TEYNQKLQVNFSESK (712)
FUS3 (C2-NO21)	TEISCCTLSSEENEY (615) SSEENEYLPRPEWQLQ (616)
FUS6 (C2-NO28)	CEERGAAGSLISCE (221)
FUS5 (C2-NO32)	NSKMALNSEALSVVSE (219)
FUS8	WGMELAAARRFSWDH (689) RRFSWDHHSAGPPR (690) SAGGPPRVPSVRSQA (691) PSVRSQAQVQPKDP (692) QVQPKDPLRLTAG (693) PLRTLGLCLARTAH (694) LARTAHLRPGAESLP (695) PGAESLPQQLHCT (696)
FUS15 (C2-NO35)	HVVGYGHLDTSGSSS (619) YGHLDTSGSSSSSWP (620)
P35	NSKMALNSLNSIDDA (697) LNSIDDAQLTRIAPP (698) LTRIAPPESHCCFWE (699) APPESHCCFWEVNAP (700)
FUS19 (C2-NO37)	KMHFSLKEHPPPCPP (235)
FUS7	LWFQSSSELSPTGAPW (701) SPTGAPWPSRRPTWR (702) SRRPTWRGTTVSPRT (703) TTVSPRTATSSARTC (704) TSSARTCCGKWPSS (705) GKWPSSQEAALGLG (706) EAALGLGSLLRFSC (707) GLLRFSCGTAIR (708)
M84	IARELHQFADLLIKSH (167)
M86	QPDSFAALHSSLNELGE (171)
M10	FVQKDWGLKKFIRDF (19)
M12	FVQKDWGVKKFIRDF (23)
FR1	QNLQNGGSRSSATL (709) SRSSATLPGRRRRW (575) GRRRRWLRRRQPI (610) RRRRQPISVAPAGPP (613) VAPAGPPRRPNQKPN (614) RPNQKNPPGGARCV (617) PGGARCVIMRPTWPG (618) MRPTWPGTSAFT (621)

Пример 12. Неоантигены, включенные в NeoGAd20 и NeoMVA, являются иммуногенными при эндогенной экспрессии *in vitro*

Для трех неоантигенов был создан вектор Ad5 для трансдукции нормальных дендритных клеток неоантигенами. В этом анализе оценивали способность эндогенно экспрессированных и представленных неоантигенов активировать аутологичные Т-клетки после повторной стимуляции перекрывающихся 15-мерных пулов пептидов с использованием анализа повторной стимуляции эндогенного аутологичного нормального донора, как описано в примере 1, с использованием в качестве показателя продукции $TNF\alpha$ и $IFN\gamma$ $CD8^+$ и $CD4^+$ Т-клетками. В табл. 27 представлена максимальная частота встречаемости $TNF\alpha^+IFN\gamma^+CD8^+$ и $TNF\alpha^+IFN\gamma^+CD4^+$ Т-клеток и максимальное кратное изменение относительно отрицательного контроля для пула проанализированных пептидов, что указывает на самую высокую частоту появления $TNF\alpha^+IFN\gamma^+CD8^+$ и $TNF\alpha^+IFN\gamma^+CD4^+$ Т-клеток и итоговое кратное изменение для нормальных доноров, оцениваемых для пептида. Шестнадцать доноров использовали для оценки эндогенной иммуногенности.

Таблица 27

Идентификатор неоантигена	Перекрывающиеся пептидные последовательности* (SEQ ID NO:)	Максимальное кратное изменение относительно фоновых CD8+ клеток	Максимальная частота встречаемости двойных положительных TNF α /IFN γ CD8+ T-клеток	Максимальное кратное изменение относительно фоновых CD4+ клеток	Максимальная частота встречаемости двойных положительных TNF α /IFN γ CD4+ T-клеток
AS18 (NO1)	WKFEMSYTVGGPPPH (560)	4,09	0,36	1,90	0,046
	VGGPPPHVHARPRHW (561)				
	PPHVHARPRHWKTD (562)				
P87 (NO4)	YEAGMTLGGKILFFL (563)	2,47	0,39	2,41	0,079
	GKILFFLFLLLPLSP (564)				
	FFLFLLLPLSPFSLIF (565)				
AS55 (NO5)	DGHSYTSKVNCLLQ (566)	213,88	2,05	3,50	0,063
	VNCLLQDGFHGCVS (567)				
	GFHGCVSITGAAGR (568)				
	TGAAGRRLNSIFLFL (569)				
	LSIFFLMLCKLEFH (570)				
	LFLMLCKLEFHAC (571)				
*Все полученные пептиды имели группу NH ₂ на N-конце и группу -OH на C-конце					

Пример 13. Неоантигены являются иммуногенными *in vitro*

Оценивали иммуногенность различных дополнительных выявленных неоантигенов. Перекрывающиеся 15-мерные пептиды были сконструированы таким образом, чтобы охватывать каждый неоантиген аналогично тому, что было сделано в примере 11, для оценки их способности активировать Т-клетки с использованием анализа рестимуляции экзогенного аутологичного нормального донора, как описано в примере 1, в качестве пулов с использованием продукции TNF α и IFN γ CD8⁺ и CD4⁺ Т-клетками в качестве показателя. В табл. 28 представлена максимальная частота встречаемости TNF α ⁺IFN γ ⁺CD8⁺ и TNF α ⁺IFN γ ⁺CD4⁺ Т-клеток и максимальное кратное изменение относительно отрицательного контроля для пула проанализированных пептидов, что указывает на самую высокую частоту появления TNF α ⁺IFN γ ⁺CD8⁺ и TNF α ⁺IFN γ ⁺CD4⁺ Т-клеток и итоговое кратное изменение для нормальных доноров, оцениваемых для пептида. В табл. 29 представлены аминокислотные последовательности пептидов, используемых в анализах, для каждого неоантигена.

