(19) Евразийское патентное ведомство

(21) 202391166 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.01.31

(22) Дата подачи заявки
2020.09.28

(51) Int. Cl. ***C07K 14/08*** (2006.01)
C12N 15/51 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)
A61K 38/16 (2006.01)
A61K 39/29 (2006.01)
C12N 5/071 (2010.01)
C12N 7/01 (2006.01)
A61K 9/08 (2006.01)
A61K 9/19 (2006.01)

(54) ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВГВ И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ВГВ

(31) **62/908,494**
(32) **2019.09.30**
(33) **US**
(62) **202290638; 2020.09.28**

(71) Заявитель:
ДЖИЛИД САЙЕНСИЗ, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:
Балситис Скотт Дж. (US), Даффис Стефан (FR), Ахмади-Эрбер Сара М., Шипперс Тимо, Шмидт Сара (AT)

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) Предложены иммуногенные полипептиды ВГВ, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, экспрессирующие такие иммуногенные полипептиды, для применения при индуцировании иммуного ответа против ВГВ; фармацевтические и иммуногенные композиции и наборы, содержащие такие полипептиды, полинуклеотиды или векторы, и способы применения при лечении и/или профилактике ВГВ.

202391166 A1

202391166 A1

ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ВГВ И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ВГВ

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет в соответствии с § 119(e) раздела 35 U.S.C. предварительной заявки на патент США № 62/908,494, поданной 30 сентября 2019 г., содержание которой полностью включено в настоящий документ для всех целей посредством ссылки.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[0002] Данная заявка содержит перечень последовательностей, который был подан в электронной форме в формате ASCII и в полном объеме включен в данный документ посредством ссылки. Копия указанного перечня в формате ASCII, созданная 4 сентября 2020 г., называется 1324_PF_SL.txt и имеет размер 296 675 байт.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Было предпринято множество попыток использовать вакцинацию для лечения пациентов с хронической инфекцией вируса гепатита B (ВГВ) для повышения скорости потери поверхностного антигена ВГВ (sAg), основного маркера функциональной терапии. Такие попытки включают вакцинацию рекомбинантными белками (Dikici, *et al., J Gastroenterol Hepatol*. (2003) 18(2):218-22; Pol, *et al., J Hepatol.* (2001) 34(6):917-21; Vandepapeliere, *et al*., *Vaccine* (2007) 25(51):8585-97; Yalcin, *et al., J Clin Gastroenterol*. (2003) 37(4):330-5; Al-Mahtab, *Hepatol Int.* (2013) 7(4):981-9; Hoa, *et al., Antimicrob Agents Chemother*. (2009) 53(12):5134-40; and Yalcin, *et al., Infection*. (2003) 31(4):221-5), рекомбинантной ДНК (Mancini-Bourgine, *et al., Hepatology*. (2004) 40(4):874-82; Yang, *et al., World J Gastroenterol*. (2017) 23(2):306-17; Yang, *et al., J Viral Hepat*. (2012) 19(8):581-93; Yoon, *et al., Liver Int*. (2015) 35(3):805-15; Cavenaugh, *et al., PLoS One*. (2011) 6(2):e14626; и Godon, *et al., Mol Ther*. (2014) 22(3):675-84), дендритными клетками (Luo, *et al., Vaccine*. (2010) 28(13):2497-504; и Wei, *et al., Int Immunopharmacol*. (2015) 27(2):238-43), дрожжевым вектором (Gane. *et al., J Hepatol*. (2019) Epub 2019/07/16. doi: 10.1016/j.jhep.2019.06.028. PubMed PMID: 31306680), а также некоторыми вирусными векторами (Cavenaugh, *et al., выше*; и Zoulim, *et al., Hum Vaccin Immunother*. (2019) Epub 2019/08/03. doi: 10.1080/21645515.2019.1651141. PubMed PMID: 31373537). Несмотря на эти многочисленные попытки, до сих пор ни один подход вакцинотерапии не продемонстрировал постоянного преимущества при хронической инфекции ВГВ (CHB). Нарушения в предшествующих подходах вакцинотерапии могут объяснить неблагоприятные исходы предшествующих подходов вакцинотерапии.

[0004] Такие нарушения включают ограничения в конфигурации антигена и применяемые технологии вакцины. Оптимальный антиген будет содержать высококонсервативные участки белков ВГВ и исключать низкоконсервативные области, поскольку высококонсервативные области могут индуцировать ответы против эпитопов, которые идентичны антигену вакцины и вирусу, присутствующему у проходящего лечение пациента, в то время как низкоконсервативные области могут вызывать иммунизирующие Т-клеточные ответы против эпитопов, которые не присутствуют в штамме вируса инфекции пациента (Swadling, *et al., Vaccines* (Basel). (2016) 4(3). Epub 2016/08/05. doi: 10.3390/vaccines4030027. PubMed PMID: 27490575). Однако в некоторых предшествующих вакцинах

используются конфигурации антигенов, которые не соответствуют этим критериям (Yalcin, *et al., J Clin Gastroenterol*. (2003) 37(4):330-5; Hoa, *et al., выше*; Yalcin, *et al., Infection*. (2003) 31(4):221-5; Mancini-Bourgine, *et al., выше*; Yang, *et al., J Viral Hepat*. (2012) 19(8):581-93; Cavenaugh, *et al., выше*; Godon, *et al., выше*; Gane. *et al., выше*; и Obeng-Adjei, *et al., Cancer Gene Ther*. (2013) 20(12):652-62). Кроме того, многие предшествующие вакцины не индуцировали полной комбинации вирус-специфических Т-клеток $CD4^+$, Т-клеток $CD8^+$ и ответов антител (Dikici, *et al., выше*; Pol, *et al., выше*; Vandepapeliere, *et al., выше*; Yalcin, *et al., J Clin Gastroenterol*. (2003) 37(4):330-5; Al-Mahtab, *выше*; Hoa, *et al., выше*; Yalcin, *et al., Infection*. (2003) 31(4):221-5; Mancini-Bourgine, *et al., выше*; Yang, *et al., J Viral Hepat*. (2012) 19(8):581-93; Gane. *et al., выше*; и Zoulim, *et al., выше*). Эти иммунные компоненты особенно важны для лечения хронической инфекции ВГБ, так как было показано, что $CD8^+$ Т-клетки являются основными эффекторными клетками, отвечающими за выведение вируса во время острой инфекции ВГВ у шимпанзе (Thimme, *et al., J Virol*. (2003) 77(1):68-76). Кроме того, антитела, которые связываются с поверхностным антигеном ВГВ (HBsAg), облегчают выведение HBsAg и предотвращают распространение остаточного ВГВ. Более того, высокий уровень иммуного ответа, вероятно, необходим для достижения терапевтического эффекта, но многие предшествующие вакцины от CHB не индуцируют такой устойчивый ответ (Mancini-Bourgine, *et al., выше*; Yang, *et al., J Viral Hepat*. (2012) 19(8):581-93; Cavenaugh, *et al., выше*; Gane. *et al., выше*; и Zoulim, *et al., выше*). Наконец, некоторые предшествующие вакцинные антигены CHB не были достаточно стабильными в векторах доставки для обеспечения промышленного производства вакцины.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0005] В одном аспекте предложены усеченные полипептиды полимеразы вируса гепатита B (ВГВ), например, способные индуцировать или вызывать иммунный ответ у человека при введении. В некоторых вариантах осуществления усеченный полипептид полимеразы ВГВ содержит инактивированный домен обратной транскриптазы и инактивированную РНазу H и не содержит весь домен концевого белка (TP) и весь спейсерный домен или его часть. В некоторых вариантах осуществления полипептид имеет длину не более 600 аминокислот, например, не более 595, 590, 585, 580, 575, 570, 565, 560, 555, 550, 545, 540 или 535 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления домен обратной транскриптазы не содержит мотив YMDD (SEQ ID NO: 97), а домен РНазы H не содержит мотив AELL (SEQ ID NO: 98). В некоторых вариантах осуществления мотив YMDD (SEQ ID NO: 97) в домене обратной транскриптазы мутирует в YMHD (SEQ ID NO: 99) и при этом мотив AELL (SEQ ID NO: 98) в домене РНазы H мутирует в AHLL (SEQ ID NO: 100). В некоторых вариантах осуществления полипептид принадлежит генотипу A, B, C или D ВГВ. В некоторых вариантах осуществления (a) полипептид принадлежит генотипу B ВГВ и не содержит полипептидную последовательность (например, последовательность исключена, удалена или не включена) SEQ ID NO: 50, или последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 50; или (b) полипептид принадлежит генотипу D ВГВ и не содержит полипептидную последовательность SEQ ID NO: 51, или последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 51. В некоторых вариантах осуществления усеченный полипептид полимеразы ВГВ содержит или состоит из аминокислотной последовательности любого

одного из SEQ ID NO: 13–14 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 13–14.

[0006] В другом аспекте предложены мутантные полипептиды полимеразы ВГВ с делецией. В некоторых вариантах осуществления изобретения мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией содержит последовательно от N-конца к С-концу, домен концевого белка (TP), инактивированный домен обратной транскриптазы и инактивированную РНазу Н, причем мутантный полипептид не содержит весь спейсерный домен или его часть. В некоторых вариантах осуществления полипептид имеет длину не более 800 аминокислот, например, не более 795, 790, 785, 780, 775, 770, 765, 760, 755, 750, 745, 740, 735, 730, 725, 720, 715, 710 или 705 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления домен обратной транскриптазы не содержит мотив YMDD (SEQ ID NO: 97), а домен РНазы Н не содержит мотив AELL (SEQ ID NO: 98). В некоторых вариантах осуществления мотив YMDD (SEQ ID NO: 97) в домене обратной транскриптазы мутирует в YMHD (SEQ ID NO: 99) и при этом мотив AELL (SEQ ID NO: 98) в домене РНазы Н мутирует в AHLL (SEQ ID NO: 100). В некоторых вариантах осуществления полипептид принадлежит генотипу A, B, C или D ВГВ. В некоторых вариантах осуществления (a) полипептид принадлежит генотипу А ВГВ и не содержит полипептид SEQ ID NO: 42 или 46 или последовательности, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 42 или 46; (b) полипептид принадлежит генотипу В ВГВ и не содержит полипептид SEQ ID NO: 43 или 47, или последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 43 или 47; (c) полипептид принадлежит генотипу С ВГВ и не содержит полипептид SEQ ID NO: 44 или 48, или последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 44 или 48; или (d) полипептид принадлежит генотипу D ВГВ и не содержит полипептид SEQ ID NO: 45 или 49, или последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 45 или 49. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией содержит или состоит из аминокислотной последовательности любого одного из SEQ ID NO: 5–12 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 5–12. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией дополнительно содержит (например, представляет собой слитый белок, включающий) капсидный полипептид ВГВ. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией содержит последовательно от N-конца к С-концу капсидный полипептид ВГВ и мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией содержит или состоит из аминокислотной последовательности любого одного из SEQ ID NO: 19–26 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 19–26.

[0007] В дополнительном аспекте предложен слитый белок капсид-sAg ВГВ. В некоторых вариантах осуществления слитый белок капсид-sAg содержит последовательно от N-конца к С-концу капсидный полипептид ВГВ и небольшой полипептид поверхностного антигена (sAg) ВГВ. В различных вариантах осуществления капсидный полипептид принадлежит генотипу В или С ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу С ВГВ. В некоторых вариантах осуществления капсидный полипептид принадлежит генотипу D ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу D ВГВ. В некоторых вариантах осуществления слитый белок капсид-sAg содержит: (a) капсидный полипептид, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 65 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 65, и полипептид sAg, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 3; или (b) капсидный полипептид, включающий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 66 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 66, и полипептид sAg, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах осуществления капсидный полипептид содержит остаток серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, и остаток аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg содержит остаток изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 53, остатка изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 125, остатка пролина (P) в аминокислотном положении, соответствующем положению 127, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 161, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 200, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 210, и остатка лейцина (L) в аминокислотном положении, соответствующем положению 213, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В различных вариантах осуществления полипептид sAg не содержит полипептида pre-S1. В различных вариантах осуществления полипептид sAg не содержит полипептида pre-S2. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg не содержит полипептида pre-S2 ВГВ, содержащего или состоящего из аминокислотной последовательности любого одного из SEQ ID NO: 79–83 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% и 99% идентична любой из SEQ ID NO: 79–83. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg не содержит ни полипептида pre-

S1 ВГВ, ни полипептида pre-S2 ВГВ. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg не содержит полипептида pre-S1-pre-S2 ВГВ, содержащего или состоящего из аминокислотной последовательности любого одного из SEQ ID NO: 84–88 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 84–88. В различных вариантах осуществления слитый белок капсид-sAg содержит расщепляемый линкер, функционально связанный с полипептидом ВГВ и расположенный между ним и полипептидом sAg ВГВ. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый линкер представляет собой расщепляемый 2A-пептид. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый линкер представляет собой расщепляемый 2A-пептид, выбранный из вируса ящура (F2A), вируса ринита лошадей (E2A), свиного тешовируса-1 (P2A) и вируса Thosea asigna (T2A). В некоторых вариантах осуществления расщепляемый линкер представляет собой линкер свиного тешовируса-1 (P2A). В некоторых вариантах осуществления расщепляемый линкер содержит или состоит из аминокислотной последовательности ATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 56), APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 57), QCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 58) или EGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO: 59) или аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или по меньшей мере на 99% идентична ATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 56), APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 57), QCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 58) или EGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO: 59). В некоторых вариантах осуществления расщепляемый линкер содержит или состоит из аминокислотной последовательности ATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 56), или аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или по меньшей мере на 99% идентична ATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 56). В некоторых вариантах осуществления слитый белок капсид-sAg содержит гибкий линкер и/или участок распознавания/расщепления фурина, функционально связанный с расщепляемым линкером и расположенный к нему N-концом, а также капсидным полипептидом ВГВ и расположенный к нему С-концом. В некоторых вариантах осуществления участок распознавания/расщепления фурина содержит или состоит из аминокислотной последовательности, выбранной из RAKR (SEQ ID NO: 60), REKR (SEQ ID NO: 61) и RRKR (SEQ ID NO: 62). В некоторых вариантах осуществления гибкий линкер содержит последовательность полиглицина или полиаланина. В некоторых вариантах осуществления гибкий линкер содержит или состоит из последовательности полиглицина или полиаланина, выбранной из AA, AAA, AAY, GG, GGG, GGS, GSG и GGGS (SEQ ID NO: 63). В некоторых вариантах осуществления слитый белок капсид-sAg имеет длину не более 450 аминокислот, например, не более 445, 440, 435, 430, 425, 420, 415 или 410 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления слитый белок капсид-sAg содержит или состоит из аминокислотной последовательности любого одного из SEQ ID NO: 38–41, например, SEQ ID NO: 41 или последовательности, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 38–41, например, SEQ ID NO:41. В некоторых вариантах осуществления слитый полипептид содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, остатка аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, остатка валина (V) в аминокислотном положении, соответствующем положению 74, остатка фенилаланина

(F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 97, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 249, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 250, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 317, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 318, остатка аргинина (R) в аминокислотном положении, соответствующем положению 326, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 338, остатка глицина (G) в аминокислотном положении, соответствующем положению 363, и остатка аланина (A) в аминокислотном положении, соответствующем положению 372, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:41. В различных вариантах осуществления слитый полипептид капсид-sAg не содержит аминопоследовательность или ее фрагмент из белка ВГВ, выбранного из группы, состоящей из X, предкапсида, pre-S1 и pre-S2.

[0008] Что касается иммуногенных полипептидов ВГВ, в некоторых вариантах осуществления усеченный полипептид полимеразы ВГВ, мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией или слитый белок капсид-sAg, как описано в настоящем документе, дополнительно содержит N-концевой сигнальный пептид или лидерную последовательность. В различных вариантах осуществления сигнальный пептид или лидерная последовательность принадлежит исходному белку, выбранному из сывороточного белка, цитокина, хемокина, белка-шаперона, инвариантного белка и белка, который направляет белки в лизосомальный компартмент. В различных вариантах осуществления сигнальный пептид или лидерная последовательность принадлежит исходному белку, выбранному из колониестимулирующего фактора 2 (CSF2, GM-CSF), тканевого активатора плазминогена (PLAT, t-PA), хемокинового лиганда 7 с мотивом C-C (CCL7, MCP-3), хемокинового лиганда 10 с мотивом C-X-C (CXCL10, IP-10), катенин бета-1 (CTNNB1), CD74 (p33; DHLAG; HLADG; Ia-ГАММА, инвариантная цепь), сывороточного альбумина (ALB), полиубиквитина B/C (UBB/UBC), кальретикулина (CALR), белка G вируса везикулярного стоматита (VSV-G), лизосом-ассоциированного мембранного белка 1 (LAMP-1) и лизосом-ассоциированного мембранного белка 2 (LAMP-2). В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид или лидерная последовательность выбрана из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 67–78 или последовательности, которая по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 67–78. В различных вариантах осуществления усеченный полипептид полимеразы, полипептид ВГВ, мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией и/или слитый белок капсид-sAg, как описано в настоящем документе, могут быть рекомбинантно продуцированы или химически синтезированы. В различных вариантах осуществления усеченный полипептид полимеразы ВГВ, мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией и/или слитый белок капсид-sAg, как описано в настоящем документе, способны индуцировать, активировать или стимулировать иммунный ответ (например, размножение и/или активацию Т-клеток CD8+ и/или CD4+; получение антител, которые связываются с и/или нейтрализуют одно или более из полимеразы ВГВ, капсида ВГВ и sAg ВГВ) у человека. В различных вариантах осуществления усеченный полипептид полимеразы ВГВ, мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией и/или слитый белок капсид-sAg, как описано в настоящем документе, способны индуцировать, активировать или стимулировать иммунный ответ против ВГВ (например, который предотвращает, задерживает прогрессирование, ингибирует и/или

вызывает обратное развитие инфекции ВГВ) у человека. В различных вариантах осуществления усеченный полипептид полимеразы ВГВ, мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией и/или слитый белок капсид-sAg, как описано в настоящем документе, способны индуцировать, активировать или стимулировать пролиферацию и/или активацию одного или более типов клеток, выбранных из моноцитарных дендритных клеток (DC), Т-клеток CD8+ и Т-клеток CD4+.

[0009] В дополнительном аспекте предложены полинуклеотиды, кодирующие иммуногенные полипептиды ВГВ, как описано в настоящем документе. Например, предложены полинуклеотиды, кодирующие одно или более из усеченного полипептида полимеразы ВГВ, мутантного полипептида полимеразы ВГВ с делецией или слитого белка капсид-sAg, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит кДНК, мРНК, самоамплифицирующуюся РНК (SAM), самореплицирующуюся РНК или самоамплифицирующийся РНК-репликон (RepRNA). В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит самореплицирующиеся или самоамплифицирующиеся альфавирусные репликоны. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 27–37, например, SEQ ID NO: 37 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92, или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 27–37, например, SEQ ID NO:37 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92.

[0010] В другом аспекте предложена липидная наночастица (LNP), содержащая один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуногенный полипептид ВГВ, как описано в настоящем документе.

[0011] В другом аспекте предложены экспрессионные кассеты, содержащие один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуногенный полипептид ВГВ, как описано в настоящем документе, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид функционально связан с конститутивным промотором и контролируется им. В некоторых вариантах осуществления промотор выбран из основного предраннего цитомегаловируса (CMV), энхансера CMV, слитого с промотором бета-актина кур (CAG), фактора элонгации человека-1α (HEF-1α), цитомегаловируса мыши (CMV мыши), фактора элонгации-1α китайского хомячка (CHEF-1α) и фосфоглицераткиназы (PGK).

[0012] В другом аспекте предложены один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуногенный полипептид ВГВ, как описано в настоящем документе, или одна или более экспрессионных кассет, содержащих такие полинуклеотиды. В различных вариантах осуществления вектор представляет собой плазмидный вектор, бактериальный вектор или вирусный вектор. В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой вирусный вектор. В различных вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой ДНК-вирус или РНК-вирус. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой вирус, выбранный из аденовируса, аденоассоциированного вируса, аренавируса, альфавируса, поксвируса, цитомегаловируса, рабдовируса, вируса везикулярного стоматита, флавивируса, вируса Мараба и вируса осповакцины. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получен из вируса из таксономического семейства, выбранного из аденовирусов, аренавирусов, вирусов герпеса (например,

цитомегаловирус), поксвирусов (например, вирус осповакцины, например, модифицированный вирус осповакцины Анкара (MVA), флавивирусов (например, вирус желтой лихорадки), рабдовирусов (например, везикуловирус, например, везикуловирус Мараба), тогавирусов (например, альфавирус). В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой аренавирусный вектор, выбранный из маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), маммаренавируса Кали (также известного как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)), вируса Гуанарито (GTOV), вируса Хунин (JUNV), вируса Ласса (LASV), вируса Луйо (LUJV), вируса Мачупо (MACV), вируса Сабиа (SABV) и маммаренавируса Уайтуотера Арройо (WWAV). В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой аренавирусный вектор, выбранный из маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) или маммаренавируса Кали (LCMV) (также известного как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)). В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой аденовирус человека или аденовирус обезьян (например, аденовирус шимпанзе, аденовирус гориллы или аденовирус резус-макака). В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой вектор аденовируса, выбранный из аденовируса серотипа 5 (Ad5), аденовируса серотипа 26 (Ad26), аденовируса серотипа 34 (Ad34), аденовируса серотипа 35 (Ad35), аденовируса серотипа 48 (Ad48), аденовируса шимпанзе (например, ChAdOx1, ChAdOx2, ChAd3 (AdC3), ChAd5 (AdC5), ChAd6 (AdC6), ChAd7 (AdC7), ChAd8 (AdC8), ChAd9 (AdC9), ChAd10 (AdC10), ChAd11 (AdC11), ChAd17 (AdC17), ChAd16 (AdC16), ChAd19 (AdC19), ChAd20 (AdC20), ChAd22 (AdC22), ChAd24 (AdC24), ChAdY25, ChAd26 (AdC26), ChAd28 (AdC28), ChAd30 (AdC30), ChAd31 (AdC31), ChAd37 (AdC37), ChAd38 (AdC38), ChAd43 (AdC43), ChAd44 (AdC44), ChAd55 (AdC55), ChAd63 (AdC63), ChAdV63, ChAd68 (AdC68), ChAd73 (AdC73), ChAd82 (AdC82), ChAd83 (AdC83), ChAd143 (AdC143), ChAd144 (AdC144), ChAd145 (AdC145), ChAd147 (AdC147)), аденовируса гориллы (например, GC44, GC45, GC46) и аденовируса резус-макака (например, RhAd51, RhAd52, RhAd53, RhAd54, RhAd55, RhAd56, RhAd57, RhAd58, RhAd59, RhAd60, RhAd61, RhAd62, RhAd63, RhAd64, RhAd65, RhAd66). В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор является репликационно-дефектным, репликационно-дефицитным, репликационно-аттенуированным или репликационно-компетентным. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой репликационно-дефектный аренавирус, имеющий геном из двух сегментов. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор представляет собой репликационно-аттенуированный аренавирус, имеющий геном из трех сегментов.