Таблица 28

Идентификатор неоантигена (альтернативное название)	Макс. кратное изменение относительно фоновых двойных положительных CD8+ TNFαINFγ T-клеток	Макс. частота встречаемости CD8+ TNFαINFγ DP	Макс. кратное изменение относительно фоновых двойных положительных CD4+ TNFαINFγ дважды положительные (DP)	Макс. частота встречаемости CD4+ TNFαINFγ DP
AS1 (Misc1-NO12)	8,15	0,11	3,57	0,02
AS2 (Misc1-NO13)	5,06	0,09	110,68	0,86
AS4 (Misc1-NO14)	5,4	0,17	37,38	1,43
AS5 (Misc1-NO15)	2,13	0,16	8,71	0,1
AS9 (Misc1-NO16)	3,81	0,12	4,18	0,16
AS10 (Misc1-NO17)	4,33	0,08	3,97	0,23
AS12 (Misc1-NO18)	6,03	0,19	7,32	0,28
AS14 (Misc1-NO19)	3,81	0,12	1,49	0,06
AS17 (Misc1-NO20)	2,38	0,07	3,18	0,01
AS20 (Misc1-NO21)	3,81	0,12	1,36	0,05
AS21 (Misc1-NO22)	3,81	0,12	1,7	0,07
AS22 (Misc1-NO23)	2,61	0,1	7,86	0,11
AS32 (Misc1-NO24)	3,81	0,12	2,04	0,08
AS34 (Misc1-NO26)	16,25	0,26	9,48	0,01
AS35 (Misc1-NO27)	11,32	0,43	60,93	0,23
AS36 (Misc2-NO1)	1544,74	58,7	129,8	0,49
AS40 (Misc2-NO3)	178,52	2,41	15,34	0,89
AS42 (Misc2-NO4)	4,65	0,69	24,58	0,59
AS44 (Misc2-NO5)	4,72	0,09	293,94	1,48
AS45 (Misc2-NO6)	4,96	0,07	78,51	0,61
AS46 (Misc2-NO7)	11,6	0,87	157,98	0,29
AS48 (Misc2-NO8)	9,21	0,29	13,45	0,13
AS49 (Misc2-NO9)	8,67	0,65	184,87	0,14
AS50 (Misc2-NO10)	1,6	0,12	17,22	0,07
AS52 (Misc2-NO11)	6,85	0,1	184,87	0,63
AS53 (Misc2-NO12)	4,02	0,35	113,91	0,43
AS54	88,15	8,33	17,87	0,18
AS55.1 (Misc2-NO14)	25,26	1,47	20,66	0,08
AS56	6,35	0,6	128,76	0,18
AS58 (Misc2-NO16)	4,54	0,6	6,27	0,24
AS59 (Misc2-NO17)	4,22	0,08	59,58	0,3
FUS9 (Misc1-NO2)	1,82	0,07	203,97	0,77
FUS10 (Misc1-NO3)	2,42	0,09	10,86	0,04
FUS11 (Misc1-NO4)	2,63	0,1	28,57	0,16
FUS18	42,33	0,91	31,76	0,04
FUS23 (Misc1-NO6)	11,05	0,62	12,77	0,12
FUS24 (Misc1-NO7)	8,53	0,64	4,4	0,05
MS2 (Excl-NO6)	36,92	0,48	15,12	0,1
MS4 (Excl-NO8)	24,13	0,76	367,35	2,43
MS5 (Excl-NO9)	32,89	1,95	126,05	0,2
MS7 (Excl-NO11)	6,67	0,12	10,52	0,09
MS9 (Excl-NO13)	1,38	0,1	455,63	1,72
MS10 (Excl-NO14)	3,42	0,13	74,17	0,28
MS11 (Excl-NO15)	3,81	0,12	3,4	0,13
P97 (Misc1-NO11)	7,47	1,11	3,14	0,12
P19 (Misc1-NO8)	4,76	0,15	6,67	0,16
P27 (Misc1-NO9)	7,87	0,59	45,38	0,05
P37 (Misc1-NO10)	2,05	0,13	22,78	0,09
P76, P77 (Misc2-NO18)	4,56	0,08	53,18	0,36

Таблица 29

Идентификатор неоантигена (альтернативное название)	Пептидная последовательность
AS1 (Misc1-NO12)	LTFLDFIQVTLRVMS (SEQ ID NO: 377) VTLRVMSGSMENGS (SEQ ID NO: 378) SQMENGSSYFFKPPS (SEQ ID NO: 415) YFFKPPSWGLGVGLS (SEQ ID NO: 417)
AS2 (Misc1-NO13)	FMIGELV GELCCQLT (SEQ ID NO: 418) ELCCQLTFRLPFLES (SEQ ID NO: 419) RLPFLES LCQAVVTQ (SEQ ID NO: 420) CQAVVTQALRFNPSF (SEQ ID NO: 502) LRFNPSFQEVCIYQD (SEQ ID NO: 518) EVCYQD TDLM (SEQ ID NO: 526)
AS4 (Misc1-NO14)	WCPLDLRLGSTGCLT (SEQ ID NO: 527) GSTGCLTCRHHQTSHE (SEQ ID NO: 714)
AS5 (Misc1-NO15)	VVGRRHETAPQPLLV (SEQ ID NO: 715) APQPLLPDRAGGEG (SEQ ID NO: 716) DRAGGEGGA (SEQ ID NO: 717)
AS9 (Misc1-NO16)	PVPTATPGVRSVTSP (SEQ ID NO: 718) VRSVTSPQGLGLFLK (SEQ ID NO: 719) GLGLFLKFI (SEQ ID NO: 720)
AS10 (Misc1-NO17)	KENDVREVC DVYLQM (SEQ ID NO: 721) CDVYLQM QIFFHFKF (SEQ ID NO: 722) IFFHFKFRSYFH (SEQ ID NO: 723)
AS12 (Misc1-NO18)	FARKMLEKVHRQHLQ (SEQ ID NO: 724) VHRQHLQLSHNSQE (SEQ ID NO: 725)
AS14 (Misc1-NO19)	MFLRKEQVGP HSF (SEQ ID NO: 726) VGP HSF (SEQ ID NO: 727)
AS17 (Misc1-NO20)	GLNLNDRPGGYSYS (SEQ ID NO: 728) PGGYSYSIWWKNNAK (SEQ ID NO: 729) WWKNNAKNR (SEQ ID NO: 730)
AS20 (Misc1-NO21)	KVLNEIDAVVTVPPS (SEQ ID NO: 731) VVTVPPSLSTS QIPQ (SEQ ID NO: 732) STS QIPQGCCIL (SEQ ID NO: 733)
AS21 (Misc1-NO22)	ANLKGTLQVRSGQAV (SEQ ID NO: 734) VRSGQAVSPR (SEQ ID NO: 735)
AS22 (Misc1-NO23)	LQAAASGQKQGVPC (SEQ ID NO: 736) GKQGVPCPWGCCAYA (SEQ ID NO: 737) WGCCAYAESP RALIS (SEQ ID NO: 738) SPRALISGDAPSQVE (SEQ ID NO: 739) DAPSQVEREVP GPCL (SEQ ID NO: 740) EVP GPCLNTHLSHR (SEQ ID NO: 741) THLSHRSPQLPGLP (SEQ ID NO: 742) PQLPGLPHPKQPSV (SEQ ID NO: 743)
AS32 (Misc1-NO24)	GEVELSEGEGQRHL (SEQ ID NO: 744) GEGQRHLAFPWACSG (SEQ ID NO: 745) FPWACSGPGRGVCC (SEQ ID NO: 746) GWRGVCCAAVEPA (SEQ ID NO: 980)
AS34 (Misc1-NO26)	KMRAIQAE GGHGQAC (SEQ ID NO: 747) GGHGQACCGAWGWA (SEQ ID NO: 748) GGAWGWAPGDGGPQG (SEQ ID NO: 749) GDGGPQGMLTHLPT (SEQ ID NO: 750) LTHLPTLGFQSAWT (SEQ ID NO: 751) GFQSAWTWRREDADR (SEQ ID NO: 752) RREDADRAWRTPKAC (SEQ ID NO: 753) WRTPKACASRRWSI (SEQ ID NO: 754)

AS35 (Misc1-NO27)	LLEPFRRGEPGPRGL (SEQ ID NO: 755) EPGPRGLLSGSSRGG (SEQ ID NO: 756) SGSSRGEGGGRSIE (SEQ ID NO: 757) GPGRSIEAAPATPLP (SEQ ID NO: 758) APATPLPCCRKNPCR (SEQ ID NO: 759) CRKNPCRQPSRFLP (SEQ ID NO: 760) QPSRFLPPRVLLVII (SEQ ID NO: 761) RVLLVIIIPKLDLCPK (SEQ ID NO: 762) PKLDLCPKLG (SEQ ID NO: 763)
AS36 (Misc2-NO1)	PSGRRTKRLVTLRSG (SEQ ID NO: 764) LVTLRSGCAIQCWHP (SEQ ID NO: 765) AIQCWHPRAGPVPSA (SEQ ID NO: 766) AGPVPSALPHTERPP (SEQ ID NO: 767) PHTERPPRLVRGAAD (SEQ ID NO: 768) LVRGAADPRTVTLGR (SEQ ID NO: 769) RTVTLGRSPAVMPRA (SEQ ID NO: 770) PAVMPRAPA (SEQ ID NO: 771)
AS40 (Misc2-NO3)	DCMLSEEGGQARRGG (SEQ ID NO: 772) GQARRGGSLCSLAH (SEQ ID NO: 773) LCSLAHTIASAARG (SEQ ID NO: 774) IASAARGRFLSRLSN (SEQ ID NO: 775) FLSRLSNFCVVKAS (SEQ ID NO: 776) CAVVKASRGAPSCTWE (SEQ ID NO: 777)
AS42 (Misc2-NO4)	PEPRRLSPGEPGRGP (SEQ ID NO: 778) GEPGRPRKGGWGIWG (SEQ ID NO: 779) KGGWGIWGLCGARVGP (SEQ ID NO: 780) CGARVGPKAWR (SEQ ID NO: 781)
AS44 (Misc2-NO5)	FVSLTAIQMASSATP (SEQ ID NO: 782) MASSATPWGRWPVAT (SEQ ID NO: 783) GRWPVATPTAACPRR (SEQ ID NO: 784) TAACPRRRPSSLPTG (SEQ ID NO: 785) PSSLPTGGDSASKKP (SEQ ID NO: 786) DSASKKPISRRAPWQ (SEQ ID NO: 787) SRRAPWQPWACPGRS (SEQ ID NO: 788) WACPGRSVNSAAPRA (SEQ ID NO: 789) NSAAPRAWCPATTP (SEQ ID NO: 790) CPPATTPRTQSPSRD (SEQ ID NO: 791) TQSPSRDLRPRCLSS (SEQ ID NO: 792) RPRCLSSWSS (SEQ ID NO: 793)

AS45 (Misc2-NO6)	PVAIKPGTGPPNNS (SEQ ID NO: 794) GPPNNSIHGGSKRS (SEQ ID NO: 795) HGGSKRSENSYCRDL (SEQ ID NO: 796) NSYCRDLRGQLRAIC (SEQ ID NO: 797) GQLRAICCSSYSHDR (SEQ ID NO: 798) SSYSHDRHTTEERGS (SEQ ID NO: 799) TTEERGSRGRHVWRI (SEQ ID NO: 800) GRHVWRIRRLHTSGL (SEQ ID NO: 801) RLHTSGLPCCCHSGP (SEQ ID NO: 802) CCCHSGPHRRLPDI (SEQ ID NO: 803) PRRLPDILRLVTSTK (SEQ ID NO: 804) RLVTSTKTDHTNTTE (SEQ ID NO: 805) DHTNTTEGLDYL (SEQ ID NO: 806)
AS46 (Misc2-NO7)	KWNKNWTATLGALTI (SEQ ID NO: 807) TLGALTIRGHKLLCH (SEQ ID NO: 808) GHKLLCHLPHLLSSV (SEQ ID NO: 809) PHLLSSVQQTCRSSR (SEQ ID NO: 810)
AS48 (Misc2-NO8)	ENASLVFTGSNSPIP (SEQ ID NO: 811) GSNSPIPACELSSH (SEQ ID NO: 812) CELSSHPAHGISPWI (SEQ ID NO: 813) HGISPWIPSPGNEHF (SEQ ID NO: 814) SPGNEHFHGKQVK (SEQ ID NO: 815) GIKKQVKAIVK (SEQ ID NO: 816)
AS49 (Misc2-NO9)	RLTQRLVQGWTPMEN (SEQ ID NO: 817) GWTPMENRWCGRRAG (SEQ ID NO: 818) WCGRRAGQPASSST (SEQ ID NO: 819) QPASSSTRWTCRAA (SEQ ID NO: 820) WTCRAACLTKWTA (SEQ ID NO: 821) LLTKWTAGRSQTSIG (SEQ ID NO: 822)
AS50 (Misc2-NO10)	ENSGNASRWLHVPSS (SEQ ID NO: 823) WLHVPSSDDDLGWK (SEQ ID NO: 824) DDDLGWKSSAITSNS (SEQ ID NO: 825)
AS52 (Misc2-NO11)	KGSVERRSVSLGHPA (SEQ ID NO: 826) VSLGHPAEGWAWAER (SEQ ID NO: 827) GWAWAERSLQPGMTT (SEQ ID NO: 828) LQPGMTTANTGCLSF (SEQ ID NO: 829) NTGCLSFHHRGCLLP (SEQ ID NO: 830) HRGCLLPVLPKLHCG (SEQ ID NO: 831) LPKLHCGLGGLPLVR (SEQ ID NO: 832) GGLPLVRAKEIKRVQ (SEQ ID NO: 833) KEIKRVQRAGESSLP (SEQ ID NO: 834) AGESSLPVKGLLTV (SEQ ID NO: 835) KGLLTVASAVI AVLW (SEQ ID NO: 836) AVI AVLWGRPSEVTG (SEQ ID NO: 837) RPSEVTGENEAQHD (SEQ ID NO: 838)