[0013] В дополнительном аспекте предложены векторы аренавируса. В одном варианте осуществления предложен вектор аренавируса, содержащий полинуклеотид, кодирующий слитый полипептид капсид-sAg ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41, например, SEQ ID NO:41 или последовательности, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 38–41, например, SEQ ID NO:41, и при этом полипептид sAg не содержит полипептид pre-S1 ВГВ и/или полипептид pre-S2 ВГВ. В некоторых вариантах осуществления капсидный полипептид содержит остаток серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, и остаток аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66. В некоторых вариантах

осуществления полипептид sAg содержит остаток изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 53, остатка изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 125, остатка пролина (P) в аминокислотном положении, соответствующем положению 127, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 161, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 200, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 210, и остатка лейцина (L) в аминокислотном положении, соответствующем положению 213, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления слитый полипептид капсид-sAg содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, остатка аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, остатка валина (V) в аминокислотном положении, соответствующем положению 74, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 97, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 249, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 250, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 317, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 318, остатка аргинина (R) в аминокислотном положении, соответствующем положению 326, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 338, остатка глицина (G) в аминокислотном положении, соответствующем положению 363, и остатка аланина (A) в аминокислотном положении, соответствующем положению 372, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:41. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 33–37, или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 33–37. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37, или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах осуществления вектор аренавируса имеет геном из двух сегментов и дополнительно содержит полинуклеотид, кодирующий усеченную полимеразу ВГВ, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 13–14 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 13–14, и при этом усеченная полимераза ВГВ не содержит весь домен концевого белка (TP) полимеразы ВГВ и не содержит весь спейсерный домен полимеразы ВГВ или его часть. В некоторых вариантах осуществления усеченная полимераза ВГВ не содержит полипептидную последовательность SEQ ID NO: 50 или SEQ ID NO:51, или последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 50 или SEQ ID NO: 51. В

некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 29 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92, или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 29 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92. В некоторых вариантах осуществления вектор аренавируса представляет собой вектор маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), а полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 29, или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 29. В некоторых вариантах осуществления вектор аренавируса представляет собой вектор маммаренавируса Кали (также известного как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)), а полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 90 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 90.

[0014] Дополнительно предложен аренавирусный вектор, содержащий полинуклеотид, кодирующий усеченную полимеразу ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 13–14 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 13–14, и при этом усеченная полимераза ВГВ не содержит весь домен концевого белка (TP) полимеразы ВГВ и не содержит весь спейсерный домен полимеразы ВГВ или его часть. В некоторых вариантах осуществления усеченная полимераза ВГВ не содержит полипептидную последовательность SEQ ID NO: 50 или SEQ ID NO:51, или последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 50 или SEQ ID NO: 51. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 29 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 29 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92. В некоторых вариантах осуществления вектор аренавируса представляет собой вектор маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), а полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 29, или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 29. В некоторых вариантах осуществления вектор аренавируса представляет собой вектор маммаренавируса Кали, а полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 90, или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 90. В некоторых вариантах осуществления вектор аренавируса является репликационно-дефектным, репликационно-дефицитным или репликационно-некомпетентным.

[0015] В дополнительном аспекте предложены клетки-хозяева, содержащие один или более полинуклеотидов, кодирующих один или более иммуногенных полипептидов ВГВ, как описано в настоящем документе, или один или более векторов, содержащих такие полинуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления один или более полинуклеотидов, кодирующих один или более иммуногенных полипептидов ВГВ, как описано в настоящем документе, не интегрированы в геном клетки-хозяина, например, являются эписомными. В некоторых вариантах осуществления один или более полинуклеотидов интегрированы в геном клетки-хозяина. В некоторых вариантах осуществления клетка-хозяин представляет собой клетку млекопитающего, например, клетку человека. В различных вариантах осуществления клетка-хозяин может быть *in vitro* или *in vivo*.

[0016] В другом аспекте предложены иммуногенные композиции, содержащие один или более иммуногенных полипептидов ВГВ, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит один или более, например два или более, усеченных полипептидов полимеразы ВГВ, один или более, например два или более, мутантных полипептидов полимеразы ВГВ с делецией и/или один или более, например два или более, слитых белков капсид-sAg, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит один или более, например два или более, полинуклеотидов, кодирующих один или более, например два или более, усеченных полипептидов полимеразы ВГВ, один или более, например два или более, мутантных полипептидов полимеразы ВГВ с делецией и/или один или более, например два или более, слитых белков капсид-sAg, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит один или более, например два или более, один или более, например два или более, векторов, содержащих один или более, например два или более, полинуклеотидов, кодирующих один или более, например два или более, усеченных полипептидов полимеразы ВГВ, один или более, например два или более, мутантных полипептидов полимеразы ВГВ с делецией и/или один или более, например два или более, слитых белков капсид-sAg, как описано в настоящем документе. иммуногенные композиции дополнительно содержат фармацевтически приемлемый носитель. В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит один или более полинуклеотидов в форме ДНК, кДНК, мРНК или самореплицирующейся РНК. В различных вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий усеченный полипептид полимеразы ВГВ или мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией, как описано в настоящем документе; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, как описано. В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 5–14 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 5–14; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий или состоящий из

аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 38–41. В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 13–14 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 13–14; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 38–41. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции содержат первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 13; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 41. В некоторых вариантах осуществления капсидный полипептид содержит остаток серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, и остаток аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg содержит остаток изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 53, остатка изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 125, остатка пролина (P) в аминокислотном положении, соответствующем положению 127, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 161, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 200, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 210, и остатка лейцина (L) в аминокислотном положении, соответствующем положению 213, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления слитый полипептид капсид-sAg содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, остатка аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, остатка

валина (V) в аминокислотном положении, соответствующем положению 74, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 97, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 249, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 250, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 317, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 318, остатка аргинина (R) в аминокислотном положении, соответствующем положению 326, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 338, остатка глицина (G) в аминокислотном положении, соответствующем положению 363, и остатка аланина (A) в аминокислотном положении, соответствующем положению 372, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:41. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные композиции содержат первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 27–32 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 27–32 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 33–37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 33–37. В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 29 или 90 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 29 или 90; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 37. В различных вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор независимо происходят из таксономического семейства, выбранного из аденовирусов, аренавирусов, вирусов герпеса (например, цитомегаловирус), поксвирусов (например, вирус осповакцины, например, модифицированный вирус осповакцины Анкара (MVA)), флавивирусов (например, вирус желтой лихорадки), рабдовирусов (например, везикуловирус, например, везикуловирус Мараба), тогавирусов (например, альфавирус). В различных вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор в иммуногенной композиции могут происходить из того же таксономического семейства или различных таксономических семейств. В некоторых вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор в иммуногенной композиции происходят из аренавирусов. В некоторых вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный

экспрессионный вектор в иммуногенной композиции независимо происходят из вектора аренавируса, выбранного из маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), маммаренавируса Кали (также известного как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)), вируса Гуанарито (GTOV), вируса Хунин (JUNV), вируса Ласса (LASV), вируса Луйо (LUJV), вируса Мачупо (MACV), вируса Сабиа (SABV) и вируса Уайтуотера Арройо (WWAV). В некоторых вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор независимо происходят из вектора аренавируса, выбранного из маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) или маммаренавируса Кали (LCMV) (также известного как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)). В некоторых вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор являются репликационно-дефектными или репликационно-дефицитными. В некоторых вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор являются репликационно-аттенуированными. Согласно некоторым вариантам осуществления иммуногенная композиция содержит первый экспрессионный вектор аренавируса LCMV и второй экспрессионный вектор аренавируса LCMV, причем: (a) первый экспрессионный вектор аренавируса LCMV содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 29 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 29; и (b) второй экспрессионный вектор аренавируса LCMV содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит первый экспрессионный вектор аренавируса Пичинде и второй экспрессионный вектор аренавируса Пичинде, причем: (a) первый экспрессионный вектор аренавируса Пичинде содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 90 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 90; и (b) второй экспрессионный вектор аренавируса Пичинде содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 37. В различных вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор предложены в иммуногенной композиции в соотношении в диапазоне от 1 : 10 до 10 : 1, например, от 1 : 9 до 9 : 1, от 1 : 8 до 8 : 1, от 1 : 7 до 7 : 1, от 1 : 6 до 6 : 1, от 1 : 5 до 5 : 1, от 1 : 4 до 4 : 1, от 1 : 3 до 3 : 1, от 1 : 2 до 2 : 1 или 1 : 1. В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит в диапазоне от около 10^3 до около 10^{12} вирусных фокус-образующих единиц (ФОЕ) или бляшкообразующих единиц (БОЕ) или инфекционных единиц (ИЕ) или вирусных частиц (ВЧ) на миллилитр, например, от около 10^4 до около 10^7 вирусных ФОЕ или БОЕ, или ИЕ, или ВЧ на миллилитр, например, от около 10^3 до около 10^4, 10^5, 10^6, 10^7, 10^8, 10^9, 10^{10}, 10^{11} или 10^{12} вирусных ФОЕ, или БОЕ, или ИЕ, или ВЧ на миллилитр, каждого из первого вирусного экспрессионного вектора и второго вирусного

экспрессионного вектора. В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция дополнительно содержит одно или более из адъюванта, детергента, мицеллообразователя и масла. В различных вариантах осуществления иммуногенная композиция составлена для введения способом, выбранным из внутривенного, внутримышечного, внутридермального, подкожного и мукозального (например, трансбуккального, интраназального, интраректального, интравагинального). В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция представляет собой водный раствор или суспензию, например, составлена как жидкость. В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция лиофилизирована.

[0017] В дополнительном аспекте предложены наборы. В различных вариантах осуществления набор содержит одну или более, например две или более, единичных доз одного или более, например двух или более, усеченных полипептидов полимеразы ВГВ, один или более, например два или более, мутантных полипептидов полимеразы ВГВ с делецией и/или один или более, например два или более, слитых белков капсид-sAg, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления набор содержит одну или более, например две или более, единичных доз одного или более, например двух или более, полинуклеотидов, кодирующих один или более, например два или более, усеченных полипептидов полимеразы ВГВ, один или более, например два или более, мутантных полипептидов полимеразы ВГВ с делецией и/или один или более, например два или более, слитых белков капсид-sAg, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления набор содержит одну или более, например, две или более единичных доз одного или более, например двух или более, векторов, содержащих один или более, например два или более, полинуклеотидов, кодирующих один или более, например два или более, усеченных полипептидов полимеразы ВГВ, один или более, например два или более, мутантных полипептидов полимеразы ВГВ с делецией и/или один или более, например два или более, слитых белков капсид-sAg, как описано в настоящем документе. В различных вариантах осуществления набор содержит одну или более, например две или более, единичных доз одной или более, например двух или более, иммуногенных композиций, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления одна или более единичных доз в наборе находятся в одном контейнере. В некоторых вариантах осуществления одна или более единичных доз в наборе находятся в двух или более отдельных контейнерах. В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или более контейнеров, выбранных из флаконов, ампул и предварительно заполненных шприцев. В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или более контейнеров, содержащих один или более полипептидов, один или более полинуклеотидов, один или более векторов или одну или более иммуногенных композиций в водном растворе или суспензии, или в виде лиофилизированного препарата. В различных вариантах осуществления одна или более единичных доз могут быть одинаковыми или разными. В некоторых вариантах осуществления набор содержит одну или более единичных доз одного или более вирусных векторов, как описано в настоящем документе, причем единичные дозы находятся в диапазоне от около 10^3 до около 10^{12} вирусных фокус-образующих единиц (ФОЕ), или бляшкообразующих единиц (БОЕ), или инфекционных единиц (ИЕ), или вирусных частиц (ВЧ), например, от около 10^4 до около 10^7 вирусных ФОЕ, или БОЕ, или ИЕ, или ВЧ на миллилитр, например, от около 10^3 до около 10^4, 10^5, 10^6, 10^7, 10^8, 10^9, 10^{10}, 10^{11} или 10^{12} вирусных ФОЕ, или БОЕ, или ИЕ, или ВЧ. В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или

более полинуклеотидов, кодирующих, или один или более векторов, экспрессирующих, или иммуногенную композицию, содержащую по меньшей мере два иммуногенных полипептида, причем иммуногенные полипептиды содержат: (a) мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 5–14 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 5–14; и (b) слитый белок капсид-sAg ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 38–41. В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих, или один или более векторов, экспрессирующих, или иммуногенную композицию, содержащую по меньшей мере два иммуногенных полипептида, причем иммуногенные полипептиды содержат: (a) мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 13–14 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 13–14; и (b) слитый белок капсид-sAg ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 38–41. В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих, или один или более векторов, экспрессирующих, или иммуногенную композицию, содержащую по меньшей мере два иммуногенных полипептида, причем иммуногенные полипептиды содержат: (a) мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 13; и (b) слитый белок капсид-sAg ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 41. В некоторых вариантах осуществления капсидный полипептид содержит остаток серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, и остаток аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg содержит остаток изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 53, остатка изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 125, остатка пролина (P) в аминокислотном положении, соответствующем положению 127, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 161, остатка тирозина (Y) в

аминокислотном положении, соответствующем положению 200, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 210, и остатка лейцина (L) в аминокислотном положении, соответствующем положению 213, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления слитый полипептид капсид-sAg содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, остатка аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, остатка валина (V) в аминокислотном положении, соответствующем положению 74, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 97, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 249, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 250, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 317, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 318, остатка аргинина (R) в аминокислотном положении, соответствующем положению 326, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 338, остатка глицина (G) в аминокислотном положении, соответствующем положению 363, и остатка аланина (A) в аминокислотном положении, соответствующем положению 372, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:41. В некоторых вариантах осуществления набор содержит первый и второй векторы, кодирующие первый и второй иммуногенные полипептиды, соответственно, причем первый и второй иммуногенные полипептиды содержат соответственно: (a) мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 13; и (b) слитый белок капсид-sAg ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 41. В некоторых вариантах осуществления набор содержит первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 27–32 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 27–32 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 33–37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 33–37. В некоторых вариантах осуществления набор содержит первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 29 или 90 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 29 или 90; и (b) второй вирусный

экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах осуществления набор содержит одну или более единичных доз иммуногенной композиции, содержащих первый и второй вирусные экспрессионные векторы, как описано в настоящем документе, причем первый и второй вирусные экспрессионные векторы содержат репликационно-дефицитный или репликационно-дефектный маммаренавирус Кали (также известный как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)). В некоторых вариантах осуществления набор содержит одну или более единичных доз иммуногенной композиции, содержащих первый и второй вирусные экспрессионные векторы, как описано в настоящем документе, причем первый и второй вирусные экспрессионные векторы содержат репликационно-дефицитный, репликационно-дефектный маммаренавирус лимфоцитарного хориоменингита (LCMV). В некоторых вариантах осуществления набор содержит (a) одну или более единичных доз иммуногенной композиции, как описано в настоящем документе, причем первый и второй вирусные экспрессионные векторы происходят из семейства аденовирусов; и (b) одну или более единичных доз иммуногенной композиции, как описано в настоящем документе, причем первый и второй вирусные экспрессионные векторы происходят из семейства поксвирусов (например, вирус осповакцины, например, модифицированный вирус осповакцины Анкара (MVA)). В некоторых вариантах осуществления набор содержит (a) одну или более единичных доз иммуногенной композиции, как описано в настоящем документе, причем первый и второй вирусные экспрессионные векторы происходят из семейства аренавирусов; и (b) одну или более единичных доз иммуногенной композиции, как описано в настоящем документе, причем первый и второй вирусные экспрессионные векторы происходят из семейства аденовирусов; В некоторых вариантах осуществления набор содержит первый экспрессионный вектор аренавируса LCMV и второй экспрессионный вектор аренавируса LCMV, причем: (a) первый экспрессионный вектор аренавируса LCMV содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 29 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 29; и (b) второй экспрессионный вектор аренавируса LCMV содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах осуществления набор содержит первый экспрессионный вектор аренавируса Пичинде и второй экспрессионный вектор аренавируса Пичинде, причем: (a) первый экспрессионный вектор аренавируса Пичинде содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 90 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 90; и (b) второй экспрессионный вектор аренавируса Пичинде содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 37.

В различных вариантах осуществления набор дополнительно содержит одну или более единичных доз одного или более дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более агонистов или активаторов одного или более Toll-подобных рецепторов (TLR). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более агонистов или активаторов TLR, выбранных из: агониста TLR2, агониста TLR3, агониста TLR4, агониста TLR5, агониста TLR7, агониста TLR8 и агониста TLR9. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит агонист TLR7, выбранный из GS 9620 (везатолимод), R848 (резиквимод), DS-0509, LHC-165 и TMX-101 (имиквимод). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит агонист TLR8, выбранный из GS-9688, R848 (резиквимод) и NKTR-262 (двойной агонист TLR7/TLR8). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более агонистов рецептора интерлейкина рецептора интерлейкина, выбранного из IL-2, IL-7, IL-12 и IL-15. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более цитокинов, выбранных из IL-2, IL-7, IL-12, IL-15 и их вариантов. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более врожденных активаторов иммунитета. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более врожденных активаторов иммунитета, содержащих агонист рецептора, выбранный из тирозинкиназы 3 (FLT3), рецептора стимулятора генов интерферона (STING), рецептора интерферона, DExD/H-бокс хеликазы 58 (DDX58; также известной как RIG-I), нуклеотидсвязывающего олигомеризационного домена, содержащего белок 2 (NOD2). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит одну или более единичных доз GS-3583 и/или GS-9992. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более антагонистов или ингибиторов белка или рецептора ингибирующих иммунных контрольных точек и/или один или более активаторов или агонистов белка или рецептора симулирующих иммунных контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более белков или рецепторов иммуной контрольной точки, выбранных из CD27, CD70; CD40, CD40LG; CD47, CD48 (SLAMF2), содержащий трансмембранный и иммуноглобулиновый домен белок 2 (TMIGD2, CD28H), CD84 (LY9B, SLAMF5), CD96, CD160, MS4A1 (CD20), CD244 (SLAMF4); CD276 (B7H3); ингибитор 1 активации Т-клеток, содержащий вариабельный иммуноглобулиноподобный домен (VTCN1, B7H4); V-set домен-содержащий иммунорегуляторный рецептор (VSIR, B7H5, VISTA); член 11 суперсемейства иммуноглобулинов (IGSF11, VSIG3); лиганд 1 рецептора цитотоксичности натуральных клеток-киллеров 3 (NCR3LG1, B7H6); HERV-H LTR-ассоциированный белок 2 (HHLA2, B7H7); индуцибельный костимулятор Т-клеток (ICOS, CD278); лиганд индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOSLG, B7H2); члена 4 суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF4, OX40); члена 4 суперсемейства TNF (TNFSF4, OX40L); TNFRSF8 (CD30), TNFSF8 (CD30L); TNFRSF10A (CD261, DR4, TRAILR1), TNFRSF9 (CD137), TNFSF9 (CD137L); TNFRSF10B (CD262, DR5, TRAILR2), TNFRSF10 (TRAIL); TNFRSF14 (HVEM, CD270), TNFSF14 (HVEML); CD272 (ассоциированный с В- и Т-лимфоцитами белок (BTLA)); TNFRSF17 (BCMA, CD269), TNFSF13B (BAFF); TNFRSF18 (GITR), TNFSF18 (GITRL); последовательность А, родственная полипептиду МНС класса I (MICA); последовательность В, родственная полипептиду МНС класса I (MICB); CD274 (CD274, PDL1, PD-L1); белок программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1, PD1, PD-1); ассоциированный с цитотоксическими Т-

лимфоцитами белок 4 (CTLA4, CD152); CD80 (B7-1), CD28; молекулы клеточной адгезии-2 нектин (NECTIN2, CD112); CD226 (DNAM-1); молекула клеточной адгезии рецептора полиовируса (PVR) (PVR, CD155); родственный PVR белок, содержащий иммуноглобулиновый домен, (PVRIG, CD112R); Т-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITIM (TIGIT); белок-4, содержащий домен иммуноглобулина Т-клеток и домен муцина (TIMD4; TIM4); клеточный рецептор 2 вируса гепатита А (HAVCR2, TIMD3, TIM3); галектин 9 (LGALS9); белок гена активации лимфоцитов 3 (LAG3, CD223); член 1 семейства сигнальных лимфоцит-активирующих молекул (SLAMF1, SLAM, CD150); антиген лимфоцита 9 (LY9, CD229, SLAMF3); член 6 семейства SLAM (SLAMF6, CD352); член 7 семейства SLAM (SLAMF7, CD319); Ul16-связывающий белок 1 (ULBP1); UL16-связывающий белок 2 (ULBP2); UL16-связывающий белок 3 (ULBP3); ранний транскрипт ретиноевой кислоты 1E (RAET1E; ULBP4); ранний транскрипт ретиноевой кислоты 1G (RAET1G; ULBP5); ранний транскрипт ретиноевой кислоты 1L (RAET1L; ULBP6); белок гена активации лимфоцитов 3 (CD223); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR, CD158E1); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C1 (KLRC1, NKG2A, CD159A); лектинподобный рецептор клеток-киллеров K1 (KLRK1, NKG2D, CD314); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C2 (KLRC2, CD159c, NKG2C); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C3 (KLRC3, NKG2E); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C4 (KLRC4, NKG2F); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR2DL1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 2 (KIR2DL2); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 3 (KIR2DL3); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR3DL1); лектинподобный рецептор клеток-киллеров D1 (KLRD1); и член 7 семейства SLAM (SLAMF7). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более блокаторов или ингибиторов одного или более белков или рецепторов Т-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более белков или рецепторов Т-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек, выбранных из CD274 (CD274, PDL1, PD-L1); лиганд 2 белка программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1LG2, PD-L2, CD273); белок программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1, PD1, PD-1); ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA4, CD152); CD276 (B7H3); ингибитор 1 активации Т-клеток, содержащий вариабельный иммуноглобулиноподобный домен (VTCN1, B7H4); V-set домен-содержащий иммунорегуляторный рецептор (VSIR, B7H5, VISTA); член 11 суперсемейства иммуноглобулинов (IGSF11, VSIG3); TNFRSF14 (HVEM, CD270), TNFSF14 (HVEML); CD272 (ассоциированный с B- и Т-лимфоцитами белок (BTLA)); родственный PVR белок, содержащий иммуноглобулиновый домен, (PVRIG, CD112R); Т-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITIM (TIGIT); белок гена активации лимфоцитов 3 (LAG3, CD223); клеточный рецептор 2 вируса гепатита А (HAVCR2, TIMD3, TIM3); галектин 9 (LGALS9); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR, CD158E1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR2DL1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический

хвост 2 (KIR2DL2); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 3 (KIR2DL3); и иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR3DL1). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более агонистов или активаторов одного или более белков или рецепторов Т-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более белков или рецепторов Т-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек, выбранных из CD27, CD70; CD40, CD40LG; индуцибельный костимулятор Т-клеток (ICOS, CD278); лиганд индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOSLG, B7H2); члена 4 суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF4, OX40); члена 4 суперсемейства TNF (TNFSF4, OX40L); TNFRSF9 (CD137), TNFSF9 (CD137L); TNFRSF18 (GITR), TNFSF18 (GITRL); CD80 (B7-1), CD28; молекулы клеточной адгезии-2 нектин (NECTIN2, CD112); CD226 (DNAM-1); молекулы клеточной адгезии рецептора полиовируса (PVR) (PVR, CD155). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит одну или более единичных доз AGEN-2373 и/или AGEN-1223. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более блокаторов или ингибиторов одного или более белков или рецепторов NK-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более белков или рецепторов NK-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек, выбранных из иммуноглобулиноподобного рецептора клеток-киллеров, трех доменов Ig и длинного цитоплазматического хвоста 1 (KIR, CD158E1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR2DL1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 2 (KIR2DL2); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 3 (KIR2DL3); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR3DL1); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C1 (KLRC1, NKG2A, CD159A); и лектинподобный рецептор клеток-киллеров D1 (KLRD1, CD94). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более агонистов или активаторов одного или более белков или рецепторов NK-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более белков или рецепторов NK-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек, выбранных из CD16, CD226 (DNAM-1); лектинподобный рецептор клеток-киллеров K1 (KLRK1, NKG2D, CD314); и член 7 семейства SLAM (SLAMF7). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более белковых ингибиторов PD-L1 (CD274), PD-1 (PDCD1) и/или CTLA4. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более белковых ингибиторов CTLA4, выбранных из ипилимумаба, тремелимумаба, BMS-986218, AGEN1181, AGEN1884, BMS-986249, MK-1308, REGN-4659, ADU-1604, CS-1002, BCD-145, APL-509, JS-007, BA-3071, ONC-392, AGEN-2041, JHL-1155, KN-044, CG-0161, ATOR-1144, PBI-5D3H5, FPT-155 (CTLA4/PD-L1/CD28), PF-06936308 (PD-1/ CTLA4), MGD-019 (PD-1/CTLA4), KN-046 (PD-1/CTLA4), MEDI-5752 (CTLA4/PD-1), XmAb-20717 (PD-1/CTLA4) и AK-104 (CTLA4/PD-1). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более белковых ингибиторов PD-L1 (CD274) или PD-1 (PDCD1), выбранных из зимберелимаба (AB122), пембролизумаба, ниволумаба, цемиплимаба, пидилизумаба, AMP-224, MEDI0680 (AMP-

514), спартализумаба, атезолизумаба, авелумаба, ASC22, дурвалумаба, BMS-936559, CK-301, PF-06801591, BGB-A317 (тислелизумаба), GLS-010 (WBP-3055), AK-103 (HX-008), AK-105, CS-1003, HLX-10, MGA-012, BI-754091, AGEN-2034, JS-001 (торипалимаба), JNJ-63723283, генолимзумаба (CBT-501), LZM-009, BCD-100, LY-3300054, SHR-1201, SHR-1210 (камрелизумаба), Sym-021, ABBV-181, PD1-PIK, BAT-1306, (MSB0010718C), CX-072, CBT-502, TSR-042 (достарлимаба), MSB-2311, JTX-4014, BGB-A333, SHR-1316, CS-1001 (WBP-3155, KN-035, IBI-308 (синтилимаба), HLX-20, KL-A167, STI-A1014, STI-A1015 (IMC-001), BCD-135, FAZ-053, TQB-2450, MDX1105-01, FPT-155 (CTLA4/PD-L1/CD28), PF-06936308 (PD-1/ CTLA4), MGD-013 (PD-1/LAG-3), FS-118 (LAG-3/PD-L1) MGD-019 (PD-1/CTLA4), KN-046 (PD-1/CTLA4), MEDI-5752 (CTLA4/PD-1), RO-7121661 (PD-1/TIM-3), XmAb-20717 (PD-1/CTLA4), AK-104 (CTLA4/PD-1), M7824 (PD-L1/TGFβ-EC domain), CA-170 (PD-L1/VISTA), CDX-527 (CD27/PD-L1), LY-3415244 (TIM3/PDL1) и INBRX-105 (4-1BB/PDL1). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более низкомолекулярных ингибиторов CD274 (PDL1, PD-L1), белок программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1, PD1, PD-1) и/или CTLA4. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более низкомолекулярных ингибиторов CD274 или PDCD1, выбранных из GS-4224, GS-4416, INCB086550 и MAX10181. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит низкомолекулярный ингибитор CTLA4, BPI-002. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более противовирусных агентов. В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более противовирусных агентов, выбранных из ламивудина (LAM), адефовира дипивоксила (ADV), энтекавира (ETV), телбивудина (LdT), тенофовира дизопроксил фумарата (TDF), тенофовира алафенамида (TAF или VEMLIDY®) и ледипасвира + софосбувира (HARVONI®). В некоторых вариантах осуществления набор дополнительно содержит один или более терапевтических агентов, выбранных из ингибиторов антигена ВГВ (например, ингибиторов человеческого антигена ВГВ (HBcAg), ингибиторов поверхностного антигена ВГВ (HBsAg), ингибиторов HBx, ингибиторов антигена ВГВ E), антиген-антител к ВГВ, ингибирующих нуклеиновых кислот, нацеленных на ВГВ (например, антисмыслового олигонуклеотида, короткой интерферирующей РНК (киРНК), ДНК-направленной интерференции РНК (ddRNAi), редакторов генов, нацеленных на ВГВ (например, CRISPR-Cas (например, Cas9, Cas12, Cascade, Cas13), нуклеаз с «цинковыми пальцами», хоминг-эндонуклеаз, хоминг-мегануклеаз (например, aRCUS), синтетических нуклеаз, TALEN), ингибиторов ковалентно замкнутой кольцевой ДНК (кзкДНК) и ингибиторов секреции или сборки HBsAg и ингибиторов проникновения вируса ВГВ.

[0018] В дополнительном аспекте предложены способы вызывания иммуного ответа на вирус гепатита В человека (ВГВ) у субъекта, нуждающегося в этом. Также предложены способы лечения или профилактики вируса гепатита В человека (ВГВ) у субъекта, нуждающегося в этом. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества одной или более иммуногенных композиций, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение одной или более иммуногенных композиций, содержащих смесь, содержащую первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий усеченный полипептид полимеразы ВГВ или

мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией, как описано в настоящем документе; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества одной или более иммуногенных композиций, содержащих смесь, содержащую первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 5–14 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 5–14; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 38–41. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества одной или более иммуногенных композиций, содержащих смесь, содержащую первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 13–14 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 13–14; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 38–41. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества одной или более иммуногенных композиций, содержащих смесь, содержащую первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 13; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 41. В некоторых вариантах осуществления капсидный полипептид содержит остаток серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, и остаток аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg

содержит остаток изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 53, остатка изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 125, остатка пролина (P) в аминокислотном положении, соответствующем положению 127, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 161, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 200, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 210, и остатка лейцина (L) в аминокислотном положении, соответствующем положению 213, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления слитый полипептид капсид-sAg содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, остатка аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, остатка валина (V) в аминокислотном положении, соответствующем положению 74, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 97, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 249, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 250, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 317, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 318, остатка аргинина (R) в аминокислотном положении, соответствующем положению 326, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 338, остатка глицина (G) в аминокислотном положении, соответствующем положению 363, и остатка аланина (A) в аминокислотном положении, соответствующем положению 372, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:41. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества одной или более иммуногенных композиций, содержащих смесь, содержащую первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из нуклеиновой последовательности любой из SEQ ID NO: 27–32 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 27–32 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 33–37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 33–37. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества одной или более иммуногенных композиций, содержащих смесь, содержащую первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из нуклеиновой последовательности SEQ ID NO: 29 или 90 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%,

84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 29 или 90; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах осуществления способов первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор происходят из семейства аренавирусов. В некоторых вариантах осуществления способов первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор происходят из вектора аренавируса, выбранного из маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), маммаренавируса Кали (также известного как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)), вируса Гуанарито (GTOV), вируса Хунин (JUNV), вируса Ласса (LASV), вируса Луйо (LUJV), вируса Мачупо (MACV), вируса Сабиа (SABV) и вируса Уайтуотера Арройо (WWAV). В некоторых вариантах осуществления способов первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор происходят из вектора аренавируса, выбранного из маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) или маммаренавируса Кали (LCMV) (также известного как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)). В некоторых вариантах осуществления способов первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор являются репликационно-дефектными или репликационно-дефицитными. В некоторых вариантах осуществления способов первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор являются репликационно-аттенуированными. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества одной или более иммуногенных композиций, содержащих смесь, содержащую первый экспрессионный вектор аренавируса LCMV и второй экспрессионный вектор аренавируса LCMV, причем: (a) первый экспрессионный вектор аренавируса LCMV содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из нуклеиновой последовательности SEQ ID NO: 29 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 29; и (b) второй экспрессионный вектор аренавируса LCMV содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества одной или более иммуногенных композиций, содержащих смесь, содержащую первый экспрессионный вектор аренавируса Пичинде и второй экспрессионный вектор аренавируса Пичинде, причем: (a) первый экспрессионный вектор аренавируса Пичинде содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из нуклеиновой последовательности SEQ ID NO: 90 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 90; и (b) второй экспрессионный вектор аренавируса Пичинде содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична

SEQ ID NO: 37. В некоторых вариантах осуществления способов субъект инфицирован ВГВ, предположительно инфицирован ВГВ или подвержен риску инфицирования ВГВ. В некоторых вариантах осуществления способов субъект является бессимптомным. В некоторых вариантах осуществления способов субъект хронически инфицирован ВГВ. В некоторых вариантах осуществления способов субъект проявляет или испытывает один или более симптомов, выбранных из печеночной недостаточности, рака печени, фиброза печени и цирроза печени. В некоторых вариантах осуществления способов у субъекта наблюдается острое инфицирование ВГВ. В некоторых вариантах осуществления способов субъект проявляет или испытывает один или более симптомов, выбранных из желтухи, видимых сеток вздутых кровеносных сосудов в коже, темно-окрашенной (например, в оранжевой или коричневой) мочи, обесцвеченного кала, повышенной температуры, непроходящей усталости, дискомфорта, боли в области живота, абдоминальной жидкости, потери аппетита, тошноты и рвоты. В некоторых вариантах осуществления способов субъект одновременно инфицирован вирусом гепатита D (HDV). В некоторых вариантах осуществления способов композицию вводят способом, выбранным из внутривенного, внутримышечного, внутридермального, подкожного и мукозального (например, трансбуккального, интраназального, интраректального, интравагинального). В некоторых вариантах осуществления введение субъекту от около 10^3 до около 10^{12} вирусных фокус-образующих единиц (ФОЕ), или бляшкообразующих единиц (БОЕ), или инфекционных единиц (ИЕ), или вирусных частиц (ВЧ), например, от около 10^4 до около 10^7 вирусных ФОЕ, или БОЕ, или ИЕ, или ВЧ, *например* от около 10^3 до около 10^4, 10^5, 10^6, 10^7, 10^8, 10^9, 10^{10}, 10^{11} или 10^{12} вирусных ФОЕ, или БОЕ, или ИЕ, или ВЧ на введение. В некоторых вариантах осуществления способов одну или более композиций вводят несколько раз. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение внутривенно или внутримышечно от около 10^6 до около 10^8 вирусных ФОЕ, или БОЕ, или ИЕ, или ВЧ на введение каждые две недели (Q2W) или ежемесячно (Q4W). В некоторых вариантах осуществления способы включают несколько введений одной или более иммуногенных композиций в течение периода времени по меньшей мере около 2 недель, 3 недель, 1 месяца, 2 месяцев, 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев, 13 месяцев, 14 месяцев, 15 месяцев, 16 месяцев, 17 месяцев, 18 месяцев, 19 месяцев, 20 месяцев, 21 месяца, 22 месяцев, 23 месяцев, 24 месяцев или более, или до тех пор, пока sAg не обнаруживается в сыворотке или плазме субъекта. В некоторых вариантах осуществления способы включают цикл примирование/усиление, включающий введение примирующей композиции в первый момент времени и введение одной или более усиливающих композиций в одной или более последующих временных точках. В зависимости от обстоятельств способы могут включать повторение цикла примирование/усиление на один или более циклов. В некоторых вариантах осуществления способов введения примирующей композиции и одной или более усиливающих композиций разнесены по меньшей мере на 1 неделю и до по меньшей мере 2 недель, 3 недель, 1 месяца, 2 месяцев, 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев или 6 месяцев. В некоторых вариантах осуществления способов примирующая композиция и усиливающая композиция могут содержать одну и ту же иммуногенную композицию или могут содержать различные иммуногенные композиции. В некоторых вариантах осуществления способов примирующая композиция и усиливающая композиция содержат один или более полипептидов и один и тот же вирусный экспрессионный вектор. В некоторых вариантах осуществления способов примирующая композиция

и усиливающая композиция содержат различные полипептиды и/или различные вирусные экспрессионные векторы. В некоторых вариантах осуществления способы включают примирование с помощью примирующей композицией, содержащей один или более (например, первый и второй) вирусных экспрессионных векторов и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более (например, третий и четвертый) вирусных экспрессионных векторов. В различных вариантах осуществления цикл примирование/усиление включает: (a) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более полинуклеотидов, причем один или более полинуклеотидов содержат ДНК, кДНК, мРНК или самореплицирующуюся РНК; (b) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более полинуклеотидов, причем один или более полинуклеотидов содержат ДНК, кДНК, мРНК или самореплицирующуюся РНК, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов, (c) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов, причем один или более вирусных экспрессионных векторов в примирующей композиции и один или более вирусных экспрессионных векторов в усиливающей композиции происходят из идентичных, родственных или не связанных с ними таксономических семейств; (d) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов, причем один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов в примирующей композиции и один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов в усиливающей композиции происходят из идентичных, родственных или не связанных с ними таксономических семейств; (e) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-аттенуированных вирусных экспрессионных векторов, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-аттенуированных вирусных экспрессионных векторов, причем один или более репликационно-аттенуированных вирусных экспрессионных векторов в примирующей композиции и один или более репликационно-аттенуированных вирусных экспрессионных векторов в усиливающей композиции происходят из идентичных, родственных или не связанных с ними таксономических семейств; (f) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-аттенуированных вирусных экспрессионных векторов; (g) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-аттенуированных вирусных экспрессионных векторов, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов; (h) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV); (i) примирование с помощью

примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV), и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV); (j) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV), и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV); (k) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV); (l) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аренавируса, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аденовируса; (m) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аденовируса, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аренавируса; (n) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов поксвируса, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аренавируса; (o) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аренавируса, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов поксвируса; (p) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов поксвируса, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аденовируса; или (q) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аденовируса, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов поксвируса. В некоторых вариантах осуществления способы включают цикл примирование/усиление, который включает: (a) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV); (b) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV), и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV); (c) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV), и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV); или (d) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей

один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV). В некоторых вариантах осуществления примирующая композиция и усиливающая композиция содержат иммуногенную композицию, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления субъект не получает противовирусной терапии или противовирусную терапию прекращают до введения одной или более иммуногенных композиций. В некоторых вариантах осуществления способов противовирусную терапию прекращают после одного или более введений одной или более иммуногенных композиций. В некоторых вариантах осуществления способы дополнительно включают введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов, например, двух, трех, четырех или более дополнительных терапевтических агентов. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более агонистов или активаторов одного или более Toll-подобных рецепторов (TLR). В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более агонистов или активаторов TLR, выбранных из: агониста TLR2, агониста TLR3, агониста TLR4, агониста TLR5, агониста TLR7, агониста TLR8 и агониста TLR9. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение агониста TLR7, выбранного из GS-9620 (везатолимода), R848 (резиквимода), DS-0509, LHC-165 и TMX-101 (имиквимода). В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение агониста TLR8, выбранного из GS-9688, R848 (резиквимода) и NKTR-262 (двойного агониста TLR7/TLR8). В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более агонистов рецептора интерлейкина рецептора интерлейкина, выбранного из IL-2, IL-7, IL-12 и IL-15. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более цитокинов, выбранных из IL-2, IL-7, IL-12, IL-15 и их вариантов. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более врожденных активаторов иммунитета. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более врожденных активаторов иммунитета, содержащих агонист рецептора, выбранный из тирозинкиназы 3 (FLT3), рецептора стимулятора генов интерферона (STING), рецептора интерферона, DExD/H-бокс хеликазы 58 (DDX58; также известной как RIG-I), нуклеотидсвязывающего олигомеризационного домена, содержащего белок 2 (NOD2). В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение GS-3583 и/или GS-9992. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более антагонистов или ингибиторов белка или рецептора ингибирующих иммунных контрольных точек и/или одного или более активаторов или агонистов белка или рецептора стимулирующих иммунных контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более белков или рецепторов иммунных контрольных точек, выбранных из следующего: CD27, CD70; CD40, CD40LG; CD47, CD48 (SLAMF2), содержащий трансмембранный и иммуноглобулиновый домен белок 2 (TMIGD2, CD28H), CD84 (LY9B, SLAMF5), CD96, CD160, MS4A1 (CD20), CD244 (SLAMF4); CD276 (B7H3); ингибитор 1 активации Т-клеток, содержащий вариабельный иммуноглобулиноподобный домен (VTCN1, B7H4); V-set домен-содержащий иммунорегуляторный рецептор (VSIR, B7H5, VISTA); член 11 суперсемейства иммуноглобулинов (IGSF11, VSIG3); лиганд 1 рецептора цитотоксичности

натуральных клеток-киллеров 3 (NCR3LG1, B7H6); HERV-H LTR-ассоциированный белок 2 (HHLA2, B7H7); индуцибельный костимулятор Т-клеток (ICOS, CD278); лиганд индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOSLG, B7H2); члена 4 суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF4, OX40); члена 4 суперсемейства TNF (TNFSF4, OX40L); TNFRSF8 (CD30), TNFSF8 (CD30L); TNFRSF10A (CD261, DR4, TRAILR1), TNFRSF9 (CD137), TNFSF9 (CD137L); TNFRSF10B (CD262, DR5, TRAILR2), TNFRSF10 (TRAIL); TNFRSF14 (HVEM, CD270), TNFSF14 (HVEML); CD272 (ассоциированный с B- и Т-лимфоцитами белок (BTLA)); TNFRSF17 (BCMA, CD269), TNFSF13B (BAFF); TNFRSF18 (GITR), TNFSF18 (GITRL); последовательность A, родственная полипептиду MHC класса I (MICA); последовательность B, родственная полипептиду MHC класса I (MICB); CD274 (CD274, PDL1, PD-L1); белок программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1, PD1, PD-1); ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA4, CD152); CD80 (B7-1), CD28; молекулы клеточной адгезии-2 нектин (NECTIN2, CD112); CD226 (DNAM-1); молекула клеточной адгезии рецептора полиовируса (PVR) (PVR, CD155); родственный PVR белок, содержащий иммуноглобулиновый домен, (PVRIG, CD112R); Т-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITIM (TIGIT); белок-4, содержащий домен иммуноглобулина Т-клеток и домен муцина (TIMD4; TIM4); клеточный рецептор 2 вируса гепатита A (HAVCR2, TIMD3, TIM3); галектин 9 (LGALS9); белок гена активации лимфоцитов 3 (LAG3, CD223); член 1 семейства сигнальных лимфоцит-активирующих молекул (SLAMF1, SLAM, CD150); антиген лимфоцита 9 (LY9, CD229, SLAMF3); член 6 семейства SLAM (SLAMF6, CD352); член 7 семейства SLAM (SLAMF7, CD319); Ul16-связывающий белок 1 (ULBP1); UL16-связывающий белок 2 (ULBP2); UL16-связывающий белок 3 (ULBP3); ранний транскрипт ретиноевой кислоты 1E (RAET1E; ULBP4); ранний транскрипт ретиноевой кислоты 1G (RAET1G; ULBP5); ранний транскрипт ретиноевой кислоты 1L (RAET1L; ULBP6); белок гена активации лимфоцитов 3 (CD223); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR, CD158E1); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C1 (KLRC1, NKG2A, CD159A); лектинподобный рецептор клеток-киллеров K1 (KLRK1, NKG2D, CD314); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C2 (KLRC2, CD159c, NKG2C); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C3 (KLRC3, NKG2E); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C4 (KLRC4, NKG2F); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR2DL1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 2 (KIR2DL2); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 3 (KIR2DL3); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR3DL1); лектинподобный рецептор клеток-киллеров D1 (KLRD1); и член 7 семейства SLAM (SLAMF7). В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более блокаторов или ингибиторов одного или более белков или рецепторов Т-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более белков или рецепторов Т-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек, выбранных из CD274 (CD274, PDL1, PD-L1); лиганд 2 белка программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1LG2, PD-L2, CD273); белок программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1, PD1, PD-1); ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA4, CD152); CD276 (B7H3); ингибитор 1 активации Т-клеток, содержащий

вариабельный иммуноглобулиноподобный домен (VTCN1, B7H4); V-set домен-содержащий иммунорегуляторный рецептор (VSIR, B7H5, VISTA); член 11 суперсемейства иммуноглобулинов (IGSF11, VSIG3); TNFRSF14 (HVEM, CD270), TNFSF14 (HVEML); CD272 (ассоциированный с B- и T-лимфоцитами белок (BTLA)); родственный PVR белок, содержащий иммуноглобулиновый домен, (PVRIG, CD112R); T-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITIM (TIGIT); белок гена активации лимфоцитов 3 (LAG3, CD223); клеточный рецептор 2 вируса гепатита A (HAVCR2, TIMD3, TIM3); галектин 9 (LGALS9); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR, CD158E1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR2DL1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 2 (KIR2DL2); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 3 (KIR2DL3); и иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR3DL1). В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более агонистов или активаторов одного или более белков или рецепторов T-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более белков или рецепторов T-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек, выбранных из CD27, CD70; CD40, CD40LG; индуцибельный костимулятор T-клеток (ICOS, CD278); лиганд индуцибельного костимулятора T-клеток (ICOSLG, B7H2); члена 4 суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF4, OX40); члена 4 суперсемейства TNF (TNFSF4, OX40L); TNFRSF9 (CD137), TNFSF9 (CD137L); TNFRSF18 (GITR), TNFSF18 (GITRL); CD80 (B7-1), CD28; молекулы клеточной адгезии-2 нектин (NECTIN2, CD112); CD226 (DNAM-1); молекулы клеточной адгезии рецептора полиовируса (PVR) (PVR, CD155). В некоторых вариантах осуществления способы подразумевают совместное введение AGEN-2373 и/или AGEN-1223. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более блокаторов или ингибиторов одного или более белков или рецепторов NK-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более белков или рецепторов NK-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек, выбранных из иммуноглобулиноподобного рецептора клеток-киллеров, трех доменов Ig и длинного цитоплазматического хвоста 1 (KIR, CD158E1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR2DL1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 2 (KIR2DL2); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 3 (KIR2DL3); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR3DL1); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C1 (KLRC1, NKG2A, CD159A); и лектинподобный рецептор клеток-киллеров D1 (KLRD1, CD94). В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более агонистов или активаторов одного или более белков или рецепторов NK-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более белков или рецепторов NK-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек, выбранных из CD16, CD226 (DNAM-1);