AS53 (Misc2-NO12)	FGLTTLAGRSSHGTS (SEQ ID NO: 839) RSSHGTSGLRAAHTT (SEQ ID NO: 840) LRAATHTKSGDGGQG (SEQ ID NO: 841) SGDGGQGAARQCEKL (SEQ ID NO: 842) ARQCEKLELARATR (SEQ ID NO: 843) ELARATRPWGRSTSA (SEQ ID NO: 844) WGRSTSASSRWTHRG (SEQ ID NO: 845) SRWTHRGYMCPPRCA (SEQ ID NO: 846) MCPPRCAVACW (SEQ ID NO: 847)
AS54	IIDSDKIMAVCMGCL (SEQ ID NO: 848) DKIMAVCMGCLLTRH (SEQ ID NO: 849) AVCMGCLLTRHVQCQ (SEQ ID NO: 850) GCLLTRHVQCQAMEM (SEQ ID NO: 851) TRHVQCQAMEMQQ (SEQ ID NO: 852)
AS55.1 (Misc2-NO14)	DGHSYTSKVNCLLLQ (SEQ ID NO: 566) VNCLLLQDGFHGCVS (SEQ ID NO: 567) GFHGCYSITGAAGR (SEQ ID NO: 568) TGAAGRRLSIFLFL (SEQ ID NO: 569) LSIFLFLMLCKLEFHA (SEQ ID NO: 853)
AS56	LLNAEDYRCAIHSKE (SEQ ID NO: 854) CAIHSKEIYLLSPSP (SEQ ID NO: 855) YLLSPSPHQAMDKFS (SEQ ID NO: 856) QAMDKFSLCCINCNL (SEQ ID NO: 857) CCINCNLCLHVFLLL (SEQ ID NO: 858) LHVFLLLFFQNKDV (SEQ ID NO: 859) FFQNKDVWLISNIL (SEQ ID NO: 860) LISNILLWIYGGI (SEQ ID NO: 861)
AS58 (Misc2-NO16)	VETLENANSFSSGIQ (SEQ ID NO: 862) SFSSGIQPLLCSLIG (SEQ ID NO: 863) LLCSLIGLENPT (SEQ ID NO: 864)
AS59 (Misc2-NO17)	AGAGTISEGSVLHGQ (SEQ ID NO: 865) GSVLHGQRLECDARR (SEQ ID NO: 866) LECDARRFFGCGTTI (SEQ ID NO: 867) FGCGTTILAEWEHH (SEQ ID NO: 868)
FUS9 (Misc1-NO2)	KEQILAVASLVSSQS (SEQ ID NO: 869) SLVSSQSIHPSWGQS (SEQ ID NO: 870) HPSWGQSPLSRI (SEQ ID NO: 871)
FUS10 (Misc1-NO3)	LELELSEGVCFRLR (SEQ ID NO: 229)
FUS11 (Misc1-NO4)	QQLRIFCAAMASNED (SEQ ID NO: 872) AMASNEDFS (SEQ ID NO: 873)
FUS18	DGFSGSLFAVVTRRC (SEQ ID NO: 874) AVVTRRCYFLKWRTI (SEQ ID NO: 875) FLKWRTIFPQSLMWL (SEQ ID NO: 876)
FUS23 (Misc1-NO6)	DLRRVATYCAPLPSS (SEQ ID NO: 877) CAPLPSSWRPGTGTT (SEQ ID NO: 878) RPGTGTTIPPRMRS (SEQ ID NO: 879)
FUS24 (Misc1-NO7)	LQERMELLACGAERG (SEQ ID NO: 880) ACGAERGAGGWGGGG (SEQ ID NO: 881) GGWGGGGGGGGDRR (SEQ ID NO: 882) GGGGDRRGGGGSAPA (SEQ ID NO: 883) GGGSAPALADFAGGRG (SEQ ID NO: 884)
MS2 (Excl-NO6)	WTDIVKQSVSTNCIS (SEQ ID NO: 885) VSTNCISIKKGSYTK (SEQ ID NO: 886) KKGSYTKLFLVFLI (SEQ ID NO: 887) FSLVFLIFCWPLIQL (SEQ ID NO: 888)
MS4 (Excl-NO8)	LRYGALCNVSRISYF (SEQ ID NO: 889) VSRISYFSLTNIFNF (SEQ ID NO: 890) LTNIFNFVIKSLTAI (SEQ ID NO: 891) IKSLTAIFTVKF (SEQ ID NO: 548)