лектинподобный рецептор клеток-киллеров K1 (KLRK1, NKG2D, CD314); и член 7 семейства SLAM (SLAMF7). В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более белковых ингибиторов PD-L1 (CD274), PD-1 (PDCD1) или CTLA4. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более белковых ингибиторов CTLA4, выбранных из ипилимумаба, тремелимумаба, BMS-986218, AGEN1181, AGEN1884, BMS-986249, MK-1308, REGN-4659, ADU-1604, CS-1002, BCD-145, APL-509, JS-007, BA-3071, ONC-392, AGEN-2041, JHL-1155, KN-044, CG-0161, ATOR-1144, PBI-5D3H5, FPT-155 (CTLA4/PD-L1/CD28), PF-06936308 (PD-1/ CTLA4), MGD-019 (PD-1/CTLA4), KN-046 (PD-1/CTLA4), MEDI-5752 (CTLA4/PD-1), XmAb-20717 (PD-1/CTLA4) и AK-104 (CTLA4/PD-1). В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более белковых ингибиторов PD-L1 (CD274) или PD-1 (PDCD1), выбранных из зимберелимаба (AB122), пембролизумаба, ниволумаба, цемиплимаба, пидилизумаба, AMP-224, MEDI0680 (AMP-514), спартализумаба, атезолизумаба, авелумаба, ASC22, дурвалумаба, BMS-936559, CK-301, PF-06801591, BGB-A317 (тислелизумаба), GLS-010 (WBP-3055), AK-103 (HX-008), AK-105, CS-1003, HLX-10, MGA-012, BI-754091, AGEN-2034, JS-001 (торипалимаба), JNJ-63723283, генолимзумаба (CBT-501), LZM-009, BCD-100, LY-3300054, SHR-1201, SHR-1210 (камрелизумаба), Sym-021, ABBV-181, PD1-PIK, BAT-1306, (MSB0010718C), CX-072, CBT-502, TSR-042 (достарлимаба), MSB-2311, JTX-4014, BGB-A333, SHR-1316, CS-1001 (WBP-3155, KN-035, IBI-308 (синтилимаба), HLX-20, KL-A167, STI-A1014, STI-A1015 (IMC-001), BCD-135, FAZ-053, TQB-2450, MDX1105-01, FPT-155 (CTLA4/PD-L1/CD28), PF-06936308 (PD-1/ CTLA4), MGD-013 (PD-1/LAG-3), FS-118 (LAG-3/PD-L1) MGD-019 (PD-1/CTLA4), KN-046 (PD-1/CTLA4), MEDI-5752 (CTLA4/PD-1), RO-7121661 (PD-1/TIM-3), XmAb-20717 (PD-1/CTLA4), AK-104 (CTLA4/PD-1), M7824 (домен PD-L1/TGFβ-EC), CA-170 (PD-L1/VISTA), CDX-527 (CD27/PD-L1), LY-3415244 (TIM3/PDL1) и INBRX-105 (4-1BB/PDL1). В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более низкомолекулярных ингибиторов CD274 (PDL1, PD-L1), белка программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1, PD1, PD-1) или CTLA4. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более низкомолекулярных ингибиторов CD274 или PDCD1, выбранных из GS-4224, GS-4416, INCB086550 и MAX10181. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение BPI-002 (низкомолекулярного ингибитора CTLA4). В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение субъекту одного или более противовирусных агентов. В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение одного или более противовирусных агентов, выбранных из ламивудина (LAM), адефовира дипивоксила (ADV), энтекавира (ETV), телбивудина (LdT), тенофовира дизопроксил фумарата (TDF), тенофовира алафенамида (TAF или VEMLIDY®) и ледипасвира + софосбувира (HARVONI®). В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение субъекту одного или более терапевтических агентов, выбранных из ингибиторов антигена ВГВ (например, ингибиторов человеческого антигена ВГВ (HBcAg), ингибиторов поверхностного антигена ВГВ (HBsAg), ингибиторов HBx, ингибиторов антигена ВГВ E), антиген-антител к ВГВ, ингибирующих нуклеиновых кислот, нацеленных на ВГВ (например, антисмыслового олигонуклеотида, короткой интерферирующей РНК (киРНК), ДНК-направленной интерференции РНК (ddRNAi), редакторов генов, нацеленных на ВГВ (например, CRISPR-Cas (например, Cas9, Cas12, Cascade, Cas13), нуклеаз с «цинковыми пальцами», хоминг-эндонуклеаз, хоминг-мегануклеаз

(например, ARCUS), синтетических нуклеаз, TALEN), ингибиторов ковалентно замкнутой кольцевой ДНК (кзкДНК) и ингибиторов секреции или сборки HBsAg и ингибиторов вирусного проникновения ВГВ. В некоторых вариантах осуществления способ активируется в CD8 Т-клетках и/или Т-клетках CD4+ субъекта, нацеленных на один или более полипептидных эпитопов ВГВ. В некоторых вариантах осуществления способ вызывает у субъекта получение антител, которые связывают один или более полипептидов ВГВ.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0019] На Фиг. 1 представлена иммуногенность векторов аденовируса, экспрессирующих HBsAg, из генотипов (GT) A, B, C и D у аутбредных мышей. Аутбредным мышам в возрасте от пяти до семи недель (n = 8 на группу) вводили внутримышечно 1 x 10^8 вирусных частиц (ВЧ) аденовируса, кодирующих консенсусные последовательности HBsAg генотипов ВГВ (GT)-A, B, C, D (SEQ ID NO: 1–4 соответственно). На 14-е сутки после введения отбирали для исследования спленоциты, и Т-клеточные иммунные ответы оценивали с помощью интерферона (IFN)-γ ELISPOT (набор BD mouse IFN-γ ELISPOT, кат. № 551083). Каждый символ соответствует отдельной мыши, которую оценивали на ответы на перекрывающиеся пулы пептидов, соответствующие HBsAg GT-A, B, C и D.

[0020] На Фиг. 2 представлены схематические изображения каждой конфигурации антигена, содержащей Pol. Каждый домен Pol обозначен отдельно (TP, концевой белок; RT, обратная транскриптаза; RNH, РНаза Н). Приблизительное расположение мутации D–H в мотиве YMDD (SEQ ID NO: 97) в RT и мутации E–H в мотиве AELL (SEQ ID NO: 98) в RNH указаны ниже доменов RT и RNH. Обозначение каждой конструкции показано слева, а диапазон размеров аминокислот конструкций GT-A, B, C и D показан справа. «YMHD» и «AHL», описаны в SEQ ID NO 99 и 100 соответственно.

[0021] На Фиг. 3 представлена иммуногенность векторов аденовируса, экспрессирующих слитый белок капсид-Pol у мышей C57BL/6. Мышам C57BL/6 в возрасте от шести до восьми недель (n=5 на группу) вводили 1 x 10^8 вирусных частиц (ВЧ) аденовируса, кодирующих варианты слияния капсид-Pol SEQ ID NO: 15–26. Генотип каждого антигена показан выше каждого графика, а обозначения антигена показаны на горизонтальной оси (мутация: капсид-$Pol^{мут}$, Δ1: капсид-$Pol^{\Delta 1}$, Δ3: капсид-$Pol^{\Delta 3}$). На 14-е сутки после введения отбирали для исследования спленоциты, и Т-клеточные иммунные ответы оценивали с помощью IFN-γ ELISPOT (набор BD mouse IFN-γ ELISPOT, кат. № 551083) с применением перекрывающихся пулов пептидов, соответствующих капсиду GT-D и Pol. Столбики показывают суммированные средние геометрические ответы для каждой группы. SFU: клетки, образующие «ореол».

[0022] На Фиг. 4A–4B представлена иммуногенность векторов аденовируса, экспрессирующих слитые белки капсид-Pol, у аутбредных мышей. Аутбредным мышам в возрасте от пяти до семи недель (n=8 на группу) вводили внутримышечно 1 x 10^8 вирусных частиц (ВЧ) аденовируса, кодирующего GT-A капсид-$Pol^{\Delta 3}$ или GT-B, C или D капсид-$Pol^{\Delta 1}$. На 14-е сутки после введения отбирали для исследования спленоциты, и Т-клеточные иммунные ответы оценивали с помощью ответов IFN-γ ELISPOT (набор BD mouse IFN-γ ELISPOT, кат. № 551083) на перекрывающиеся пулы пептидов, соответствующие капсиду GT-A и D и Pol. Статистические

сравнения между ответами на пептиды различных генотипов у мышей, получавших такую же вакцину, оценивали с помощью знаковых ранговых критериев Уилкоксона. Статистические сравнения между мышами, получавшими разные вакцины, оценивали с помощью критериев Манна-Уитни. (A) Ответы на пептиды Pol. (B) Ответы на капсидые пептиды. SFU: клетки, образующие «ореол».

[0023] На Фиг. 5 представлена иммуногенность векторов аденовируса, экспрессирующих Pol. Мышам C57BL/6 в возрасте от шести до восьми недель (n=5 на группу) вводили 1 x 10^8 вирусных частиц (ВЧ) аденовируса, экспрессирующих варианты антигена Pol SEQ ID NO: 8, 12, 13, 14 или полноразмерную немодифицированную последовательность GT-D Pol (GT-D $Pol^{контроль}$). На 14-е сутки после введения отбирали для исследования спленоциты, и Т-клеточные иммунные ответы оценивали с помощью IFN-γ ELISPOT (набор BD mouse IFN-γ ELISPOT, кат. № 551083) с применением перекрывающихся пулов пептидов, соответствующих GT-D Pol. SFU: клетки, образующие «ореол».

[0024] На Фиг. 6 показана схема исследования, оценивающая эффективность векторов Ad5, экспрессирующих ВГВ, и векторов осповакцины в мышиной модели AAV CHB (AAV-HBV). Мышам C57BL/6 в возрасте от шести до восьми недель трансдуцировали 10^{12} копий генома AAV-HBV на -35-е сутки. Мышей рандомизировали в экспериментальные группы на основе уровней HBsAg в сыворотке на -7-е сутки. Примирующие вакцины аденовируса типа 5, экспрессирующие антигены ВГВ, вводили внутримышечно (в/м) в объеме 50 мкл на 0-е сутки, и стимулирующие осповакцины, экспрессирующие те же антигены ВГВ, вводили в/м в объеме 50 мкл на 32-е сутки. Начиная с 46-67-х суток мышам вводили либо моноклональное антитело анти-PD-1 (анти-CD279) RMP 1-14, либо мАт изотипического контроля. Образцы крови для тестирования вирусного антигена собирали в сутки -7, 14, 27, 46, 60, 67 и 88. Спленоциты отбирали для исследования на 88-е сутки и оценивали для IFN-γ ELISPOT.

[0025] На Фиг. 7 показана иммуногенность усиливающей вакцинации примирующей вакциной Ad5 у мышей AAV-HBV. Спленоциты отбирали на 88-е сутки в исследовании, представленном на Фиг. 6. Т-клеточные иммунные ответы на HBsAg и Pol оценивали с помощью IFN-γ ELISPOT (набор BD mouse IFN-γ ELISPOT, кат. № 551083) с применением перекрывающихся пулов пептидов, соответствующих капсиду GT-D sAg и Pol. Пунктирная линия указывает на самый высокий сигнал в HBsAg ELISPOT, наблюдаемый у мышей, получающих контрольную вакцину. mAb: вводили моноклональное антитело. Iso: изотипический контроль. αPD-1: анти-PD-1. Vax: указывает, содержала ли вакцина антигены ВГВ или контрольные (Ctrl) антигены. SFU: клетки, образующие «ореол».

[0026] На Фиг. 8 показаны эффекты усиливающей вакцинации примирующей вакциной Ad5, экспрессирующей ВГВ, в комбинации с блокировкой PD-1 у мышей AAV-HBV. Уровни HBeAg в сыворотке в исследовании, показанном на Фиг. 6, определяли с помощью ELISA (International Immunodicics) в указанных временных точках. Пунктирная линия указывает нижний предел обнаружения. Ad: вектор аденовируса 5. Vac: вектор осповакцины. Ctrl: контрольный антиген. Isotype: изотипическое контрольное антитело. αPD-1: противомышиное PD-1 антитело.

[0027] На Фиг. 9A–9C представлен обзор платформ векторов аренавируса, продемонстрированных в примерах, представленных в настоящем документе. (A) Схема филогенетического дерева семейства аренавирусов (Arenaviridae). В примерах, представленных в настоящем документе, маммаренавирус лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) (NCBI:txid11623) из филогенетической ветви Старого Света (OW) и маммаренавирус Кали (также известный как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)) (NCBI:xid2169993) из филогенетической ветви Нового Света (NW) были выбраны для получения векторов, кодирующих антиген ВГВ. См., например, Buchmeier *et al.*, 2001, "Arenaviridae: The Viruses and Their Replication," Fields Virology Vol 2, 1635-1668. В последнее время более подробно рассматривается таксономия аренавируса, например, в Radoshitzky, *et al.*, *Arch Virol.* (2015) 160(7):1851-74. Филогенетическая информация по семейству Arenaviridae также доступна на веб-сайте Ресурса вирусного патогена, расположенном по адресу viprbrc.org. (B) Схематическое изображение репликационно-дефектных векторов аренавируса, имеющих геном из двух сегментов, описанное в WO200908310 и (C) репликационно-аттенуированные векторы аренавируса с геном из трех сегментов, описанные в WO2016075250 и WO2017198726. Репликационно-дефектные векторы аренавируса, имеющие геном из двух сегментов, описанные в WO2009083210 и применяемые в примерах, представленных в настоящем документе, кодируют три из четырех вирусных белков (L, Z и NP) и открытую рамку считывания для вставки гетерологичного полинуклеотида, например, кодирирования антигена. Репликационно-дефектные векторы аренавируса, имеющие геном из двух сегментов, могут распространяться только при доставке вирусной GP в транс. Репликационно-аттенуированные векторы аренавируса с геном из трех сегментов, описанные в WO2016075250 и WO2017198726, обладают искусственным дублированием геномного S-сегмента, кодируют все четыре вирусных белка (L, Z, NP и GP) и имеют две открытых рамки считывания для вставки одного или двух гетерологичных полинуклеотидов, например, кодирования одного или двух антигенов.

[0028] На Фиг. 10 представлена иммуногенность антигенов Pol в репликационно-некомпетентных векторах маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV). Мышам C57BL/6 в возрасте от шести до восьми недель (n=6 на группу) вводили внутривенно 1 x 10^6 фокус-образующих единиц (ФОЕ) репликационно-некомпетентных векторов LCMV, экспрессирующих варианты Pol антигена GT-D и GT-B $Pol^{\Delta 1}$ (SEQ ID NO: 6 и 8), $Pol^{\Delta 3}$ (SEQ ID NO: 10 и 12) и Pol^{300} (SEQ ID NO: 13 и 14), или со средой в качестве отрицательного контроля. На 7-е сутки после введения отбирали для исследования спленоциты, и Т-клеточные иммунные ответы оценивали с помощью IFN-γ ELISPOT (набор BD mouse IFN-γ ELISPOT, кат. № 551083) с применением перекрывающихся пулов пептидов Pol, соответствующих генотипу антигена иммунизации в каждой группе. SFU: клетки, образующие «ореол».

[0029] На Фиг. 11 представлена иммуногенность векторов LCMV, экспрессирующих слитый белок капсид-HBsAg у мышей C57BL/6. Мышам C57BL/6 в возрасте от шести до восьми недель (n=6 на группу) вводили 1 x 10^6 фокус-образующих единиц (ФОЕ) репликационно-некомпетентных векторов LCMV, экспрессирующих варианты слияния капсид-HBsAg SEQ ID NO: 38–41 или имитировали вакцинацию в качестве отрицательного контроля. На 7-е сутки после введения отбирали для исследования спленоциты, и Т-клеточные иммунные ответы оценивали с помощью IFN-γ

ELISPOT (набор BD mouse IFN-γ ELISPOT, кат. № 551083) с применением перекрывающихся пулов пептидов капсида и HBsAg, соответствующих генотипу антигена иммунизации в каждой группе. SFU: клетки, образующие «ореол».

[0030] На Фиг. 12 представлен ответ на антитело с HBsAg, полученной у мышей, которым вводили репликационно-некомпетентные векторы LCMV, экспрессирующие слитый белок капсид-sAg. Мышам C57BL/6 (слева) или Balb/c (справа) в возрасте от шести до восьми недель (n=5 на группу) вводили 1 x 10^6 фокус-образующих единиц (ФОЕ) репликационно-некомпетентных векторов LCMV, экспрессирующих варианты слияния капсид-sAg SEQ ID NO: 38–41 или со средой в качестве отрицательного контроля. На 17-е сутки после введения собирали сыворотку и тестировали на антитело к HBsAg с помощью ELISA (International Immunodeiagics). Пунктирная линия указывает нижний предел обнаружения 11 мМЕ/мл. *p < 0,05 посредством критерия Манна-Уитни.

[0031] На Фиг. 13 показан эффект модификации нуклеотидной последовательности на иммуногенность Т-клеток слитых белков капсид-P2A-sAg. Мышам C57BL/6 в возрасте от шести до восьми недель (n=6 на группу) вводили 1 x 10^6 фокус-образующих единиц (ФОЕ) репликационно-некомпетентных векторов LCMV с GT-D капсид-P2A-sAg (SEQ ID NO:36) или GT-D iCore-P2A-sAg (SEQ ID NO: 37) или имитировали вакцинацию в качестве отрицательного контроля. На 7-е сутки после введения отбирали для исследования спленоциты, и Т-клеточные иммунные ответы оценивали с помощью IFN-γ ELISPOT (набор BD mouse IFN-γ ELISPOT, кат. № 551083) с применением перекрывающихся пулов пептидов капсида и sAg. Статистический анализ проводили с применением критериев Манна-Уитни.

[0032] На Фиг. 14A–14B показана иммуногенность примирующей/усиливающей вакцинации с репликационно-некомпетентными векторами LCMV (VV1), кодирующими GT-B/C капсид-P2A-sAg или GT-D iCore-P2A-sAg (Фиг. 14A) и GT-B $Pol^{\Delta 3}$ или GT-B Pol^{300} (Фиг. 14B) у аутбредных мышей. Животным вводили 2 дозы каждой вакцины в 0-е сутки и 28-е сутки, как описано в таблице 9. Спленоциты отбирали для исследования на 42-е сутки, и Т-клеточные иммунные ответы на антигены ВГВ измеряли с помощью IFN-γ ELISPOT с применением пулов пептидов sAg, капсида и полимеразы из различных вирусных генотипов, как указано. Данные выражены в виде значений с вычтенным фоном (без пептида). Статистический анализ проводили с помощью критериев Манна-Уитни. ns: не статистически значимое значение; *p < 0,0332.

[0033] На Фиг. 15A–15B показан охват специфичных к ВГВ Т-клеточных ответов, сформированных при примирующей/усиливающей вакцинации с помощью репликационно-некомпетентных векторов LCMV (VV1), кодирующих GT-D iCore-P2A-sAg (Фиг. 15A) или GT-B Pol^{300} (Фиг. 15B) у аутбредных мышей. IFN-γ ELISPOT выполняли с помощью пептидов из одного и того же вирусного генотипа (заполненные кольца) или другого вирусного генотипа (открытые кольца).

[0034] На Фиг. 16A–16B показана иммуногенность примирующей/усиливающей вакцинации с помощью репликационно-некомпетентных векторов LCMV (VV1), кодирующих GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol^{300} при доставке либо в виде отдельных векторов, либо в виде комбинированной смеси у мышей C57BL/6. Животным вводили 2 дозы векторов на 0-е сутки и 21-е

сутки, как описано в таблице 10. Спленоциты отбирали для исследования на 28-е сутки, и специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы измеряли с помощью FIN-γ ELISPOT с применением пулов пептидов капсида (16A), sAg (16B) и Pol (16C).

[0035] На Фиг. 17A–17F представлена иммуногенность повторных вакцинаций с помощью репликационно-некомпетентных векторов LCMV, кодирующих GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol^{300} у яванских макак. Группу животных также вакцинировали Ad5 и векторами осповакцины, кодирующими те же антигены ВГВ. Животным вводили векторы, как описано в таблице 11. 17A: Группа 1; 17B: Группа 2; 17C: Группа 3; 17D; Группа 4; 17E: Группа 5; 17F: Группа 6. Т-клеточные ответы на антигены ВГВ оценивали путем выполнения IFN-γ ELISPOT с применением пулов пептидов sAg, капсида и Pol в указанных временных точках. Данные выражены в общих специфичных к ВГВ Т-клеточных ответах, определенных как сумма значений IFN-γ ELISPOT, полученных после стимуляции с помощью пулов пептидов sAg, капсида и полимеразы.

[0036] На Фиг. 18A–18F представлена иммуногенность повторных вакцинаций с помощью репликационно-некомпетентных векторов LCMV, кодирующих GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300 у яванских макак, как описано на Фиг. 17 и в таблице 11. Фиг. 18A–18F делают упор на IFN-γ ELISPOT, полученном после стимуляции пулов пептида капсида. 18A: Группа 1; 18B: Группа 2; 18C: Группа 3; 18D; Группа 4; 18E: Группа 5; 18F: Группа 6.

[0037] На Фиг. 19A–19F представлена иммуногенность повторных вакцинаций с помощью репликационно-некомпетентных векторов LCMV, кодирующих GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol^{300} у яванских макак, как описано на Фиг. 17 и таблице 11. Фиг. 19A–19F делают упор на IFN-γ ELISPOT, полученном после стимуляции с помощью пулов пептида sAg. 19A: Группа 1; 19B: Группа 2; 19C: Группа 3; 19D; Группа 4; 19E: Группа 5; 19F: Группа 6.

[0038] На Фиг. 20A–20F представлена иммуногенность повторных вакцинаций с помощью репликационно-некомпетентных векторов LCMV, кодирующих GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300 у яванских макак, как описано на Фиг. 17 и таблице 11. Фиг. 20A–20F делают упор на IFN-γ ELISPOT, полученном после стимуляции с помощью пулов пептида Pol. 20A: Группа 1; 20B: Группа 2; 20C: Группа 3; 20D; Группа 4; 20E: Группа 5; 20F: Группа 6.

[0039] На Фиг. 21A–21B показана частота периферических специфических к ВГВ Т-клеток CD8+ (A) и Т-клеток CD4+ (B) на 14-й неделе яванских макак из групп 1, 2 и 6, как описано в таблице 11. Данные получены из PBMC, отобранных для исследований на 14-й неделе и повторно стимулированных пулами пептидов sAg, капсида и полимеразы ВГВ. Затем Т-субпопуляции CD4+ и CD8+ анализировали на внутриклеточный IFN-γ с помощью проточной цитометрии.

[0040] На Фиг. 22A–22C представлен ответ на антитело с HBsAg у яванских макак из группы 1 (22A), группы 2 (22B) и группы 6 (22C), как описано в таблице 11. Образцы сыворотки собирали в указанных временных точках и количественно определяли на предмет антител к HBsAg с помощью ELISA. Пунктирная линия указывает нижний предел количественного определения анализа (5 мМЕ/мл).

[0041] На Фиг. 23 представлена схема исследования, оценивающая иммуногенность репликационно-некомпетентных векторов LCMV, кодирующих GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol^{300}

(вакцина от ВГВ) отдельно или в комбинации с иммуномодуляторами анти-PD1, анти-CTLA4, анти-CD137 и слияния FLT3L-Fc в мышиной модели AAV-HBV. Мышам C57BL/6 в возрасте от шести до десяти недель трансдуцировали 10^{11} копий генома AAV-HBV на -35-е сутки. Мышей рандомизировали в экспериментальные группы на основе уровней HBsAg в сыворотке на 11-е сутки. Репликационно-некомпетентные векторы LCMV, кодирующие GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300, вводили внутривенно (в/в) в объеме 200 мкл на 0-е сутки, 21-е сутки и 42-е сутки. Мышам вводили внутрибрюшинно 200 мкл i) физиологического раствора на 0-е, 7-е, 14-е, 21-е, 28-е, 35-е, 42-е, 49-е и 56-е сутки; ii) моноклональное антитело к PD-1 RMP1-14 на 42-е, 46-е, 49-е, 53-е, 56-е и 60-е сутки; iii) клон 9D9 моноклонального антитела к CTLA-4 на 0-е, 4-е, 7-е, 11-е, 14-е, 18-е, 21-е, 25-е, 28-е, 32-е, 35-е, 39-е, 42-е, 46-е, 49-е и 53-е сутки; iv) клон mAb8 моноклонального антитела к CD137 (IgG2b) на 0-е, 21-е и 42-е сутки; v) слитый белок FLT3L-Fc на -7-е, 14-е и 35-е сутки. Звездочки обозначают дозы каждого иммуномодулятора. Спленоциты отбирали для исследования на 105-е сутки и оценивали для IFN-γ ELISPOT с применением пулов пептида sAg, капсида и Pol. В качестве положительного контроля для IFN-γ ELISPOT применяли группу мышей C57BL/6, которые не получали AAV-HBV, но которым вводили по отдельности репликационно-некомпетентные векторы LCMV.

[0042] На Фиг. 24A–24C представлена иммуногенность повторных вакцинаций с помощью репликационно-некомпетентных векторов LCMV, кодирующих GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300 у мышей AAV-HBV, как описано в таблице 12 и на Фиг. 23. Спленоциты отбирали для исследования на 105-е сутки и оценивали для IFN-γ ELISPOT с применением пулов пептида sAg (24A), капсида (24B) и полимеразы (24C). Статистический анализ проводили с помощью критериев Манна-Уитни. ns: не статистически значимое значение; *$p < 0{,}0332$, **$p < 0{,}0021$, ***$p < 0{,}0002$, ****$p < 0{,}0001$.

[0043] На Фиг. 25 представлена иммуногенность примирующей/усиливающей вакцинации с помощью репликационно-некомпетентных векторов PICV (VV2), кодирующих GT-B Pol^{300} ori или GT-B Pol^{300} dint у мышей C57BL/6. Животным вводили 2 дозы вакцины на 0-е и 21-е сутки. Спленоциты отбирали для исследования на 28-е сутки, и специфичные к полимеразе ВГВ Т-клеточные иммунные ответы измеряли с помощью FIN-γ ELISPOT с применением пулов пептидов Pol. Данные выражены в виде значений с вычтенным фоном (без пептида). Статистический анализ проводили с применением критериев Манна-Уитни. ** $p < 0{,}0021$.

[0044] На Фиг. 26A–26C показана иммуногенность гомологичной и гетерологичной примирующей/усиливающей вакцинации с помощью репликационно-некомпетентных векторов LCMV (VV1) и PICV (VV2), кодирующих GT-D iCore-P2A-sAg или GT-B Pol^{300} у мышей C57BL/6. Животным вводили 2 дозы вектора на 0-е сутки и 21-е сутки, как описано в таблице 15. Спленоциты отбирали для исследования на 28-е сутки, и специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы измеряли с помощью FIN-γ ELISPOT с применением пулов пептидов sAg (26A), капсида (26B) и полимеразы (26C). Данные выражены в виде значений с вычтенным фоном (без пептида).

[0045] На Фиг. 27 представлен ответ на антитело с HBsAg у мышей C57BL/6, которым вводили репликационно-некомпетентные векторы LCMV и PICV, кодирующие GT-D iCore-P2A-sAg, с применением гомологичной (VV1/VV1) или гетерологичной (VV2/VV1) примирующей/усиливающей вакцинации на 0-е сутки и 21-е сутки. Образцы сыворотки собирали на

28-е сутки и количественно определяли на предмет антител к HBsAg с помощью ELISA. Пунктирная линия указывает нижний предел количественного определения анализа (20 мМЕ/мл). Статистический анализ проводили с применением критериев Манна-Уитни. ** $p < 0,0021$.

[0046] На Фиг. 28A–28C показана иммуногенность гомологичной и гетерологичной примирующей/усиливающей вакцинации с помощью репликационно-аттенулированных векторов LCMV (TT1) и PICV (TT2), кодирующих GT-D капсид-P2A-sAg или GT-B Pol^{300} у мышей C57BL/6. Животным вводили 2 дозы векторов на 0-й день и 21-й день, как описано в таблице 16. Спленоциты отбирали для исследования на 28-е сутки, и специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы измеряли с помощью FIN-γ ELISPOT с применением пулов пептидов sAg (28A), капсида (28B) и полимеразы (28C).

[0047] На Фиг. 29 показана иммуногенность гомологичной и гетерологичной примирующей/усиливающей вакцинации с помощью репликационно-дефицитных векторов LCMV (VV1) и PICV (VV2), кодирующих GT-D капсид-P2A-sAg и GT-B Pol^{300} у яванских макак. Животным вводили 2 дозы векторов, одну на 0-й неделе и одну на 4-й неделе. PBMC отбирали для исследования на 6-й неделе, и специфичные к ВГВ Т-клеточные иммунные ответы измеряли с помощью FIN-γ ELISPOT с применением пулов пептидов sAg, капсида и полимеразы. Данные выражены в общих специфичных к ВГВ Т-клеточных ответах, определенных как сумма значений IFN-γ ELISPOT, полученных после стимуляции с помощью пулов пептидов sAg, капсида и полимеразы. Нижний предел количественного определения (LLOQ) ELISPOT (пунктирная линия) определяли как 200 IFN-γ+ $SFU/10^6$ PBMC. Статистический анализ проводили с применением критерия Манна-Уитни.

[0048] На Фиг. 30 показана иммуногенность гомологичной и гетерологичной примирующей/усиливающей вакцинации с помощью репликационно-дефицитных векторов LCMV (VV1) и PICV (VV2), кодирующих GT-D капсид-P2A-sAg и GT-B Pol^{300}, вводимых еженедельно яванским макакам. Животным вводили 4 дозы векторов на 0-й, 1-й, 2-й и 3-й неделе. PBMC отбирали для исследования на 4-й неделе, и специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы измеряли с помощью FIN-γ ELISPOT с применением пулов пептидов sAg, капсида и полимеразы. Данные выражены в общих специфичных к ВГВ Т-клеточных ответах, определенных как сумма значений IFN-γ ELISPOT, полученных после стимуляции с помощью пулов пептидов sAg, капсида и полимеразы. Нижний предел количественного определения (LLOQ) ELISPOT (пунктирная линия) определяли как 200 IFN-γ+ $SFU/10^6$ PBMC.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Введение

[0049] Предложены полипептиды, используемые для обеспечения защитного иммуного ответы на один или более антигенов вируса гепатита B (ВГВ) у человека. иммуногенные полипептиды, описанные в настоящем документе, способны вызывать профилактические и/или терапевтические иммунные ответы у человека на один или более антигенов вируса гепатита B (ВГВ). Как правило, иммуногенные полипептиды, описанные в настоящем документе, содержат высококонсервативные участки белков ВГВ, чтобы индуцировать ответы на эпитопы, которые идентичны в антигене вакцины и в инфицирующем ВГВ, присутствующем у пациента, при этом

также исключая низкоконсервативные участки, тем самым предотвращая появление иммунодоминантных Т-клеточных ответов, нацеленных на эпитопы, отсутствующие в инфицирующем штамме ВГВ пациента. Описанные в настоящем документе иммуногенные полипептиды дополнительно индуцируют Т-клеточные иммунные ответы на CD4+ и CD8+ для облегчения уничтожения инфицированных клеток, а также дополнительно гуморальные иммунные ответы на антитела sAg, которые облегчают выведение sAg, тем самым снижая или устраняя распространение остаточного вируса, если не достигается абсолютное выведение вируса. Более того, описанные в настоящем документе иммуногенные полипептиды продемонстрированы иммуногенное действие при выпуске с применением технологий вакцины, способных индуцировать желательные ответы у людей и стабильные в векторах доставки через достаточное количество циклов репликации вектора, чтобы обеспечить промышленное производство вакцины. иммуногенные полипептиды можно использовать в различных векторных системах, индуцирующих Т-клетки CD4+ и CD8+ и обеспечивающих ответы антитела у людей и других приматов. В определенных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды экспрессируются из векторов аренавируса, которые могут многократно дозироваться без индукции антител к вектору, тем самым преодолевая ограничение многих предыдущих технологий вирусного вектора и обеспечивая возможность усиления терапевтического эффекта при многократном введении дозы.

2. Полипептиды, применяемые для стимулирования иммуного ответа на вирус гепатита B (ВГВ)

[0050] Предложены иммуногенные полипептиды, применяемые для стимулирования, индуцирования и/или вызова иммуногенного ответа на один или более антигенов вируса гепатита B (ВГВ). В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды содержат варианты и/или фрагменты полипептидов, кодируемых геном полимеразы (Pol) ВГВ, и слитые полипептиды, имеющие последовательно, от N-конца к С-концу, вариант и/или фрагмент полипептида, кодируемого геном капсида ВГВ, и вариант и/или фрагмент полипептида, кодируемого геном поверхностного антигена (sAg). иммуногенные полипептиды могут содержать аминокислотные последовательности на основе консенсусных или близких к консенсусным последовательностей генотипов A, B, C или D ВГВ и их комбинаций. Как правило, иммуногенные полипептиды, описанные в настоящем документе, не содержат последовательности белка X ВГВ (HBx), предкапсида, pre-S1, pre-S2 или их фрагментов.

[0051] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, описанные в настоящем документе, и/или полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, представлены в выделенной форме. Это означает, что такой полипептид или полинуклеотид составляет по меньшей мере 50 мас.% чистоты интерферирующих белков, клеточных и других загрязнителей, возникающих в результате его выработки или очистки, но не исключает возможности комбинирования агента с избыточным(-и) фармацевтически приемлемым(-и) носителем(-ями) или другой несущей средой, предназначенной для облегчения его применения. Термин «выделенный» применительно к полипептиду или полинуклеотиду, как описано в настоящем документе, означает, что полипептид или полинуклеотид по существу не содержит клеточные компоненты, с которыми он связан в естественном состоянии. Он может быть, например, в гомогенном состоянии и может находиться в сухом или водном растворе. Чистота и однородность могут быть определены с применением

известных способов, например, методик аналитической химии, таких как электрофорез в полиакриламидном геле, колоночная хроматография, тонкослойная хроматография или высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Белок, который является преобладающим видом, присутствующим в препарате, является по существу очищенным. «Выделенный» или «очищенный» полипептид или полинуклеотид по существу не содержит другого клеточного материала или культуральной среды при получении посредством рекомбинантных методик или химических предшественников или других химических веществ при химическом синтезе. В различных вариантах осуществления очищенные полипептиды и/или полинуклеотиды составляют по меньшей мере 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% (мас.), отделенные от, очищенные от или не содержащие интерферирующих белков и загрязняющих веществ из выработки или очистки. Часто агент представляет собой преобладающие макромолекулярные виды, оставшиеся после его очистки.

Варианты полипептида полимеразы ВГВ

[0052] В различных вариантах осуществления предложены усеченные и/или мутантные полипептиды с внутренней делецией полимеразы вируса гепатита В (ВГВ).

[0053] ВГВ дикого типа имеет четыре домена, расположенных в тандеме в одном полипептиде от N-конца к С-концу: концевой домен белка (TP), консервативный к семейству гепаднавирусов (аминокислотные остатки 1–177), область спейсера (аминокислотные остатки 178–335), домен, связывающий концевой белок с обратной транскриптазой (RT) (аминокислотные остатки 336–678; содержащие консервативный домен NCBI pfam00078 или cd01645) и С-концевой домен РНазы Н (RH) (аминокислотные остатки 679–832). *См.*, например, Lanford, *et al., J. Virol.* (1999) 73(3): 1885–93; Vörös, *et al., J Virol.* (2014) 88(5):2584-99 и Jones, *et al., J Virol.* (2014) 88(3):1564-72. В вариантах полимеразы ВГВ, описанных в настоящем документе, вся область спейсера или ее часть была удалена или исключена. В усеченных мутантах полимеразы ВГВ весь домен TP был удален или исключен.

[0054] Как правило, ферментативные домены, т. е. домены обратной транскриптазы и РНазы Н, инактивированы в мутантах белка полимеразы ВГВ, описанных в настоящем документе. В различных вариантах осуществления домен обратной транскриптазы не содержит мотив YMDD (SEQ ID NO: 97). В некоторых вариантах осуществления мотив YMDD (SEQ ID NO: 97) в домене обратной транскриптазы изменен на YMHD (SEQ ID NO: 99). В некоторых вариантах осуществления домен РНазы Н не содержит мотив AELL (SEQ ID NO: 98). В некоторых вариантах осуществления мотив AELL (SEQ ID NO: 98) в домене РНазы Н изменен на AHLL (SEQ ID NO: 100).

Усеченные мутанты полимеразы

[0055] В некоторых вариантах осуществления усеченные полипептиды полимеразы ВГВ содержат инактивированный домен обратной транскриптазы и инактивированную РНазу Н, причем полипептид не содержит весь домен концевого белка (TP) и не содержит весь спейсерный домен или его часть (т. е. домен концевого белка (TP) и весь спейсерный домен или его часть удаляют, изолируют или исключают). В усеченных полипептидах полимеразы ВГВ, описанных в настоящем документе, весь домен TP и весь спейсерный домен или его часть или область удаляют или

исключают. Например, в некоторых вариантах осуществления N-концевые 300 аминокислоты нативной полимеразы ВГВ или полимеразы ВГВ дикого типа удаляют или исключают из усеченных полипептидов полимеразы ВГВ, описанных в настоящем документе. В различных вариантах осуществления инактивированный домен обратной транскриптазы и инактивированная РНаза Н могут быть непосредственно слиты или функционально связаны или соединены посредством линкера, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления усеченный полипептид полимеразы ВГВ имеет длину не более 600 аминокислот, например, длину не более 595, 590, 585, 580, 575, 570, 565, 560, 555, 550, 545, 540 или 535 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления усеченные полипептиды полимеразы ВГВ содержат 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534 или 535 С-концевых аминокислот нативной полимеразы ВГВ или полимеразы ВГВ дикого типа.

[0056] В некоторых вариантах осуществления усеченные полипептиды полимеразы ВГВ содержат аминокислотную последовательность, соответствующую аминокислотным остаткам 300–832, 301–832, 302–832, 303–832, 304–832, 305–832, 306–832, 307–832, 308–832, 309–832, 310–832, 311–832, 312–832, 313–832, 314–832, 315–832, 316–832, 317–832, 318–832, 319–832, 320–832, 325–832, 326–832, 327–832, 328–832, 329–832, 330–832, 331–832, 332–832, 333–832, 334–832, 335–832 или 336–832 нативной полимеразы ВГВ или полимеразы ВГВ дикого типа. Как используется в настоящем документе, нумерация данного полимера аминокислоты или полимера нуклеиновой кислоты «соответствует», является «соответствующей» или «относительно» нумерации выбранного или эталонного аминокислотного полимера или полимера нуклеиновой кислоты, когда положение любого данного полимерного компонента (например, аминокислоты, нуклеотида, также обозначаемого в общем как «остаток») обозначается ссылкой на то же или эквивалентное положение (например, на основе оптимального выравнивания или консенсусной последовательности) в выбранном аминокислотном полимере или полимере нуклеиновой кислоты, а не фактическим числовым положением компонента в данном полимере. В различных вариантах осуществления усеченные полипептиды полимеразы ВГВ содержат аминокислотную последовательность, соответствующую аминокислотным остаткам 300–832. В таких вариантах осуществления N-конец соответствует положению аминокислоты 300 прототипа белка генотипа D pol. N-концевые остатки 6 аминокислот этой последовательности представляют собой SARSQS (SEQ ID NO: 95) в антигене генотипа D Pol и SSRSQS (SEQ ID NO: 96) в антигене генотипа B Pol. Литературные данные показали, что этот N-концевой начальный участок обеспечивает функцию домена RT (*см.*, например, Lanford, *et al., выше*) и экспрессию усеченного белка *in vitro* (*см.*, например, Vörös, *et al., выше*).

[0057] В некоторых вариантах осуществления усеченный полипептид полимеразы ВГВ принадлежит генотипу В ВГВ и содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах осуществления усеченный полипептид полимеразы ВГВ принадлежит генотипу В ВГВ и не содержит полипептидную последовательность (т. е. последовательность исключена, излирована или удалена; последовательность не включена) SEQ ID NO: 50, или последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 50.

[0058] В некоторых вариантах осуществления усеченный полипептид полимеразы ВГВ принадлежит генотипу D ВГВ и содержит или состоит из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 14 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах осуществления усеченный полипептид полимеразы ВГВ принадлежит генотипу D ВГВ и не содержит полипептидную последовательность SEQ ID NO: 51, или последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 51.

[0059] Можно внести модификации в структуру полипептидов и полинуклеотидов, кодирующих такие полипептиды, описанные в настоящем документе, и при этом получить функциональную молекулу, которая кодирует вариант или производное полипептида с требуемыми (например, иммуногенными) характеристиками. Когда желательно изменить аминокислотную последовательность полипептида для создания эквивалентного или даже улучшенного варианта или части полипептида, описанного в настоящем документе, специалист в данной области техники, как правило, изменяет один или более кодонов кодирующей последовательности ДНК.

[0060] Например, некоторые аминокислоты могут быть заменены другими аминокислотами в структуре белка без заметной потери его способности связывать другие полипептиды (например, антигены) или клетки. Так как именно связывающая способность и природа белка определяют его биологическую функциональную активность, определенные замены аминокислотной последовательности могут быть произведены в последовательности белка и, конечно, в его кодирующей последовательности ДНК, и тем не менее получить белок с аналогичными свойствами. Таким образом, предполагается, что различные изменения могут быть внесены в полипептидные последовательности описанных полипептидов или соответствующие последовательности ДНК, которые кодируют такие полипептиды без заметной потери их биологической эффективности или активности.

[0061] Используемый в данном документе термин «замена» означает замену одной или более аминокислот или нуклеотидов другими аминокислотами или нуклеотидами, соответственно.

[0062] Во многих случаях вариант полипептида будет содержать одну или более консервативных замен. «Консервативная замена» представляет собой замену, при которой аминокислота заменяется другой аминокислотой, которая имеет аналогичные свойства, так что специалист в области химии пептидов может ожидать, что вторичная структура и профиль гидропатичности полипептида по существу не изменится.

[0063] Используемый в настоящем документе термин «идентичность» означает процент идентичных нуклеотидных или аминокислотных остатков в соответствующих положениях в двух или более последовательностях, когда последовательности выровнены для максимального сопоставления последовательностей, т. е. с учетом гэпов и вставок. Последовательности по существу выровнены для максимального соответствия по обозначенной области, например, области по меньшей мере 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65 или более аминокислот или нуклеотидов длиной и может быть вплоть до полной длины эталонного полипептида или полинуклеотидной последовательности. Для сравнения

последовательностей, как правило, одна последовательность применяется как эталонная последовательность, для которой сравниваются тестовые последовательности. При применении алгоритма сравнения последовательности тестовые и эталонные последовательности вводят в компьютерную программу, при необходимости обозначают координаты подпоследовательности и обозначают параметры программы алгоритма последовательности. В противном случае можно применять стандартные параметры. Затем алгоритм сравнения последовательностей вычисляет процент идентичности последовательности для тестовой(-ых) последовательности(-ей) относительно эталонной последовательности на основе обозначенных параметров программы.

[0064] При сравнении полинуклеотидных и полипептидных последовательностей две последовательности называют «идентичными», если последовательность нуклеотидов или аминокислот в двух последовательностях является одинаковой при выравнивании для максимального соответствия, как описано ниже. Сравнения двух последовательностей обычно выполняются путем сравнивания последовательностей в окне сравнения для идентификации и сравнения локальных областей сходства последовательностей. «Окно сравнения», используемое в настоящем документе, относится к сегменту из по меньшей мере около 20 смежных положений, как правило, от 30 до около 75, от 40 до около 50 или по всей длине последовательности, в котором последовательность может сравниваться с эталонной последовательностью с таким же количеством смежных положений после того, как две последовательности были оптимально выровнены.

[0065] Оптимальное выравнивание последовательностей для сравнения может быть проведено с использованием программы Megalign в пакете биоинформатического программного обеспечения Lasergene (DNASTAR, Inc., Мэдисон, штат Висконсин) с использованием параметров по умолчанию. В этой программе реализовано несколько схем выравнивания, описанных в следующих ссылках: Dayhoff, M.O. (1978) A model of evolutionary change in proteins - Matrices for detecting distant relationships. В Dayhoff, M.O. (ed.) Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, Washington DC Vol. 5, Suppl. 3, pp. 345-358; Hein J. (1990) Unified Approach to Alignment and Phylogenes pp. 626-645 Methods in Enzymology vol. 183, Academic Press, Inc., San Diego, CA; Higgins, D.G. and Sharp, P.M. (1989) CABIOS 5: 151-153; Myers, E.W. and Muller W. (1988) CABIOS 4:11-17; Robinson, E.D. (1971) Comb. Theor 77: 105; Santou, N. Nes, M. (1987) Mol. Biol. Evol. 4:406-425; Sneath, P.H.A. and Sokal, R.R. (1973) Numerical Taxonomy - the Principles and Practice of Numerical Taxonomy, Freeman Press, San Francisco, CA; Wilbur, W.J. and Lipman, D.J. (1983) Proc. Natl. Acad., Sci. USA 80:726-730.

[0066] В качестве альтернативы оптимальное выравнивание последовательностей для сравнения может быть выполнено с помощью алгоритма для локального выравнивания согласно Smith and Waterman (1981) Add. APL. Math 2:482, алгоритма глобального выравнивания Needleman and Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48:443, способа поиска сходства по Pearson and Lipman, (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 2444, посредством компьютеризированной реализации данных алгоритмов (GAP, BESTFIT, FASTA, и TFASTA в Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group (GCG), 575 Science Dr., Мэдисон, штат Висконсин) или посредством визуального осмотра.

[0067] Одним примером алгоритма, который подходит для определения процента идентичности последовательностей и сходства последовательностей, являются алгоритмы BLAST и

BLAST 2.0, описанные в Altschul et al., (1977) Nuc. Acids Res. 25:3389-3402 и Altschul et al. (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410, соответственно. BLAST и BLAST 2.0 можно использовать, например, с параметрами, описанными в настоящем документе, для определения процентной идентичности последовательностей полинуклеотидов и полипептидов, описанных в настоящем документе. Программное обеспечение для проведения анализов BLAST публично доступно на сайте Национального центра биотехнологической информации (ncbi.nlm.nih.gov).

[0068] В одном иллюстративном примере совокупные баллы могут быть рассчитаны с использованием параметров M для нуклеотидных последовательностей (балл вознаграждения для пары совпадающих остатков; всегда >0) и N (штрафной балл за несовпадающие остатки; всегда <0). Расширение зачетов слов в каждом направлении прекращает, когда: совокупный балл выравнивания падает на величину X от его максимального достигнутого значения; совокупный балл стремится к нулю или ниже, вследствие накопления одного или более отрицательных баллов выравнивания остатков; или в конце каждой последовательности. Параметры W, T и X алгоритма BLAST определяют чувствительность и скорость выравнивания. Программа BLASTN (для нуклеотидных последовательностей) использует по умолчанию длину слова (W), равную 11, и математическое ожидание (E), равное 10, и матрицу весов BLOSUM62 (см. Henikoff and Henikoff (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89: 10915) выравнивания (B), равные 50, ожидание (E), равное 10, M=5, N=-4 и сравнение обоих цепей.

[0069] Для аминокислотных последовательностей, матрица подсчета балов может использоваться для расчета совокупного балла. Расширение зачетов слов в каждом направлении прекращает, когда: совокупный балл выравнивания падает на величину X от его максимального достигнутого значения; совокупный балл стремится к нулю или ниже, вследствие накопления одного или более отрицательных баллов выравнивания остатков; или в конце каждой последовательности. Параметры W, T и X алгоритма BLAST определяют чувствительность и скорость выравнивания.