MS5 (Excl-NO9)	<p> RKERNIRKSESTLRL (SEQ ID NO: 892) SESTLRLSPFPTAP (SEQ ID NO: 893) PFPTAPSGAPAAAQ (SEQ ID NO: 894) GAPAAAQGVVVRVPG (SEQ ID NO: 895) KVVVRVPGPAGGLVPR (SEQ ID NO: 896) AGGLVPRDAGARLLP (SEQ ID NO: 897) AGARLLPPAGGPGGG (SEQ ID NO: 898) AGGPGGGAAAGEGRA (SEQ ID NO: 899) AAGEGRAGRGRFPSI (SEQ ID NO: 900) RGRFPSITEPRPRDL (SEQ ID NO: 901) EPRPRDLPPRVATGR (SEQ ID NO: 902) PRVATGRRAGGRRKG (SEQ ID NO: 903) AGGRRKGAGQGVRTR (SEQ ID NO: 904) GQGVRTRPLPASWPG (SEQ ID NO: 905) LPASWPGGRGPFRKG (SEQ ID NO: 906) RGPFRKGPRRLPLGS (SEQ ID NO: 907) RRLPLGSGPPAAGVQ (SEQ ID NO: 908) PPAAGVQRLRCSHLS (SEQ ID NO: 909) LRCSHLSRGRPRRRG (SEQ ID NO: 910) GPRRRRGRVCGRACV (SEQ ID NO: 911) VCGRACVSPPLPPRP (SEQ ID NO: 912) PPLPPRPPVGLSAE (SEQ ID NO: 913) PVGLSAENLSWLSSG (SEQ ID NO: 914) LSWLSSGLPRACSWR (SEQ ID NO: 915) PRACSWREFSPETCA (SEQ ID NO: 916) FSPETCAFRLSGLDS (SEQ ID NO: 917) RLSGLDSKLSARVER (SEQ ID NO: 918) LSARVERDLGALRAP (SEQ ID NO: 919) LGALRAPGSRAAQGG (SEQ ID NO: 920) SRAAQGGRRVRSRS (SEQ ID NO: 921) RVRGSRSEWKTRPWR (SEQ ID NO: 922) WKTRPWRPPPAWPLT (SEQ ID NO: 923) PPAWPLTRAGGPLPK (SEQ ID NO: 924) AGGPLPKNPFLESCS (SEQ ID NO: 925) PFLESCSETAQRRTV (SEQ ID NO: 926) TAQRRTVFSFSTPLS (SEQ ID NO: 927) </p>
MS7 (Excl-NO11)	<p> SINKATITGKKDLEL (SEQ ID NO: 928) GKKDLELILHVSRRK (SEQ ID NO: 929) LHVSRRKPFPRVNI (SEQ ID NO: 930) FLPRVNITPTPISCC (SEQ ID NO: 931) PTPISCCNLKMLKKF (SEQ ID NO: 932) LKMLKKFFLLYIHS (SEQ ID NO: 933) LLYIHSIIDLTNCL (SEQ ID NO: 934) IDLTNCLSCYLEHFY (SEQ ID NO: 935) CYLEHFYRFTFFTDV (SEQ ID NO: 936) FTFFTDVHYF (SEQ ID NO: 937) </p>

MS9 (Excl-NO13)	PYYALSLSGNSWVPST (SEQ ID NO: 938) NSWVPSTLESDFPGY (SEQ ID NO: 939) ESDFPGYVFSPLATR (SEQ ID NO: 940) FSPLATR PALNDQES (SEQ ID NO: 941) ALNDQESILWPTLTS (SEQ ID NO: 942) LWPTLTSVVSICALSC (SEQ ID NO: 943) VSCALSCPSLNLNLPEN (SEQ ID NO: 944) SLNLPENWLTITGG (SEQ ID NO: 945) LTLITGGMKGGKMK (SEQ ID NO: 946) KGGKMKFTFRH (SEQ ID NO: 947)
MS10 (Excl-NO14)	GLRNLGNTVRAILLS (SEQ ID NO: 948) VRAILLSFSLKRNVK (SEQ ID NO: 949) LSKRNVKWCWGKGP (SEQ ID NO: 950) CWGWGKPTSLGKACG (SEQ ID NO: 951) SLGKACGRALKLF (SEQ ID NO: 952)
MS11 (Excl-NO15)	MEAENAGSLHFHEVL (SEQ ID NO: 953) LHFHEVLKMGHVKF (SEQ ID NO: 954)
P97 (Misc1-NO11)	GYLRMQGLMAQRLLLR (SEQ ID NO: 383)
P19 (Misc1-NO8)	WTPIVLRWPLPHP (SEQ ID NO: 955) RWPLPHPPWRRATS (SEQ ID NO: 956) PWRRATSCRMARSSP (SEQ ID NO: 957) RMARSSPATS GSSV (SEQ ID NO: 958) ATSGSSVRRRCSSLP (SEQ ID NO: 959) RRCSSLPWVWNLA (SEQ ID NO: 960) WVWNLA ASTRPRSTPS (SEQ ID NO: 961)
P27 (Misc1-NO9)	LHPQRETFTPRWSGA (SEQ ID NO: 962) TPRWSGANYWKLAFP (SEQ ID NO: 963) YWKLAFVGAEGTFP (SEQ ID NO: 964) GAEGTFPAAATQRGV (SEQ ID NO: 965) AATQRGVVVPA (SEQ ID NO: 966)
P37 (Misc1-NO10)	MAGGVLRRLLCREPD (SEQ ID NO: 967) LLCREPDRDGDKGAS (SEQ ID NO: 968) DGDKGASREETVVPL (SEQ ID NO: 969) EETVVPLHIGDPVVL (SEQ ID NO: 970) IGDPVVLPGIGQCYS (SEQ ID NO: 971) GIGQCYSALF (SEQ ID NO: 972)
P76, P77 (Misc2-NO18)	VFFKRAAEGFFRMNK (SEQ ID NO: 973) GFFRMNKLESDTN (SEQ ID NO: 974) KESDTPKPYCMAA (SEQ ID NO: 975) KPYCMAAPMGLTENN (SEQ ID NO: 976) MGLTENNRRNKSYR (SEQ ID NO: 977) NRKSYRETNLKAVS (SEQ ID NO: 978) TNLKAWSWPLNHT (SEQ ID NO: 979)

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Вакцина для индукции иммунного ответа при раке предстательной железы, где эта вакцина содержит гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид, причем гетерологичный полипептид выбран из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 541, 543, 550, 554, 555, 556, 623, 624, 552, 557, 558, 559, 625 и 626.

2. Вакцина по п.1, которая способна индуцировать клеточный иммунный ответ у субъекта, которому вводили вакцину.

3. Вакцина по п.2, в которой клеточный иммунный ответ представляет собой активацию специфичных к вакцине CD8⁺ Т-клеток, CD4⁺ Т-клеток или CD8⁺ Т-клеток и CD4⁺ Т-клеток, причем активацию оценивают по повышенной продукции TNF α , IFN γ или TNF α и IFN γ CD8⁺ Т-клетками, CD4⁺ Т-клетками или CD8⁺ Т-клетками и CD4⁺ Т-клетками.

4. Вакцина по любому из пп.1-3, в которой гетерологичный полинуклеотид содержит промотор, энхансер, сайт полиаденилирования, последовательность Козак, стоп-кодон, Т-клеточный энхансер (TCE) или любую их комбинацию.

5. Вакцина по п.4, в которой промотором является промотор CMV или промотор осповакцины P7.5.

6. Вакцина по п.4 или 5, в которой TCE кодируется полинуклеотидом SEQ ID NO: 546, промотор CMV содержит полинуклеотид SEQ ID NO: 628, промотор осповакцины P7.5 содержит полинуклеотид SEQ ID NO: 630, а сайт полиаденилирования содержит сайт полиаденилирования бычьего гормона роста SEQ ID NO: 629.

7. Вакцина по любому из пп.1-6, в которой гетерологичный полинуклеотид представляет собой ДНК или РНК.

8. Вакцина по п.7, в которой РНК представляет собой мРНК или самореплицирующуюся РНК.

9. Вакцина по любому из пп.1-7, представляющая собой рекомбинантный вирус, полученный из аденовируса (Ad), поксвируса, аденоассоциированного вируса (AAV) или ретровируса.

10. Вакцина по п.9, в которой рекомбинантный вирус получен из hAd5, hAd7, hAd11, hAd26, hAd34, hAd35, hAd48, hAd49, hAd50, GAd20, GAd19, GAd21, GAd25, GAd26, GAd27, GAd28, GAd29, GAd30, GAd31, ChAd3, ChAd4, ChAd5, ChAd6, ChAd7, ChAd8, ChAd9, ChAd10, ChAd11, ChAd16, ChAd17, ChAd19, ChAd20, ChAd22, ChAd24, ChAd26, ChAd30, ChAd31, ChAd37, ChAd38, ChAd44, ChAd55, ChAd63, ChAd73, ChAd82, ChAd83, ChAd146, ChAd147, PanAd1, PanAd2, PanAd3, вируса осповакцины Копенгаген, аттенуированного вируса осповакцины Нью-Йорк (NYVAC), ALVAC, TROVAC или модифицированного вируса осповакцины Анкара (MVA).

11. Вакцина по п.10, в которой рекомбинантный вирус получен из GAd20.

12. Вакцина по п.10, в которой рекомбинантный вирус получен из MVA.

13. Вакцина по п.10, в которой рекомбинантный вирус получен из hAd26.

14. Вакцина по п.11 или 12, где эта вакцина содержит гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 541, 550, 554, 555, 556, 623 или 624, причем вакцина представляет собой рекомбинантный вирус, полученный из GAd20 или Ad26.

15. Вакцина по п.13, где эта вакцина содержит гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 543, 552, 557, 558, 559, 625 или 626, причем вакцина представляет собой рекомбинантный вирус, полученный из MVA.

16. Способ лечения или предотвращения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества одной или более вакцин по любому из пп.1-15.

17. Способ индукции иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту одной или более вакцин по любому из пп.1-15.

18. Способ по п.16, в котором рак предстательной железы представляет собой рецидивирующий, рефрактерный, метастатический, кастрационно-резистентный рак предстательной железы или любую их комбинацию.

19. Способ по любому из пп.16-18, включающий введение субъекту дополнительного противоракового терапевтического агента.

20. Способ по п.19, в котором дополнительный противораковый терапевтический агент представляет собой антитело к CTLA-4, лиганд CTLA4, ингибитор оси PD-1, ингибитор оси PD-L1, агонист TLR, агонист CD40, агонист OX40, гидроксимочевину, руксолитиниб, федратиниб, агонист 4-1BB, агонист CD28, антагонист STING, антагонист RIG-1, терапию TCR-T, терапию CAR-T, лиганд FLT3, сульфат алюминия, ингибитор ВТК, антитело к CD38, ингибитор CDK, антитело к CD33, антитело к CD37, антитело к CD25, ингибитор GM-CSF, IL-2, IL-15, IL-7, молекулы перенаправления CD3, помалимиб, IFN γ , IFN α , TNF α , антитело к VEGF, антитело к CD70, антитело к CD27, антитело к BCMA, антитело к GPRC5D или любую их комбинацию.

21. Способ лечения или предотвращения рака предстательной железы у субъекта, включающий введение субъекту:

а) первой вакцины, содержащей первый гетерологичный полинуклеотид, кодирующий первый гетерологичный полипептид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 541, 543, 550, 554, 555, 556, 623, 624, 552, 557, 558, 559, 625 и 626; и

б) второй вакцины, содержащей второй гетерологичный полинуклеотид, кодирующий второй гетерологичный полипептид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 541, 543, 550, 554, 555, 556, 623, 624, 552, 557, 558, 559, 625 и 626

22. Способ индукции иммунного ответа у субъекта, включающий введение субъекту:

а) первой вакцины, содержащей первый гетерологичный полинуклеотид, кодирующий первый гетерологичный полипептид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 541, 543, 550, 554, 555, 556, 623, 624, 552, 557, 558, 559, 625 и 626; и

б) второй вакцины, содержащей второй гетерологичный полинуклеотид, кодирующий второй гетерологичный полипептид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 541, 543, 550, 554, 555, 556, 623, 624, 552, 557, 558, 559, 625 и 626.

23. Способ по п.21 или 22, в котором первый гетерологичный полипептид и второй гетерологичный полипептид имеют разные аминокислотные последовательности.

24. Способ по любому из пп.21-23, в котором первый гетерологичный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 541, 550, 554, 555, 556, 623 или 624.

25. Способ по любому из пп.21-24, в котором второй гетерологичный полипептид содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 543, 552, 557, 558, 559, 625 или 626.

26. Способ по любому из пп.21-25, в котором первая вакцина, вторая вакцина или и первая вакцина, и вторая вакцина представляют собой ДНК-вакцину.

27. Способ по любому из пп.21-25, в котором первая вакцина, вторая вакцина или и первая вакцина, и вторая вакцина представляют собой РНК-вакцину.

28. Способ по любому из пп.21-25, в котором первая вакцина, вторая вакцина или первая вакцина и вторая вакцина представляют собой рекомбинантный вирус.