[0070] В одном подходе «процент идентичности последовательностей» определяется путем сравнения двух оптимально выровненных последовательностей в окне сравнения по меньшей мере из 20 положений, например, по меньшей мере из 50 положений, по меньшей мере 100 положений или по всей длине эталонной последовательности, причем часть полинуклеотидной или полипептидной последовательности в окне сравнения может иметь добавления или удаления (т. е. гэпы) 20 процентов или менее, как правило, от 5 до 15 процентов или от 10 до 12 процентов, по сравнению с эталонными последовательностями (которые не имеют добавлений или делеций) для оптимального выравнивания двух последовательностей. Процент рассчитывается путем определения количества положений, в которых идентичные основания нуклеиновой кислоты или аминокислотные остатки встречаются в обеих последовательностях, чтобы получить количество совпадающих положений, путем деления количества совпадающих положений на общее количество положений в эталонной последовательности (т.е. размер окна) и умножение результатов на 100 для получения процента идентичности последовательностей.

[0071] «Вариант полипептида», как этот термин используется в настоящем документе, представляет собой полипептид, который, как правило, отличается от полипептида, конкретно описанного в настоящем документе, одной или более заменами, делециями, добавлениями и/или

вставками. Такие варианты могут встречаться в природе или могут быть получены синтетически, например, путем модификации одной или более из вышеуказанных полипептидных последовательностей, описанных в настоящем документе, и оценки одной или более биологических активностей полипептида, как описано в настоящем документе, и/или с применением любого из ряда методов, хорошо известных в данной области техники. Термин «вариант» может также относиться к любой природной или сконструированной молекуле, содержащей одну или более нуклеотидных или аминокислотных мутаций.

[0072] Иллюстративные усеченные мутанты полимеразы ВГВ для применения в активации, индуцировании или вызове иммуногенного ответа, например, в отношении полимеразного антигена, экспрессированного ВГВ, представлены в таблице А. Иллюстративные N-концевые сегменты последовательности, удаленные или исключенные и, следовательно, не содержащиеся в них, усеченные мутанты полимеразы ВГВ, описанные в настоящем документе, представлены в таблице В.

Таблица А – Мутанты Pol^{300} – мотивы, содержащие инактивирующие мутации, подчеркнуты (YMDD, мутировавший в YMHD, AELL, мутировавший в AHLL).

SEQ ID NO:	Генотип ВГВ	Длина (кол-во аминокислот)	Полипептидная последовательность
13	B	534	MSSRSQSQGPVLSCWWLQFRNSEPCSEYCLCHIVNLIEDWGPCTEHGE HRIRTPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDFSQFSRGNTRVSWP KFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMPHLLVGSSG LSRYVARLSSNSRIINNQHRTMQNLHDSCSRNLYVSLMLLYKTYGRK LHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVRRAFPHCLAFSYM HDVVLGAKSVQHLESLYAAVTNFLLSLGIHLNPHKTKRWGYSLNFMG YVIGSWGTLPQEHIVQKIKMCFRKLPVNRPIDWKVCQRIVGLLGFAAP FTQCGYPALMPLYACIQAKQAFTFSPTYKAFLSKQYLHLYPVARQRPG LCQVFADATPTGWGLAIGHQRMRGAFVSPLPIHTAHLLAACFARSRS GAKLIGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPAD DPSRGRLGLYRPLLRLLYRPTTGRTSLYADSPSVPSHLPDRVHFASPLH VAWRPP
14	D	534	MSARSQSERPVFPCWWLQFRNSKPCSDYCLSHIVNLLEDWGPCAEHG EHHIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTAESRLVVDFSQFSRGNYRVSW PKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMPHLLVGSS GLSRYVARLSSNSRIFNYQHGTMQNLHDSCSRNLYVSLMLLYQTFGR KLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVRRAFPHCLAFSY MHDVVLGAKSVQHLESLFTAVTNFLLSLGIHLNPNKTKRWGYSLHFM GYVIGCYGSLPQDHIIQKIKECFRKLPVNRPIDWKVCQRIVGLLGFAAP FTQCGYPALMPLYACIQSKQAFTFSPTYKAFLCKQYLNLYPVARQRPG LCQVFADATPTGWGLVMGHQRMRGTFKAPLPIHTAHLLAACFARSRS GANILGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPAD DPSRGRLGLYRPLLRLPFRPTTGRTSLYADSPSVPSHLPDRVHFASPLH VAWRPP

Таблица B — N-концевая полипептидная последовательность, удаленная из усеченных мутантов Pol^{300}		
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Полипептидная последовательность**
50	B	PLSYQHFRKLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNLGNLNVSIPWTHKVG NFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSFPHIHLQEDIINRCQQYVGPLTVNEKRRLKLIMPARF YPNLTKYLPLDKGIKPYYPEHVVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRESTRSASFCGS PYSWEQDLQHGRLVFQTSKRHGDKSFCPQSPGILPRSSVGPCIQNQLRKSRLGPQPA QGQLAGRQQGGSGSIRARVHPSPWGTVGVEPSGSGHIHNCASNSSSCLHQSAVRKA AYSHISTSKGHSSSGHAVELHHFPPS
51	D	PLSYQHFRRLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNLGNLNVSIPWTHKVG NFTGLYSSTVPVFNPHWKTPSFPNIHLHQDIIKKCEQFVGPLTVNEKRRLQLIMPARF YPNVTKYLPLDKGIKPYYPEHLVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTHSASFCGS PYSWEQELQHGAESFHQQSSGILSRPPVGSSLQSKHRKSRLGLQSQQGHLARRQQG RGWSIRAGIHPTARRPFGVEPSGSGHTANLASKSASCLYQSAVRKAAYPVVSTFKK HSSSGHAVELHNLPPN

[0073] В некоторых вариантах осуществления усеченный полипептид полимеразы ВГВ не содержит аминопоследовательность или ее фрагмент из другого белка ВГВ. В некоторых вариантах осуществления усеченный полипептид полимеразы ВГВ не содержит аминопоследовательность или ее фрагмент из белка ВГВ, выбранного из группы, состоящей из предкапсида, капсида, X и оболочки (например, небольшой, средний или большой поверхностный антиген (sAg)).

Мутантные полипептиды с внутренней делецией

[0074] Дополнительно предложены мутантные полипептиды полимеразы ВГВ с внутренней делецией. В некоторых вариантах осуществления мутантные полипептиды полимеразы ВГВ с внутренней делецией содержат последовательно от N-конца к С-концу домен концевого белка (TP), инактивированный домен обратной транскриптазы и инактивированную РНазу H, причем мутантный полипептид не содержит весь спейсерный домен или его часть (т. е. весь спейсерный домен или его часть или область удалена или исключена). В различных вариантах осуществления мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией имеет длину не более 800 аминокислот, например, длину не более 795, 790, 785, 780, 775, 770, 765, 760, 755, 750, 745, 740, 735, 730, 725, 720, 715, 710 или 705 аминокислот. В некоторых вариантах осуществления мутантные полипептиды полимеразы ВГВ с внутренней делецией содержат последовательно от N-конца к С-концу домен концевого белка (TP) и аминокислотную последовательность, соответствующую аминокислотным остаткам 300–832, 301–832, 302–832, 303–832, 304–832, 305–832, 306–832, 307–832, 308–832, 309–832, 310–832, 311–832, 312–832, 313–832, 314–832, 315–832, 316–832, 317–832, 318–832, 319–832, 320–832, 325–832, 326–832, 327–832, 328–832, 329–832, 330–832, 331–832, 332–832, 333–832, 334–832, 335–832 или 336–832 нативной полимеразы ВГВ или полимеразы ВГВ дикого типа. В различных вариантах осуществления домен концевого белка (TP), инактивированный домен обратной транскриптазы и инактивированная РНазу H независимо могут быть непосредственно слиты или функционально связаны или соединены посредством линкера, например, как описано в настоящем документе, например, как представлено в таблице J.

[0075] В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид полимеразы ВГВ с внутренней делецией принадлежит генотипу А ВГВ и содержит или состоит из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 5 и 9 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 5 и 9. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид полимеразы ВГВ с внутренней делецией принадлежит генотипу А ВГВ и не содержит полипептид SEQ ID NO: 42 или 46 или последовательности, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 42 или 46.

[0076] В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид полимеразы ВГВ с внутренней делецией принадлежит генотипу В ВГВ и содержит или состоит из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 6 и 10 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 6 и 10. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид полимеразы ВГВ с внутренней делецией принадлежит генотипу В ВГВ и не содержит полипептид SEQ ID NO: 43 или 47, или последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 43 или 47.

[0077] В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид полимеразы ВГВ с внутренней делецией принадлежит генотипу С ВГВ и содержит или состоит из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 8 и 11 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 8 и 11. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид полимеразы ВГВ с внутренней делецией принадлежит генотипу С ВГВ и не содержит полипептид SEQ ID NO: 44 или 48, или последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 44 или 48.

[0078] В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид полимеразы ВГВ с внутренней делецией принадлежит генотипу D ВГВ и содержит или состоит из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 9 и 12 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 9 и 12. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид полимеразы ВГВ с внутренней делецией принадлежит генотипу D ВГВ и не содержит полипептид SEQ ID NO: 45 или 49, или последовательность, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 45 или 49.

[0079] В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид полимеразы ВГВ с внутренней делецией не содержит аминопоследовательность или ее фрагмент из другого белка ВГВ. В некоторых вариантах осуществления мутантный полипептид полимеразы ВГВ с внутренней делецией не содержит аминопоследовательность или ее фрагмент из белка ВГВ, выбранного из группы, состоящей из предкапсида, капсида, X и оболочки (например, небольшой, средний или большой поверхностный антиген (sAg)).

[0080] Иллюстративные мутантные полипептиды полимеразы ВГВ с внутренней делецией для применения в активации, индуцировании или вызове иммуногенного ответа, например, в отношении полимеразного антигена, экспрессированного ВГВ, представлены в таблицах C и E. Иллюстративные внутренние сегменты аминокислотной последовательности, удаленные или исключенные и, следовательно, не содержащиеся в них, мутантные полипептиды полимеразы ВГВ с внутренней делецией, описанные в настоящем документе, например, соответствующие всей или части области спейсера полимеразы ВГВ, представлены в таблицах D и F.

Слитые полипептиды капсид-полимеразы

[0081] В различных вариантах осуществления варианты полипептида полимеразы ВГВ с внутренней делецией, описанные в настоящем документе, слиты с помощью полипептида капсида ВГВ. Полипептид капсада может быть расположен либо N-концом, либо C-концом к полимеразе ВГВ. Кроме того, предложены слитые полипептиды, содержащие последовательно от N-конца к C-концу полипептид капсида ВГВ и усеченный или с внутренней делецией мутантный полипептид полимеразы ВГВ, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления слитый полипептид капсид-Pol содержит мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией, описанный в настоящем документе, содержит последовательно от N-конца к C-концу капсидный полипептид ВГВ и мутантный полипептид полимеразы ВГВ с внутренней делецией, как описано в настоящем документе.

[0082] В некоторых вариантах осуществления слитый полипептид капсид-Pol содержит или состоит из аминокислотной последовательности любого из SEQ ID NO: 19–26 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 19–26.

[0083] В некоторых вариантах осуществления мутантный слитый белок капсид-полимеразы ВГВ с внутренней делецией не содержит аминопоследовательность или ее фрагмент из белка ВГВ, выбранного из группы, состоящей из X, предкапсида и оболочки (например, небольшой, средний или большой поверхностный антиген (sAg)).

[0084] Иллюстративные слитые белки капсид-полимеразы для применения в активации, индуцировании или вызове иммуногенного ответа, например, в отношении антигена капсида и/или полимеразы, экспрессируемого ВГВ, представлены в таблице G.

Таблица C – Мутанты Pol$^{\Delta 1}$: Мотивы, содержащие инактивирующие мутации, подчеркнуты (YMDD, мутировавший в YMHD, AELL, мутировавший в AHLL). Аминокислоты, выделенные жирным шрифтом + подчеркиванием + курсивом на участке делеции (последняя аминокислота перед удаленной областью и первая аминокислота после удаленной области).

SEQ ID NO:	Генотип ВГВ	Длина (кол-во аминокислот)	Полипептидная последовательность
5	A	755	MPLSYQHFRKLLLLDDETEAGPLEEELPRLADEDLNRRVAEDLNL GNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPIFNPEWQTPSFPKIHLHEDIAN RCQQFVGPLTVNEKRRLRLIMPARFYPNSTKYLPLDKGIKPYYPDH

Таблица С – Мутанты Pol$^{\Delta 1}$: Мотивы, содержащие инактивирующие мутации, подчеркнуты (YMDD, мутировавший в YMHD, AELL, мутировавший в AHLL). Аминокислоты, выделенные жирным шрифтом + подчеркиванием + курсивом на участке делеции (последняя аминокислота перед удаленной областью и первая аминокислота после удаленной области).			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Длина (кол-во аминокислот)**	**Полипептидная последовательность**
			VVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTRSASFCGSPYSWEQELHH GRLVIKTSQRHGDEPFCSQPSGILSRSSVG***PE***FHSFPPSSARSQSQGP VFSCWWLQFRNTQPCSKYCLSHLVNLLEDWGPCDEHGEHHIRIPR TPARVTGGVFLVDKNPHNTAESRLVVDFSQFSRGITRVSWPKFAVP NLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHIPLHPAAMPHLLVGSSGLSR YVARLSSNSRIHNNQHGTLQNLHDSCSRQLYVSLMLLYKTYGRKL HLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVRRAFPHCLAFSY MHDVVLGAKSVQHLESLYTAVTNFLLSLGIHLNPNKTKRWGYSLN FMGYVIGSWGTLPQDHIVQKIKHCFRKLPINRPIDWKVCQRIVGLL GFAAPFTQCGYPALMPLYACIQAKQAFTFSPTYKAFLSKQYLNLYP VARQRPGLCQVFADATPTGWGLAIGHQRMRGTFVAPLPIHTAHLL AACFARSRSGAKLIGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCTANWILRGTSF VYVPSALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLPYRPTTGRTSLYAVSPSVPS HLPVRVHFASPLHVAWRPP
6	B	749	MPLSYQHFRKLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNLGN LNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSFPHIHLQEDIINRC QQYVGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPNLTKYLPLDKGIKPYYPEHVV NHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRESTRSASFCGSPYSWEQDLQHGR LVFQTSKRHGDKSFCPQSPGILPR***SE***LHHFPPSSSRSQSQGPVLSCW WLQFRNSEPCSEYCLCHIVNLIEDWGPCTEHGEHRIRTPRTPARVT GGVFLVDKNPHNTTESRLVVDFSQFSRGNTRVSWPKFAVPNLQSL TNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMPHLLVGSSGLSRYVARL SSNSRIINNQHRTMQNLHDSCSRNLYVSLMLLYKTYGRKLHLYSHP IILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVRRAFPHCLAFSYMHDVV LGAKSVQHLESLYAAVTNFLLSLGIHLNPHKTKRWGYSLNFMGYV IGSWGTLPQEHIVQKIKMCFRKLPVNRPIDWKVCQRIVGLLGFAAP FTQCGYPALMPLYACIQAKQAFTFSPTYKAFLSKQYLHLYPVARQ RPGLCQVFADATPTGWGLAIGHQRMRGAFVSPLPIHTAHLLAACF ARSRSGAKLIGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVP SALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLLYRPTTGRTSLYADSPSVPSHLPD RVHFASPLHVAWRPP
7	C	753	MPLSYQHFRKLLLLDDEAGPLEEELPRLADEDLNRRVAEDLNLGN LNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSFPHIHLQEDIINRC QQYVGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPNLTKYLPLDKGIKPYYPEHTV NH
			YFKTRHYLHTLWKAGILYKRETTRSASFCGSPYSWEQELQHGRLV FQTSTRHGDESFCSQSSGILSRSPVG***PE***LHNFPPSSARSQSEGPLLSC WWLQFRNSKPCSDYCLSHIVNLLEDWGPCTEHGEHNIRIPRTPARV TGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDFSQFSRGSTHVSWPKFAVPNLQSL TNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMPHLLVGSSGLSRYVARL SSTSRNINYQHGAMQDLHDSCSRNLYVSLLLLYKTFGRKLHLYSHP IILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVRRAFPHCLAFSYMHDVV LGAKSVQHLESLFTAVTNFLLSLGIHLNPNKTKRWGYSLNFMGYVI GSWGTLPQEHIVLKIKQCFRKLPVNRPIDWKVCQRIVGLLGFAAPF TQCGYPALMPLYACIQAKQAFTFSPTYKAFLCKQYLNLYPVARQR SGLCQVFADATPTGWGLAVGHQRMRGTFVSPLPIHTAHLLAACFA RSRSGAKLIGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPS ALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLPFRPTTGRTSLYAVSPSVPSHLPVR VHFASPLHVAWRPP
8	D	742	MPLSYQHFRRLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNLGN LNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPHWKTPSFPNIHLHQDIIKKC

Таблица C – Мутанты Pol$^{\Delta 1}$: Мотивы, содержащие инактивирующие мутации, подчеркнуты (YMDD, мутировавший в YMHD, AELL, мутировавший в AHLL). Аминокислоты, выделенные жирным шрифтом + подчеркиванием + курсивом на участке делеции (последняя аминокислота перед удаленной областью и первая аминокислота после удаленной области).			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Длина (кол-во аминокислот)**	**Полипептидная последовательность**
			EQFVGPLTVNEKRRLQLIMPARFYPNVTKYLPLDKGIKPYYPEHLV NHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTHSASFCGSPYSWEQELQHGA ESFHQQSSGILSRPPVG***SE***LHNLPPNSARSQSERPVFPCWWLQFRNS KPCSDYCLSHIVNLLEDWGPCAEHGEHHIRIPRTPARVTGGVFLVD KNPHNTAESRLVVDFSQFSRGNYRVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNL SWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMPHLLVGSSGLSRYVARLSSNSRIFN YQHGTMQNLHDSCSRNLYVSLMLLYQTFGRKLHLYSHPIILGFRKI PMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVRRAFPHCLAFSYMHDVVLGAKSV QHLESLFTAVTNFLLSLGIHLNPNKTKRWGYSLHFMGYVIGCYGSL PQDHIIQKIKECFRKLPVNRPIDWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPA LMPLYACIQSKQAFTFSPTYKAFLCKQYLNLYPVARQRPGLCQVFA DATPTGWGLVMGHQRMRGTFKAPLPIHTAHLLAACFARSRSGANI LGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADD PSRGRLGLYRPLLRLPFRPTTGRTSLYADSPSVPSHLPDRVHFASPL HVAWRPP

Таблица D – Полипептидные последовательности с внутренним спейсером, удаленные из мутантов Pol$^{\Delta 1}$ и слитых белков капсид-Pol$^{\Delta 1}$		
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Полипептидная последовательность**
42	A	CIRSQFKQSRLGLQPHQGPLATSQSGRSGSIRARVHSPTRRCFGVEPSGSGHIGHSA SSSSSCLHQSAVRKAAYSHLSTSKRQSSSGHAV
43	B	SVGPCIQNQLRKSRLGPQPAQGQLAGRQQGGSGSIRARVHPSPWGTVGVEPSGSG HIHNCASNSSSCLHQSAVRKAAYSHISTSKGHSSSGHAV
44	C	CIRSQLKQSRLGLQPQQGSLARSKSGRSGSIRARVHPTTRQSFGVEPSGSGHIDNSA SSASSCLHQSAVRKTAYSHLSTSKRQSSSGHAV
45	D	SLQSKHRKSRLGLQSQQGHLARRQQGRGWSIRAGIHPTARRPFGVEPSGSGHTAN LASKSASCLYQSAVRKAAYPVVSTFKKHSSSGHAV

Таблица E — Мутанты Pol$^{\Delta 3}$ — мотивы, содержащие инактивирующие мутации, подчеркнуты (YMDD, мутировавший в YMHD, AELL, мутировавший в AHLL). Аминокислоты, выделенные жирным шрифтом + подчеркиванием + курсивом на участке делеции (последней аминокислоты перед удаленной областью и первой аминокислотой после удаленной области).			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Длина (кол-во аминокислот)**	**Полипептидная последовательность**
9	A	705	MPLSYQHFRKLLLLDDETEAGPLEEELPRLADEDLNRRVAEDL NLGNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPIFNPEWQTPSFPKIHLHE DIANRCQQFVGPLTVNEKRRLRLIMPARFYPNSTKYLPLDKGIK PYYPDHVVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTRSASFCGSPY SWEQELHH***GC***WWLQFRNTQPCSKYCLSHLVNLLEDWGPCDE HGEHHIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTAESRLVVDFSQFSRG ITRVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHIPLHPA AMPHLLVGSSGLSRYVARLSSNSRIHNNQHGTLQNLHDSCSRQ LYVSLMLLYKTYGRKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQF TSAICSVVRRAFPHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHLESLYTAVTN

Таблица E — Мутанты Pol$^{\Delta 3}$ — мотивы, содержащие инактивирующие мутации, подчеркнуты (YMDD, мутировавший в YMHD, AELL, мутировавший в AHLL). Аминокислоты, выделенные жирным шрифтом + подчеркиванием + курсивом на участке делеции (последней аминокислоты перед удаленной областью и первой аминокислотой после удаленной области).