29. Способ по п.28, в котором рекомбинантный вирус получен из hAd5, hAd7, hAd11, hAd26, hAd34, hAd35, hAd48, hAd49, hAd50, GAd20, GAd19, GAd21, GAd25, GAd26, GAd27, GAd28, GAd29, GAd30, GAd31, ChAd3, ChAd4, ChAd5, ChAd6, ChAd7, ChAd8, ChAd9, ChAd10, ChAd11, ChAd16, ChAd17, ChAd19, ChAd20, ChAd22, ChAd24, ChAd26, ChAd30, ChAd31, ChAd37, ChAd38, ChAd44, ChAd55, ChAd63, ChAd73, ChAd82, ChAd83, ChAd146, ChAd147, PanAd1, PanAd2, PanAd3, вируса осповакцины Копенгаген, аттенуированного вируса осповакцины Нью-Йорк (NYVAC), ALVAC, TROVAC или MVA.

30. Способ по любому из пп.21-29, в котором первая вакцина представляет собой рекомбинантный вирус, полученный из GAd20 или Ad26, где эта первая вакцина содержит гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 541, 550, 554, 555, 556, 623 или 624.

31. Способ по любому из пп.21-30, в котором вторая вакцина представляет собой рекомбинантный вирус, полученный из MVA, где эта вторая вакцина содержит гетерологичный полинуклеотид, кодирующий гетерологичный полипептид SEQ ID NO: 543, 552, 557, 558, 559, 625 или 626.

32. Способ по любому из пп.21-30, включающий в себя введение субъекту дополнительного противоракового терапевтического агента.

33. Способ по п.32, в котором дополнительный противораковый терапевтический агент представляет собой антитело к CTLA-4, лиганд CTLA4, ингибитор оси PD-1, ингибитор оси PD-L1, агонист TLR, агонист CD40, агонист OX40, гидроксимочевину, руксолитиниб, федратиниб, агонист 4-1BB, агонист CD28, антагонист STING, антагонист RIG-1, терапию TCR-T, терапию CAR-T, лиганд FLT3, сульфат алюминия, ингибитор ВТК, антитело к CD38, ингибитор CDK, антитело к CD33, антитело к CD37, антитело к CD25, ингибитор GM-CSF, IL-2, IL-15, IL-7, молекулы перенаправления CD3, помалимиб, IFN γ , IFN α , TNF α , антитело к VEGF, антитело к CD70, антитело к CD27, антитело к BCMA, антитело к GPRC5D или любую их комбинацию.

34. Способ по п.33, в котором ингибитор контрольной точки представляет собой ипилимумаб, цетрелимаб, пембролизумаб, ниволумаб, синтилимуаb, цемиплимаб, торипалимаб, камрелизумаб, тислелизумаб, дострелимаб, спартализумаб, пролголимаб, бальстилимаб, будигалимаб, сасанлимаб, авелумаб, атезолизумаб, дурвалумаб, энвафолимаб, йодаполимаб или любую их комбинацию.

35. Способ по любому из пп.21-30, в котором первую вакцину вводят субъекту один или более раз.

36. Способ по любому из пп.21-31, в котором вторую вакцину вводят субъекту один или более раз.

37. Способ по любому из пп.21-31, в котором первую вакцину вводят в промежутке около 1-16 недель перед введением второй вакцины.

38. Выделенный гетерологичный полинуклеотид для индукции иммунного ответа при раке предстательной железы, где этот полинуклеотид кодирует полипептид, состоящий из SEQ ID NO: 275, 541, 543, 550, 554, 555, 556, 623, 624, 552, 557, 558, 559, 625 и 626.

39. Выделенный гетерологичный полинуклеотид по п.38, содержащий SEQ ID NO: 276.

40. Вектор, содержащий гетерологичный полинуклеотид по п.39.

41. Вектор по п.40, представляющий собой рекомбинантный вирусный вектор, полученный из hAd5, hAd7, hAd11, hAd26, hAd34, hAd35, hAd48, hAd49, hAd50, GAd20, GAd19, GAd21, GAd25, GAd26, GAd27, GAd28, GAd29, GAd30, GAd31, ChAd3, ChAd4, ChAd5, ChAd6, ChAd7, ChAd8, ChAd9, ChAd10, ChAd11, ChAd16, ChAd17, ChAd19, ChAd20, ChAd22, ChAd24, ChAd26, ChAd30, ChAd31, ChAd37, ChAd38, ChAd44, ChAd55, ChAd63, ChAd73, ChAd82, ChAd83, ChAd146, ChAd147, PanAd1, PanAd2, PanAd3, вируса осповакцины Копенгаген, аттенуированного вируса осповакцины Нью-Йорк (NYVAC), ALVAC, TROVAC или MVA.

42. Вектор по п.41, в котором рекомбинантный вирус получен из GAd20.

43. Вектор по п.41, в котором рекомбинантный вирус получен из MVA.

44. Выделенный полинуклеотид для индукции иммунного ответа при раке предстательной железы, где этот полинуклеотид:

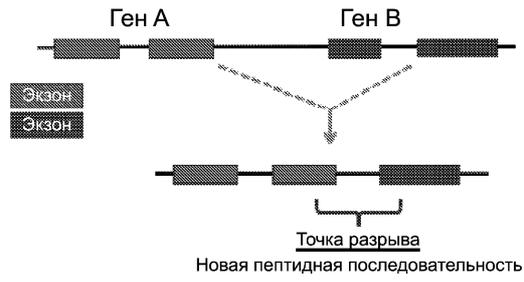
а) кодирует полипептид, выбранный из группы, состоящей из SEQ ID NO: 275, 541, 543, 550, 554, 555, 556, 623, 624, 552, 557, 558, 559, 625 и 626; или

б) содержит полинуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 276, 542, 544, 551 и 553.

45. Вектор, содержащий полинуклеотид по п.44.

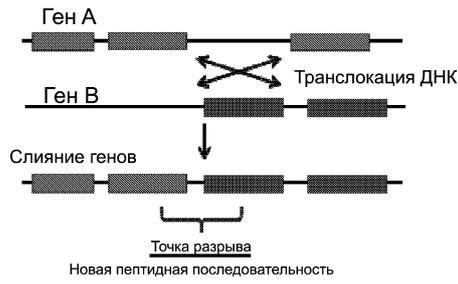
46. Вектор по п.45, представляющий собой вирусный вектор, выбранный из вектора Ad, вектора AAV, поксвирусного вектора, вектора осповакцины или вектора MVA.

Химерное сквозное слияние

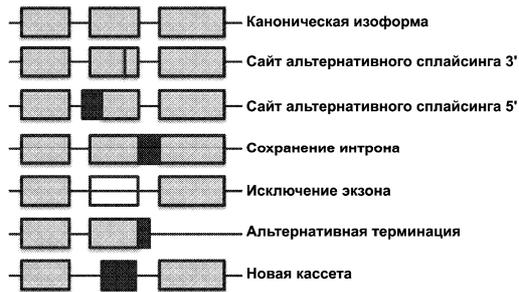


Фиг. 1

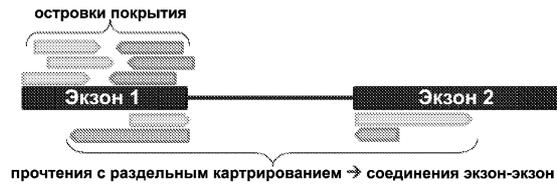
Слияние с хромосомным изменением



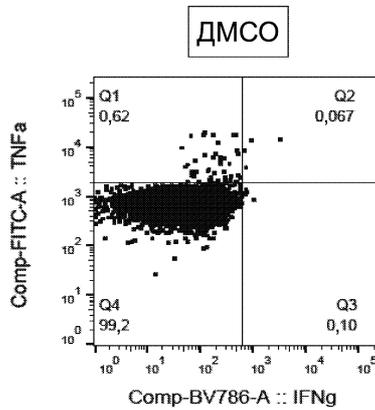
Фиг. 2



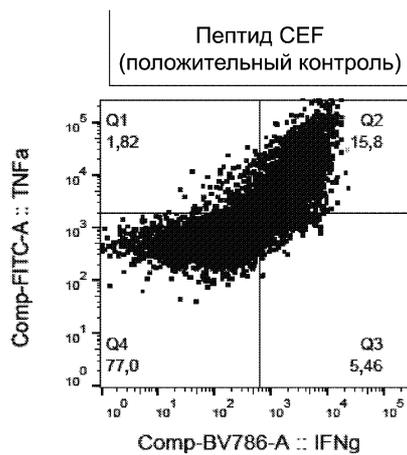
Фиг. 3



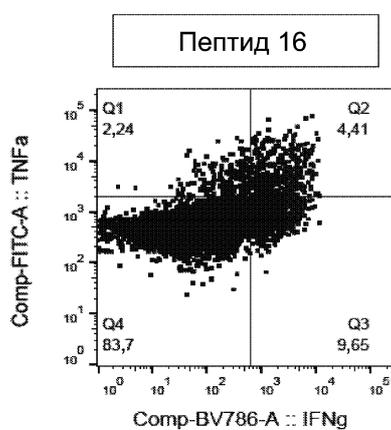
Фиг. 4



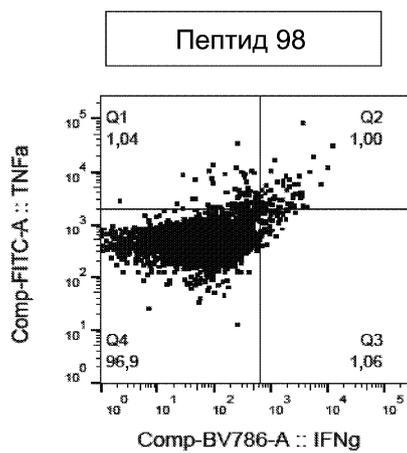
Фиг. 5А



Фиг. 5B

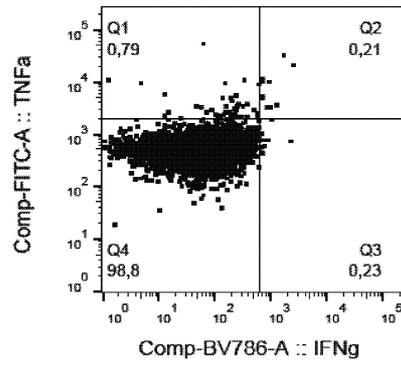


Фиг. 5C

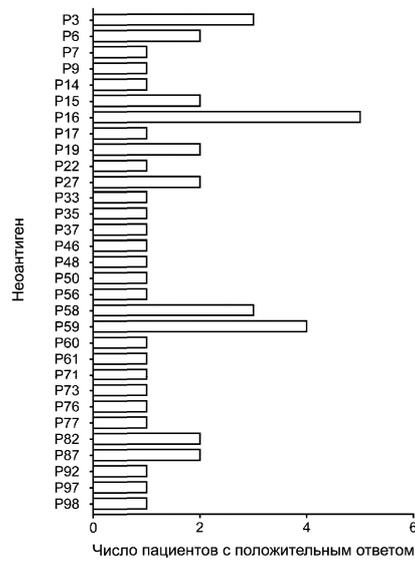


Фиг. 5D

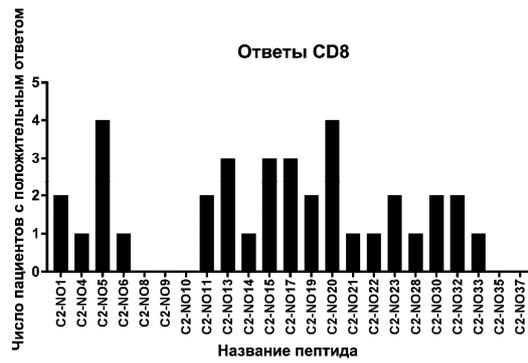
Пептид 3



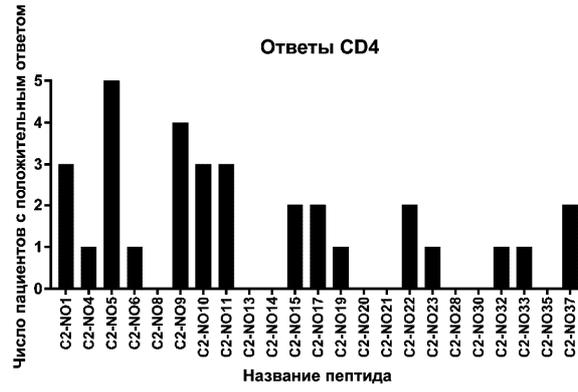
Фиг. 5Е



Фиг. 6



Фиг. 7



Фиг. 8