SEQ ID NO:	Генотип ВГВ	Длина (кол-во аминокислот)	Полипептидная последовательность
			FLLSLGIHLNPNKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTLPQDHIVQKI KHCFRKLPINRPIDWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYA CIQAKQAFTFSPTYKAFLSKQYLNLYPVARQRPGLCQVFADAT PTGWGLAIGHQRMRGTFVAPLPIHTAHLLAACFARSRSGAKLIG TDNSVVLSRKYTSFPWLLGCTANWILRGTSFVYVPSALNPADD PSRGRLGLYRPLLRLPYRPTTGRTSLYAVSPSVPSHLPVRVHFAS PLHVAWRPP
10	B	703	MPLSYQHFRKLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNL GNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSFPHIHLQED IINRCQQYVGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPNLTKYLPLDKGIKP YYPEHVVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRESTRSASFCGSPYS WEQDLQH***GC***WWLQFRNSEPCSEYCLCHIVNLIEDWGPCTEHG EHRIRTPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDFSQFSRGNT RVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAA MPHLLVGSSGLSRYVARLSSNSRII
			NNQHRTMQNLHDSCSRNLYVSLMLLYKTYGRKLHLYSHPIILG FRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVRRAFPHCLAFSYMHDVVL GAKSVQHLESLYAAVTNFLLSLGIHLNPHKTKRWGYSLNFMG YVIGSWGTLPQEHIVQKIKMCFRKLPVNRPIDWKVCQRIVGLLG FAAPFTQCGYPALMPLYACIQAKQAFTFSPTYKAFLSKQYLHL YPVARQRPGLCQVFADATPTGWGLAIGHQRMRGAFVSPLPIHT AHLLAACFARSRSGAKLIGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANW ILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLLYRPTTGRTSL YADSPSVPSHLPDRVHFASPLHVAWRPP
11	C	703	MPLSYQHFRKLLLLDDEAGPLEEELPRLADEDLNRRVAEDLNL GNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSFPHIHLQED IINRCQQYVGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPNLTKYLPLDKGIKP YYPEHTVNHYFKTRHYLHTLWKAGILYKRETTRSASFCGSPYS WEQELQH***GC***WWLQFRNSKPCSDYCLSHIVNLLEDWGPCTEHG EHNIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDFSQFSRGST HVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAA MPHLLVGSSGLSRYVARLSSTSRNINYQHGAMQDLHDSCSRNL YVSLLLLYKTFGRKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTS AICSVVRRAFPHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHLESLFTAVTNFL LSLGIHLNPNKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTLPQEHIVLKIKQ CFRKLPVNRPIDWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACI QAKQAFTFSPTYKAFLCKQYLNLYPVARQRSGLCQVFADATPT GWGLAVGHQRMRGTFVSPLPIHTAHLLAACFARSRSGAKLIGT DNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDP SRGRLGLYRPLLRLPFRPTTGRTSLYAVSPSVPSHLPVRVHFASP LHVAWRPP
12	D	703	MPLSYQHFRRLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNL GNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPHWKTPSFPNIHLHQD IIKKCEQFVGPLTVNEKRRLQLIMPARFYPNVTKYLPLDKGIKP YYPEHLVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTHSASFCGSPYS WEQELQH***GC***WWLQFRNSKPCSDYCLSHIVNLLEDWGPCAEHG EHHIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTAESRLVVDFSQFSRGNY RVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAA MPHLLVGSSGLSRYVARLSSNSRIFNYQHGTMQNLHDSCSRNL YVSLMLLYQTFGRKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTS AICSVVRRAFPHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHLESLFTAVTNFL

Таблица E — Мутанты Pol$^{\Delta 3}$ — мотивы, содержащие инактивирующие мутации, подчеркнуты (YMDD, мутировавший в YMHD, AELL, мутировавший в AHLL). Аминокислоты, выделенные жирным шрифтом + подчеркиванием + курсивом на участке делеции (последней аминокислоты перед удаленной областью и первой аминокислотой после удаленной области).			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Длина (кол-во аминокислот)**	**Полипептидная последовательность**
			LSLGIHLNPNKTKRWGYSLHFMGYVIGCYGSLPQDHIIQKIKEC FRKLPVNRPIDWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQ SKQAFTFSPTYKAFLCKQYLNLYPVARQRPGLCQVFADATPTG WGLVMGHQRMRGTFKAPLPIHTAHLLAACFARSRSGANILGTD NSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDPS RGRLGLYRPLLRLPFRPTTGRTSLYADSPSVPSHLPDRVHFASPL HVAWRPP

Таблица F — Полипептидные последовательности с внутренним спейсером, удаленные из мутантов Pol$^{\Delta 3}$ и слитых белков капсид-Pol$^{\Delta 3}$		
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Полипептидная последовательность**
46	A	RLVIKTSQRHGDEPFCSQPSGILSRSSVGPCIRSQFKQSRLGLQPHQGPLATSQSG RSGSIRARVHSPTRRCFGVEPSGSGHIGHSASSSSSCLHQSAVRKAAYSHLSTSKR QSSSGHAVEFHSFPPSSARSQSQGPVFS
47	B	RLVFQTSKRHGDKSFCPQSPGILPRSSVGPCIQNQLRKSRLGPQPAQGQLAGRQQ GGSGSIRARVHPSPWGTVGVEPSGSGHIHNCASNSSSCLHQSAVRKAAYSHISTS KGHSSSGHAVELHHFPPSSSRSQSQGPVLS
48	C	RLVFQTSTRHGDESFCSQSSGILSRSPVGPCIRSQLKQSRLGLQPQQGSLARSKSG RSGSIRARVHPTTRQSFGVEPSGSGHIDNSASSASSCLHQSAVRKTAYSHLSTSKR QSSSGHAVELHNFPPSSARSQSEGPLLS
49	D	AESFHQQSSGILSRPPVGSSLQSKHRKSRLGLQSQQGHLARRQQGRGWSIRAGIH PTARRPFGVEPSGSGHTANLASKSASCLYQSAVRKAAYPVVSTFKKHSSSGHAV ELHNLPPNSARSQSERPVFP

Таблица G — Слитые белки капсид-Pol			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Длина (кол-во аминокислот)**	**Полипептидная последовательность**
Слитые белки капсид-Pol^{мут} - Капсидные последовательности обозначены жирным шрифтом + подчеркиванием. Мотивы, содержащие инактивирующие мутации в Pol, подчеркнуты (YMDD, мутировавший в YMHD, AELL, мутировавший в AHLL).			

Таблица G — Слитые белки капсид-Pol			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Длина (кол-во аминокислот)**	**Полипептидная последовательность**
15	A	1030	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALES PEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGNNLEDPASRDLVV NYVNTNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTP PAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRDRGRSPRRRTPSPRRRRSQSP RRRRSQSRESQC**MPLSYQHFRKLLLLDDETEAGPLEEELPRLADE DLNRRVAEDLNLGNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPIFNPEWQT PSFPKIHLHEDIANRCQQFVGPLTVNEKRRLRLIMPARFYPNSTKY LPLDKGIKPYYPDHVVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTRSAS FCGSPYSWEQELHHGRLVIKTSQRHGDEPFCSQPSGILSRSSVGPCI RSQFKQSRLGLQPHQGPLATSQSGRSGSIRARVHSPTRRCFGVEPS GSGHIGHSASSSSSCLHQSAVRKAAYSHLSTSKRQSSSGHAVEFHS FPPSSARSQSQGPVFSCWWLQFRNTQPCSKYCLSHLVNLLEDWGP CDEHGEHHIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTAESRLVVDFSQFSR GITRVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHIPLHPAA MPHLLVGSSGLSRYVARLSSNSRIHNNQHGTLQNLHDSCSRQLYV SLMLLYKTYGRKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICS VVRRAFPHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHLESLYTAVTNFLLSLGIH LNPNKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTLPQDHIVQKIKHCFRKLPIN RPIDWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQAKQAFTFSP TYKAFLSKQYLNLYPVARQRPGLCQVFADATPTGWGLAIGHQRM RGTFVAPLPIHTAHLLAACFARSRSGAKLIGTDNSVVLSRKYTSFP WLLGCTANWILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLPY RPTTGRTSLYAVSPSVPSHLPVRVHFASPLHVAWRPP**
16	B	1026	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALES PEHCSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGSNLEDPASRELVV SYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTP PAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRR RRSQSRESQC**MPLSYQHFRKLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNR RVAEDLNLGNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSFP HIHLQEDIINRCQQYVGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPNLTKYLPLD KGIKPYYPEHVVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRESTRSASFCGS PYSWEQDLQHGRLVFQTSKRHGDKSFCPQSPGILPRSSVGPCIQNQ LRKSRLGPQPAQGQLAGRQQGGSGSIRARVHPSPWGTVGVEPSGS GHIHNCASNSSSCLHQSAVRKAAYSHISTSKGHSSSGHAVELHHFP PSSSRSQSQGPVLSCWWLQFRNSEPCSEYCLCHIVNLIEDWGPCTE HGEHRIRTPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDFSQFSRGNT RVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMP HLLVGSSGLSRYVARLSSNSRIINNQHRTMQNLHDSCSRNLYVSL MLLYKTYGRKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVV RRAFPHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHLESLYAAVTNFLLSLGIHLN PHKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTLPQEHIVQKIKMCFRKLPVNRP IDWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQAKQAFTFSPT YKAFLSKQYLHLYPVARQRPGLCQVFADATPTGWGLAIGHQRMR GAFVSPLPIHTAHLLAACFARSRSGAKLIGTDNSVVLSRKYTSFPW LLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLLYR PTTGRTSLYADSPSVPSHLPDRVHFASPLHVAWRPP**
17	C	1026	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALES PEHCSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGSNLEDPASRELVV SYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTP PAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPR**

Таблица G — Слитые белки капсид-Pol			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Длина (кол-во аминокислот)**	**Полипептидная последовательность**
			RRRSQSRESQCMPLSYQHFRKLLLLDDEAGPLEEELPRLADEDLN RRVAEDLNLGNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSF PHIHLQEDIINRCQQYVGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPNLTKYLPL DKGIKPYYPEHTVNHYFKTRHYLHTLWKAGILYKRETTRSASFCG SPYSWEQELQHGRLVFQTSTRHGDESFCSQSSGILSRSPVGPCIRSQ LKQSRLGLQPQQGSLARSKSGRSGSIRARVHPTTRQSFGVEPSGSG HIDNSASSASSCLHQSAVRKTAYSHLSTSKRQSSSGHAVELHNFPP SSARSQSEGPLLSCWWLQFRNSKPCSDYCLSHIVNLLEDWGPCTE HGEHNIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDFSQFSRGST HVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMP HLLVGSSGLSRYVARLSSTSRNINYQHGAMQDLHDSCSRNLYVSL LLLYKTFGRKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVV RRAFPHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHLESLFTAVTNFLLSLGIHLN PNKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTLPQEHIVLKIKQCFRKLPVNRP IDWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQAKQAFTFSPT YKAFLCKQYLNLYPVARQRSGLCQVFADATPTGWGLAVGHQRM RGTFVSPLPIHTAHLLAACFARSRSGAKLIGTDNSVVLSRKYTSFP WLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLPF RPTTGRTSLYAVSPSVPSHLPVRVHFASPLHVAWRPP
18	D	1015	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALES PEHCSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGVNLEDPASRDLVV SYVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTP PAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRR RRSQSRESQC**MPLSYQHFRRLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNR RVAEDLNLGNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPHWKTPSFP NIHLHQDIIKKCEQFVGPLTVNEKRRLQLIMPARFYPNVTKYLPLD KGIKPYYPEHLVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTHSASFCGS PYSWEQELQHGAESFHQQSSGILSRPPVGSSLQSKHRKSRLGLQSQ QGHLARRQQGRGWSIRAGIHPTARRPFGVEPSGSGHTANLASKSA SCLYQSAVRKAAYPVVSTFKKHSSSGHAVELHNLPPNSARSQSER PVFPCWWLQFRNSKPCSDYCLSHIVNLLEDWGPCAEHGEHHIRIPR TPARVTGGVFLVDKNPHNTAESRLVVDFSQFSRGNYRVSWPKFA VPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMPHLLVGSSG LSRYVARLSSNSRIFNYQHGTMQNLHDSCSRNLYVSLMLLYQTFG RKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVRRAFPHCL AFSYMHDVVLGAKSVQHLESLFTAVTNFLLSLGIHLNPNKTKRWG YSLHFMGYVIGCYGSLPQDHIIQKIKECFRKLPVNRPIDWKVCQRI VGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQSKQAFTFSPTYKAFLCKQY LNLYPVARQRPGLCQVFADATPTGWGLVMGHQRMRGTFKAPLPI HTAHLLAACFARSRSGANILGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAAN WILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLPFRPTTGRTSL YADSPSVPSHLPDRVHFASPLHVAWRPP
Слитые белки капсид-Pol$^{\Delta1}$ — Капсидные последовательности обозначены жирным шрифтом + подчеркиванием. Мотивы, содержащие инактивирующие мутации в Pol, подчеркнуты (YMDD, мутировавший в YMHD, AELL, мутировавший в AHLL). Аминокислоты, выделенные жирным шрифтом + курсивом на участке делеции (последней аминокислоты перед удаленной областью и первой аминокислотой после удаленной области).			
19	A	940	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALES PEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGNNLEDPASRDLVV NYVNTNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTP PAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRDRGRSPRRRTPS**

Таблица G — Слитые белки капсид-Pol			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Длина (кол-во аминокислот)**	**Полипептидная последовательность**
			PRRRRSQSPRRRRSQSRESQCMPLSYQHFRKLLLLDDETEAGPLE EELPRLADEDLNRRVAEDLNLGNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTV PIFNPEWQTPSFPKIHLHEDIANRCQQFVGPLTVNEKRRLRLIMPAR FYPNSTKYLPLDKGIKPYYPDHVVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYK RETTRSASFCGSPYSWEQELHHGRLVIKTSQRHGDEPFCSQPSGILS RSSVG***PE***FHSFPPSSARSQSQGPVFSCWWLQFRNTQPCSKYCLSHL VNLLEDWGPCDEHGEHHIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTAESR LVVDFSQFSRGITRVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAA FYHIPLHPAAMPHLLVGSSGLSRYVARLSSNSRIHNNQHGTLQNLH DSCSRQLYVSLMLLYKTYGRKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFL LAQFTSAICSVVRRAFPHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHLESLYTAV TNFLLSLGIHLNPNKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTLPQDHIVQKI KHCFRKLPINRPIDWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACI QAKQAFTFSPTYKAFLSKQYLNLYPVARQRPGLCQVFADATPTG WGLAIGHQRMRGTFVAPLPIHTAHLLAACFARSRSGAKLIGTDNS VVLSRKYTSFPWLLGCTANWILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRL GLYRPLLRLPYRPTTGRTSLYAVSPSVPSHLPVRVHFASPLHVAWR PP
20	B	932	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALES PEHCSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGSNLEDPASRELVV SYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTP PAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRR RRSQSRESQC**MPLSYQHFRKLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNR RVAEDLNLGNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSFP HIHLQEDIINRCQQYVGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPNLTKYLPLD KGIKPYYPEHVVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRESTRSASFCGS PYSWEQDLQHGRLVFQTSKRHGDKSFCPQSPGILPR***SE***LHHFPPSS SRSQSQGPVLSCWWLQFRNSEPCSEYCLCHIVNLIEDWGPCTEHG EHRIRTPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDFSQFSRGNTRV SWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMPHL LVGSSGLSRYVARLSSNSRIINNQHRTMQNLHDSCSRNLYVSLML LYKTYGRKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVRR AFPHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHLESLYAAVTNFLLSLGIHLNPH KTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTLPQEHIVQKIKMCFRKLPVNRPID WKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQAKQAFTFSPTYK AFLSKQYLHLYPVARQRPGLCQVFADATPTGWGLAIGHQRMRGA FVSPLPIHTAHLLAACFARSRSGAKLIGTDNSVVLSRKYTSFPWLL GCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLLYRPT TGRTSLYADSPSVPSHLPDRVHFASPLHVAWRPP
21	C	936	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALES PEHCSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGSNLEDPASRELVV SYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTP PAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRR RRSQSRESQC**MPLSYQHFRKLLLLDDEAGPLEEELPRLADEDLNR RVAEDLNLGNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSFP HIHLQEDIINRCQQYVGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPNLTKYLPLD KGIKPYYPEHTVNHYFKTRHYLHTLWKAGILYKRETTRSASFCGS PYSWEQELQHGRLVFQTSTRHGDESFCSQSSGILSRSPVG***PE***LHNF PPSSARSQSEGPLLSCWWLQFRNSKPCSDYCLSHIVNLLEDWGPCT EHGEHNIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDFSQFSRGS THVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAM PHLLVGSSGLSRYVARLSSTSRNINYQHGAMQDLHDSCSRNLYVS LLLLYKTFGRKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSV VRRAFPHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHL

Таблица G — Слитые белки капсид-Pol			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Длина (кол-во аминокислот)**	**Полипептидная последовательность**
			ESLFTAVTNFLLSLGIHLNPNKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTLPQ EHIVLKIKQCFRKLPVNRPIDWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPAL MPLYACIQAKQAFTFSPTYKAFLCKQYLNLYPVARQRSGLCQVFA DATPTGWGLAVGHQRMRGTFVSPLPIHTAHLLAACFARSRSGAKL IGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADD PSRGRLGLYRPLLRLPFRPTTGRTSLYAVSPSVPSHLPVRVHFASPL HVAWRPP
22	D	925	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALES PEHCSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGVNLEDPASRDLVV SYVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTP PAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRR RRSQSRESQC**MPLSYQHFRRLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNR RVAEDLNLGNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPHWKTPSFP NIHLHQDIIKKCEQFVGPLTVNEKRRLQLIMPARFYPNVTKYLPLD KGIKPYYPEHLVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTHSASFCGS PYSWEQELQHGAESFHQQSSGILSRPPVG***SE***LHNLPPNSARSQSER PVFPCWWLQFRNSKPCSDYCLSHIVNLLEDWGPCAEHGEHHIRIPR TPARVTGGVFLVDKNPHNTAESRLVVDFSQFSRGNYRVSWPKFA VPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMPHLLVGSSG LSRYVARLSSNSRIFNYQHGTMQNLHDSCSRNLYVSLMLLYQTFG RKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVRRAFPHCL AFSYMHDVVLGAKSVQHLESLFTAVTNFLLSLGIHLNPNKTKRWG YSLHFMGYVIGCYGSLPQDHIIQKIKECFRKLPVNRPIDWKVCQRI VGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQSKQAFTFSPTYKAFLCKQY LNLYPVARQRPGLCQVFADATPTGWGLVMGHQRMRGTFKAPLPI HTAHLLAACFARSRSGANILGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAAN WILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLPFRPTTGRTSL YADSPSVPSHLPDRVHFASPLHVAWRPP
Слитые белки капсид-Pol$^{\Delta 3}$ — Капсидные последовательности обозначены жирным шрифтом + подчеркиванием. Мотивы, содержащие инактивирующие мутации в Pol, подчеркнуты (YMDD, мутировавший в YMHD, AELL, мутировавший в AHLL). Аминокислоты, выделенные жирным шрифтом + подчеркиванием + курсивом на участке делеции (последней аминокислоты перед удаленной областью и первой аминокислотой после удаленной области).			
23	A	890	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALES PEHCSPHHTALRQAILCWGELMTLATWVGNNLEDPASRDLVV NYVNTNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTP PAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRDRGRSPRRRTPSPRRRRSQSP RRRRSQSRESQC**MPLSYQHFRKLLLLDDETEAGPLEEELPRLADE DLNRRVAEDLNLGNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPIFNPEWQT PSFPKIHLHEDIANRCQQFVGPLTVNEKRRLRLIMPARFYPNSTKY LPLDKGIKPYYPDHVVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTRSAS FCGSPYSWEQELHH***GC***WWLQFRNTQPCSKYCLSHLVNLLEDWGP CDEHGEHHIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTAESRLVVDFSQFSR GITRVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHIPLHPAA MPHLLVGSSGLSRYVARLSSNSRIHNNQHGTLQNLHDSCSRQLYV SLMLLYKTYGRKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICS VVRRAFPHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHLESLYTAVTNFLLSLGIH LNPNKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTLPQDHIVQKIKHCFRKLPIN RPIDWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQAKQAFTFSP TYKAFLSKQYLNLYPVARQR
			PGLCQVFADATPTGWGLAIGHQRMRGTFVAPLPIHTAHLLAACFA RSRSGAKLIGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCTANWILRGTSFVYVPS ALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLPYRPTTGRTSLYAVSPSVPSHLPV RVHFASPLHVAWRPP

Таблица G — Слитые белки капсид-Pol			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Длина (кол-во аминокислот)**	**Полипептидная последовательность**
24	B	886	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALES PEHCSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGSNLEDPASRELVV SYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTP PAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRR RRSQSRESQC**MPLSYQHFRKLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNR RVAEDLNLGNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSFP HIHLQEDIINRCQQYVGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPNLTKYLPLD KGIKPYYPEHVVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRESTRSASFCGS PYSWEQDLQH***GC***WWLQFRNSEPCSEYCLCHIVNLIEDWGPCTEH GEHRIRTPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDFSQFSRGNTR VSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMPH LLVGSSGLSRYVARLSSNSRIINNQHRTMQNLHDSCSRNLYVSLM LLYKTYGRKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVR RAFPHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHLESLYAAVTNFLLSLGIHLNP HKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTLPQEHIVQKIKMCFRKLPVNRPI DWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQAKQAFTFSPTY KAFLSKQYLHLYPVARQRPGLCQVFADATPTGWGLAIGHQRMRG AFVSPLPIHTAHLLAACFARSRSGAKLIGTDNSVVLSRKYTSFPWL LGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLLYRP TTGRTSLYADSPSVPSHLPDRVHFASPLHVAWRPP**
25	C	886	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALES PEHCSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGSNLEDPASRELVV SYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTP PAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRR RRSQSRESQC**MPLSYQHFRKLLLLDDEAGPLEEELPRLADEDLNR RVAEDLNLGNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSFP HIHLQEDIINRCQQYVGPLTVNEKRRLKLIMPARFYPNLTKYLPLD KGIKPYYPEHTVNHYFKTRHYLHTLWKAGILYKRETTRSASFCGS PYSWEQELQH***GC***WWLQFRNSKPCSDYCLSHIVNLLEDWGPCTEH GEHNIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDFSQFSRGSTH VSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMPH LLVGSSGLSRYVARLSSTSRNINYQHGAMQDLHDSCSRNLYVSLL LLYKTFGRKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVR RAFPHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHLESLFTAVTNFLLSLGIHLNP NKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTLPQEHIVLKIKQCFRKLPVNRPI DWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQAKQAFTFSPTY KAFLCKQYLNLYPVARQRSGLCQVFADATPTGWGLAVGHQRMR GTFVSPLPIHTAHLLAACFARSRSGAKLIGTDNSVVLSRKYTSFPW LLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLPFRP TTGRTSLYAVSPSVPSHLPVRVHFASPLHVAWRPP**
26	D	886	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALES PEHCSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGVNLEDPASRDLVV SYVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGVWIRTP PAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRR RRSQSRESQC**MPLSYQHFRRLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNR RVAEDLNLGNLNVSIPWTHKVGNFTGLYSSTVPVFNPHWKTPSFP NIHLHQDIIKKCEQFVGPLTVNEKRRLQLIMPARFYPNVTKYLPLD KGIKPYYPEHLVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTHSASFCGS PYSWEQELQH***GC***WWLQFRNSKPCSDYCLSHIVNLLEDWGPCAEH GEHHIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTAESRLVVDFSQFSRGNYR VSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMPH LLV

Таблица G — Слитые белки капсид-Pol			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Длина (кол-во аминокислот)**	**Полипептидная последовательность**
			GSSGLSRYVARLSSNSRIFNYQHGTMQNLHDSCSRNLYVSLMLLY QTFGRKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVRRAF PHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHLESLFTAVTNFLLSLGIHLNPNKT KRWGYSLHFMGYVIGCYGSLPQDHIIQKIKECFRKLPVNRPIDWK VCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQSKQAFTFSPTYKAFL CKQYLNLYPVARQRPGLCQVFADATPTGWGLVMGHQRMRGTFK APLPIHTAHLLAACFARSRSGANILGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGC AANWILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLPFRPTTGR TSLYADSPSVPSHLPDRVHFASPLHVAWRPP

Слитые белки капсид-sAg

[0085] Дополнительно предложены слитые белки, состоящие из N-концевой части, содержащей полипептид капсида ВГВ или его иммуногенный фрагмент, и С-концевой части, содержащей небольшой поверхностный антиген ВГВ или его иммуногенный фрагмент. В различных вариантах осуществления полипептид капсида ВГВ или его фрагмент и небольшой поверхностный антиген ВГВ (sAg) или его фрагмент непосредственно слиты или примыкают. В некоторых вариантах осуществления полипептид капсида ВГВ или его фрагмент и небольшой поверхностный антиген ВГВ или его фрагмент соединены посредством линкера.

Полипептид капсида ВГВ или его иммуногенный фрагмент

[0086] В различных вариантах осуществления полипептид капсида ВГВ или его иммуногенный фрагмент из слитого белка капсид-sAg независимо могут быть получены из генотипа A, B, C или D ВГВ. Иллюстративные аминокислотные последовательности полипептида капсида ВГВ, которые можно применять в описанных в настоящем документе слитых белках капсид-sAg, представлены в таблице H.

Таблица H – Иллюстративные последовательности полипептидов капсида ВГВ		
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Полипептидная последовательность**
64	A	MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPEHCSPHHTALRQAI LCWGELMTLATWVGNNLEDPASRDLVVNYVNTNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETV LEYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRDRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPR RRRSQSRESQC
65	B/C	MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPEHCSPHHTALRQAI LCWGELMNLATWVGSNLEDPASRELVVSYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETV LEYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRRR RSQSRESQC
66	D	MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREALESPEHCSPHHTALRQAI LCWGELMNLATWVGVNLEDPASRDLVVSYVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRET VLEYLVSFGVWIRTPPAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRRRRSQSPRR RRSQSRESQC

[0087] В некоторых вариантах осуществления капсидный полипептид в слитом полипептиде капсид-sAg содержит или состоит из аминокислотной последовательности любого из SEQ ID NO: 64–66 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 64–66. В некоторых вариантах осуществления капсидный полипептид содержит остаток серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, и остаток аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66.

Небольшой поверхностный антиген ВГВ или его иммуногенный фрагмент

[0088] В различных вариантах осуществления полипептид sAg ВГВ или его иммуногенный фрагмент из слитого белка капсид-sAg независимо могут быть получены из генотипа A, B, C или D ВГВ. Иллюстративные аминокислотные последовательности полипептида sAg ВГВ, которые можно применять в описанных в настоящем документе слитых белках капсид-sAg, представлены в таблице 1 в примере 1 ниже.

[0089] В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg в слитом полипептиде капсид-sAg содержит или состоит из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 1–4 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 1–4, например, содержащий один или более остатков серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 53, остатков изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, остатков треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 125, остатков пролина (P) в аминокислотном положении, соответствующем положению 127, остатков фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 161, остатков тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 200, остатков серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 210, и остатков лейцина (L) в аминокислотном положении, соответствующем положению 213.

[0090] Что касается слитых белков, капсид-sAg, полипептид капсида ВГВ и полипептид sAg ВГВ могут быть получены из тех же или разных генотипов ВГВ. В некоторых вариантах осуществления слитый белок капсид-sAg содержит последовательно от N-конца к C-концу капсидный полипептид ВГВ и небольшой полипептид поверхностного антигена (sAg) ВГВ, причем:

- капсидный полипептид принадлежит генотипу A ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу A ВГВ;
- капсидный полипептид принадлежит генотипу B или C ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу B ВГВ;
- капсидный полипептид принадлежит генотипу B или C ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу C ВГВ;
- капсидный полипептид принадлежит генотипу D ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу D ВГВ;

- капсидный полипептид принадлежит генотипу A ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу B ВГВ;
- капсидный полипептид принадлежит генотипу A ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу C ВГВ;
- капсидный полипептид принадлежит генотипу A ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу D ВГВ;
- капсидный полипептид принадлежит генотипу B или C ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу A ВГВ;
- капсидный полипептид принадлежит генотипу B или C ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу D ВГВ;
- капсидный полипептид принадлежит генотипу D ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу A ВГВ;
- капсидный полипептид принадлежит генотипу D а полипептид sAg принадлежит генотипу B ВГВ. или
- капсидный полипептид принадлежит генотипу D ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу C ВГВ.

[0091] В некоторых вариантах осуществления слитый белок капсид-sAg содержит последовательно от N-конца к C-концу капсидный полипептид ВГВ и небольшой полипептид поверхностного антигена (sAg) ВГВ, причем:

- капсидный полипептид принадлежит генотипу B или C ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу C ВГВ; или
- капсидный полипептид принадлежит генотипу D ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу D ВГВ.

[0092] В некоторых вариантах осуществления слитый белок капсид-sAg содержит последовательно от N-конца к C-концу (i) капсидный полипептид ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 65 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 65; и (ii) полипептид небольшого поверхностного антигена (sAg) ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 3 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 3.

[0093] В некоторых вариантах осуществления слитый белок капсид-sAg содержит последовательно от N-конца к C-концу (i) капсидный полипептид ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 66 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 66; и (ii) полипептид небольшого поверхностного антигена (sAg) ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 4 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 4.

[0094] В различных вариантах осуществления слитые белки капсид-sAg, описанные в настоящем документе, содержат изоформу небольшого поверхностного антигена ВГВ, но не содержат изоформу среднего поверхностного антигена ВГВ или изоформу большого поверхностного антигена ВГВ. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления слитые белки капсид-sAg, описанные в настоящем документе, не содержат полипептид pre-S1 ВГВ. В некоторых вариантах осуществления слитые белки капсид-sAg, описанные в настоящем документе, не содержат полипептид pre-S2 ВГВ. В некоторых вариантах осуществления слитые белки капсид-sAg, описанные в настоящем документе, не содержат как полипептид pre-S1 ВГВ, так и полипептид pre-S2 ВГВ.

[0095] Иллюстративный полипептид pre-S2 ВГВ, не включенный в описанный в настоящем документе слитый белок капсид-sAg, представлен ниже:

MQWNST**[A/T]**FHQ**[T/A]**LQDPRVR**[A/G]**LYFP**[A/G]**GGSS**[L/S]**G**[A/T][V/I]**NPV**[L/P]**TT**[A/V]**S**[P/H][L/I]**SSIF**[S/A]**RIGDP**[A/V][L/M/P/T]**N (SEQ ID NO: 79).

[0096] Иллюстративный консенсусный полипептид pre-S2 ВГВ из генотипа A ВГВ, не включенный в описанный в настоящем документе слитый белок капсид-sAg, представлен ниже:

MQWNSTAFHQALQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIASHISSISARTGDPVTN (SEQ ID NO: 80).

[0097] Иллюстративный консенсусный полипептид pre-S2 ВГВ из генотипа B ВГВ, не включенный в описанный в настоящем документе слитый белок капсид-sAg, представлен ниже:

MQWNSTTFHQTLQDPRVRALYFPAGGSSSGTVSPAQNTVSAISSILSKTGDPVPN (SEQ ID NO: 81).

[0098] Иллюстративный консенсусный полипептид pre-S2 ВГВ из генотипа C ВГВ, не включенный в описанный в настоящем документе слитый белок капсид-sAg, представлен ниже:

MQWNSTTFHQALLDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPVPTTASPISSIFSRTGDPAPN (SEQ ID NO: 82).

[0099] Иллюстративный консенсусный полипептид pre-S2 ВГВ из генотипа D ВГВ, не включенный в описанный в настоящем документе слитый белок капсид-sAg, представлен ниже:

MQWNSTTFHQTLQDPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPVPTTASPISSIFSRIGDPALN (SEQ ID NO: 83).

[0100] В некоторых вариантах осуществления слитые белки капсид-sAg, описанные в настоящем документе, не содержат полипептид pre-S2 ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 79–83 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% и 99% идентична любой из SEQ ID NO: 79–83.

[0101] Иллюстративный полипептид pre-S1-pre-S2 ВГВ, не включенный в описанный в настоящем документе слитый белок капсид-sAg, представлен ниже:

MGQNLSTSNPLGFFPDHQL**[D/A]**PAFRANT**[A/G/R]**NPDWDFNPNKDTWPDANKVGAGAFGLGFTP PHGGLLGWSPQAQGI**[I/L]**QT**[L/V]**PANPPPAS**[T/A]**NRQ**[S/T]**GRQPTPLSPPLR**[N/D]**THPQAMQWN ST**[A/T]**FHQ**[T/A]**LQDPRVR**[A/G]**LYFP**[A/G]**GGSS**[L/S]**G**[A/T][V/I]**NPV**[L/P]**TT**[A/V]**S**[P/H][L/I]**SSI F**[S/A]**RIGDP**[A/V][L/M/P/T]**N (SEQ ID NO: 84).

[0102] Иллюстративный консенсусный полипептид pre-S1-pre-S2 ВГВ из генотипа A ВГВ, не включенный в описанный в настоящем документе слитый белок капсид-sAg, представлен ниже:

MGGWSSKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPIKDHWPAANQVGVGAFG
PGLTPPHGGILGWSPQAQGILTTVSTIPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTAFHQALQ
DPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPAPNIASHISSISARTGDPVTN (SEQ ID NO: 85).

[0103] Иллюстративный консенсусный полипептид pre-S1-pre-S2 ВГВ из генотипа B ВГВ, не включенный в описанный в настоящем документе слитый белок капсид-sAg, представлен ниже:

MGGWSSKPRKGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFKANSENPDWDLNPHKDNWPDANKVGVGAFG
PGFTPPHGGLLGWSPQAQGLLTTVPAAPPPASTNRQSGRQPTPLSPPLRDTHPQAMQWNSTTFHQTL
QDPRVRALYFPAGGSSSGTVSPAQNTVSAISSILSKTGDPVPN (SEQ ID NO: 86).

[0104] Иллюстративный консенсусный полипептид pre-S1-pre-S2 ВГВ из генотипа C ВГВ, не включенный в описанный в настоящем документе слитый белок капсид-sAg, представлен ниже:

MGGWSSKPRQGMGTNLSVPNPLGFFPDHQLDPAFGANSNNPDWDFNPNKDHWPEANQVGAGAFG
PGFTPPHGGLLGWSPQAQGILTTVPAAPPPASTNRQSGRQPTPISPPLRDSHPQAMQWNSTTFHQALL
DPRVRGLYFPAGGSSSGTVNPVPTTASPISSIFSRTGDPAPN (SEQ ID NO: 87).

[0105] Иллюстративный консенсусный полипептид pre-S1-pre-S2 ВГВ из генотипа D ВГВ, не включенный в описанный в настоящем документе слитый белок капсид-sAg, представлен ниже:

MGQNLSTSNPLGFFPDHQLDPAFRANTANPDWDFNPNKDTWPDANKVGAGAFGLGFTPPHGGLLG
WSPQAQGILQTLPANPPPASTNRQSGRQPTPLSPPLRNTHPQAMQWNSTTFHQTLQDPRVRGLYFPA
GGSSSGTVNPVPTTASPISSIFSRIGDPALN (SEQ ID NO: 88).

[0106] В некоторых вариантах осуществления слитые белки капсид-sAg, описанные в настоящем документе, не содержат полипептид pre-S1-pre-S2 ВГВ, содержащего или состоящего из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 84–88 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 84–88.

Необязательный полипептидный линкер

[0107] В соответствующих случаях полипептид капсида ВГВ и полипептид sAg ВГВ в слитом белке капсид-sAg могут непосредственно примыкать или быть слиты, или могут быть соединены, объединены или связаны одним или более пептидными линкерами. В различных вариантах осуществления один или более пептидных линкеров выбраны из одного или более из полиаланинового линкера, полиглицинового линкера, расщепляемого линкера, гибкого линкера, жесткого линкера и их комбинаций, например, в пределах линкера или в пределах полноразмерного слитого полипептида. Иллюстративные слитые белковые линкеры, которые можно применять в настоящих слитых полипептидах для соединения полипептида капсида ВГВ и полипептида sAg ВГВ, описаны, например, в Chen, *et al., Adv Drug Deliv Rev*. (2013) 65(10): 1357–1369. В некоторых вариантах осуществления полиаланиновый линкер содержит или состоит из 2 или 3 смежных остатков аланина, например, AA, AAA, AAY или AAX, где X представляет собой любую аминокислоту (например, A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, Y). В некоторых вариантах

осуществления применяют полиглициновый линкер, например, GG, GGG, GGS, GSG или GGGS (SEQ ID NO:63). В некоторых вариантах осуществления расщепляемый линкер выбирают из расщепляемого 2A-пептида. Описаны иллюстративные 2A расщепляемые пептиды, которые можно применять для соединения полипептида капсида ВГВ и полипептида sAg ВГВ, например, в Donnelly, *et al*., *J. Gen. Virol* (2001), 82, 1027–1041 и Chng, *et al.*, mAbs (2015) 7:2, 403–412. Иллюстративные 2A расщепляемые пептиды, которые могут быть применены для связывания полипептида капсида ВГВ и полипептида sAg ВГВ, содержат, без ограничения, последовательности расщепления 2A (например, вирус ящура (F2A), вирус ринита лошадей (E2A), свиной тешовирус-1 (P2A) и вирус Thosea aigna (T2A)), необязательно, в комбинации с последовательностями распознавания/расщепления фурана (например, RAKR (SEQ ID NO: 60), REKR (SEQ ID NO: 61) и RRKR (SEQ ID NO: 62)). В определенных вариантах осуществления последовательность распознавания/расщепления фурина (*например*, RAKR (SEQ ID NO: 60), REKR (SEQ ID NO: 61) и RRKR (SEQ ID NO: 62)) объединена или слита с расщепляемым 2A пептидом (например, вирус ящура (F2A), вирус ринита лошадей (E2A), свиной тешовирус-1 (P2A) и вирус Thosea aigna (T2A)) в одном линкере. *См.*, например, Chng, *et al.*, mAbs (2015) 7:2, 403-412. В некоторых вариантах осуществления линкер включает линкер свиного тешовируса-1 (P2A). В различных вариантах осуществления расщепляемый 2A линкер содержит или состоит из аминокислотной последовательности ATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 56), APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 57), QCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 58) или EGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO: 59) или аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или по меньшей мере на 99% идентична ATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 56), APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 57), QCTNYALLKLAGDVESNPGP (SEQ ID NO: 58) или EGRGSLLTCGDVEENPGP (SEQ ID NO: 59). В различных вариантах осуществления расщепляемый 2A линкер содержит или состоит из аминокислотной последовательности ATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 56), или аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или по меньшей мере на 99% идентична ATNFSLLKQAGDVEENPGP (SEQ ID NO: 56). В соответствующих случаях в определенных вариантах осуществления последовательность распознавания/расщепления фурина может быть расположена либо на N-конце, либо на C-конце линкера 2A. В некоторых вариантах осуществления расщепляемый линкер содержит или состоит из участка распознавания/расщепления фурина, выбранного из RAKR (SEQ ID NO: 60), REKR (SEQ ID NO: 61) и RRKR (SEQ ID NO: 62). Иллюстративные линкеры, которые можно применять для связывания или соединения полипептида капсида ВГВ и полипептида sAg ВГВ, представлены в таблице J.

Таблица J – Иллюстративные линкеры для соединения капсида ВГВ и полипептидов sAg ВГВ в слитом белке капсид-sAg

SEQ ID NO:	**НАЗВАНИЕ**	**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ**
	поли-аланин (2)	AA
	поли-аланин (3)	AAA
	поли-аланин-Tyr	AAY
	поли-аланин-XXX	AAX (X=любая аминокислота)
	поли-глицин (2)	GG
	поли-глицин (3)	GGG

	поли-глицин/серин (3)	GGS
	поли-глицин/серин (3)	GSG
63	Gly3Ser	GGGS
60	участок распознавания фурина	RAKR
61	участок распознавания фурина	REKR
62	участок распознавания фурина	RRKR
56	P2A	ATNFSLLKQAGDVEENPGP
57	F2A	APVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP
58	E2A	QCTNYALLKLAGDVESNPGP
59	T2A	EGRGSLLTCGDVEENPGP

[0108] В некоторых вариантах осуществления слитый белок капсид-sAg имеет длину не более 450 аминокислот, например, длину не более 445, 440, 435, 430, 425, 420, 415 или 410 аминокислот.

[0109] В некоторых вариантах осуществления слитый белок капсид-sAg не содержит аминопоследовательность или ее фрагмент из белка ВГВ, выбранного из группы, состоящей из X, предкапсида, pre-S1, pre-S2 и полимеразы.

[0110] В некоторых вариантах осуществления слитый белок капсид-sAg содержит или состоит из аминокислотной последовательности любого из SEQ ID NO: 38–41, например, SEQ ID NO: 41 или последовательности, которая по меньшей мере на 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 38–41, SEQ ID NO: 41. В некоторых вариантах осуществления слитый полипептид содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, остатка аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, остатка валина (V) в аминокислотном положении, соответствующем положению 74, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 97, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 249, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 250, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 317, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 318, остатка аргинина (R) в аминокислотном положении, соответствующем положению 326, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 338, остатка глицина (G) в аминокислотном положении, соответствующем положению 363, и остатка аланина (A) в аминокислотном положении, соответствующем положению 372, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:41.

[0111] Иллюстративные слитые белки капсид-sAg, например, для применения в активации, индуцировании или вызове иммуного ответа, например, в отношении капсидных и/или небольших поверхностных антигенов, экспрессируемых ВГВ, предоставлены в таблице K.

Таблица K — Слитые белки капсид-sAg			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Длина (кол-во аминокислот)**	**Полипептидная последовательность**
Слитые белки капсид-sAg — Капсидные последовательности обозначены жирным шрифтом + подчеркиванием. Гибкий линкер GSG обозначен курсивом. Расщепляемый линкер P2A обозначен подчеркиванием.			
38	Капсид: B/C sAg: C	409	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREAL ESPEHCSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGSNLEDPASRE LVVSYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGV WIRTPPAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRR RSQSPRRRRSQSRESQC**MESTTSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTI PQSLDSWWTSLNFLGGAPTCPGQNSQSPTSNHSPTSCPPICPGYR WMCLRRFIIFLCILLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTG PCKTCTTPAQGTSMFPSCCCTKPTDGNCTCIPIPSSWAFARFLWE WASVRFSWLSLLVPFVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSL YNILSPFLPLLPIFFCLWVYI
39	Капсид: B/C sAg: C	430	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREAL ESPEHCSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGSNLEDPASRE LVVSYVNVNMGLKIRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFGV WIRTPPAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRR RSQSPRRRRSQSRESQC***GSG***ATNFSLLKQAGDVEENPGPESTT SGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGAPTCPG QNSQSPTSNHSPTSCPPICPGYRWMCLRRFIIFLCILLLCLIFLLVL LDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCKTCTTPAQGTSMFPSCCCTKP TDGNCTCIPIPSSWAFARFLWEWASVRFSWLSLLVPFVQWFVG LSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYNILSPFLPLLPIFFCLWVYI**
40	Капсид: D sAg: D	409	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREAL ESPEHCSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGVNLEDPASR DLVVSYVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFG VWIRTPPAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRR RRSQSPRRRRSQSRESQC**MENITSGFLGPLLVLQAGFFLLTRIL TIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQNSQSPTSNHSPTSCPPICPG YRWMCLRRFIIFLFILLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTS TGPCRTCTTPAQGTSMYPSCCCTKPSDGNCTCIPIPSSWAFGKFL WEWASARFSWLSLLVPFVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGP SLYSILSPFLPLLPIFFCLWVYI
41	Капсид: D sAg: D	430	**MDIDPYKEFGASVELLSFLPSDFFPSVRDLLDTASALYREAL ESPEHCSPHHTALRQAILCWGELMNLATWVGVNLEDPASR DLVVSYVNTNMGLKFRQLLWFHISCLTFGRETVLEYLVSFG VWIRTPPAYRPPNAPILSTLPETTVVRRRGRSPRRRTPSPRR RRSQSPRRRRSQSRESQC***GSG***ATNFSLLKQ
41	Капсид: D sAg: D	430	AGDVEENPGPENITSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWW TSLNFLGGTTVCLGQNSQSPTSNHSPTSCPPICPGYRWMCLRRFI IFLFILLLCLIFLLVLLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCRTCTTPA QGTSMYPSCCCTKPSDGNCTCIPIPSSWAFGKFLWEWASARFS WLSLLVPFVQWFVGLSPTVWLSVIWMMWYWGPSLYSILSPFLP LLPIFFCLWVYI

Сигнальные или лидерные последовательности

[0112] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, описанные в настоящем документе, содержат сигнальную последовательность или сигнальный пептид, например, прямой внутриклеточный перенос полипептида в протеасомное или лизосомальный компартмент. В

различных вариантах осуществления иммуногенный полипептид содержит сигнальную последовательность на N-конце и/или C-конце. В некоторых вариантах осуществления иммуногенный полипептид содержит N-концевой сигнальный пептид или лидерную последовательность. В различных вариантах осуществления сигнальный пептид или лидерная последовательность принадлежит исходному белку, выбранному из сывороточного белка, цитокина, хемокина, белка-шаперона, инвариантного белка и белка, который направляет белки в лизосомальный компартмент. В некоторых вариантах осуществления сигнальный пептид или лидерная последовательность получают из исходного белка, выбранного из колониестимулирующего фактора 2 (CSF2, GM-CSF), активатора плазминогена ткани (PLAT, t-PA), хемокина-лиганда 7 C-C мотива (CCL7, MCP-3), хемокина-лиганда 10 C-X-C мотива (CXCL10, IP-10), катенина бета 1 (CTNNB1), CD74 (p33; DHLAG; HLADG; Ia-ГАММА, инвариантная цепь), сывороточного альбумина (ALB), полиубиквитина B/C (UBB/UBC), кальретикулина (CALR), белка вируса везикулярного желитита G (VSV-G), лизосом-ассоциированного мембранного белка-1 (LAMP-1) и лизосом-ассоциированного мембранного белка-2 (LAMP-2). В различных вариантах осуществления сигнальный пептид или лидерная последовательность выбрана из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 67–76 или последовательности, которая по меньшей мере на 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 67–76. В определенных вариантах осуществления иммуногенный полипептид содержит N-концевые и C-концевые последовательности из LAMP-1, *например*, SEQ ID NO: 77 и 78 соответственно. Иллюстративные сигнальные последовательности, которые можно применять в настоящих иммуногенных полипептидах, представлены в таблице L.

Таблица L – иллюстративные сигнальные последовательности

SEQ ID NO:	**название исходного белка**	**ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ**
67	CSF2, GM-CSF	MWLQSLLLLGTVACSISV
68	PLAT, t-PA	MDAMKRGLCCVLLLCGAVFVSAR
69	CD74	MHRRRSRSCREDQKPV
70	альбумин	KWVTFISLLFLFSSAYS
71	β-катенин	MRKAAVSHWQQQSYLDSGIHSGATTTAPSLS
72	CCL7, MCP-3	MNPSAAVIFCLILLGLSGTQGILDMAQPVGINTSTTCCYRFINKKIPKQ RLESYRRTTSSHCPREAVIFKTKLDKEICADPTQKWVQDFMKHLDKK TQTPKLASAGA
73	убиквитин	MQIFVKTLTGKTITLEVEPSDTIENVKAKIQDKEGIPPDQQRLIFAGKQ LEDGRTLSDYNIQKESTLHLVLRLRGG
74	кальретикулин	MLLSVPLLLGLLGLAVA
75	VSV-G	MKCLLYLAFLFIGVNC
76	CXCL10, IP-10	MNQTAILICCLIFLTLSGIQG
77	LAMP-1 N-концевой	MAPRSARRPLLLLLLLLLLGLMHCASAAMFMVKNGNGTACIMANFS AAFSVNYDTKSGPKNMTLDLPSDATVVLNRSSCGKENTSDPSLVIAF GRGHTLTLNFTRNATRYSVQLMSFVYNLSDTHLFPNASSKEIKTVESI TDIRADIDKKYRCVSGTQVHMNNVTVTLHDATIQAYLSNSSFSRGET RCEQDRPSPTTAPPAPPSPSPSPVPKSPSVDKYNVSGTNGTCLLASMG LQLNLTYERKDNTTVTRLLNINPNKTSASGSCGAHLVTLELHSEGTTV LLFQFGMNASSSRFFLQGIQLNTILPDARDPAFKAANGSLRALQATVG NSYKCNAEEHVRVTKAFSVNIFKVWVQAFKVEGGQFGSVEECLLDE NSLEDI

78	LAMP-1 C-концевой	GSEFTLIPIAVGGALAGLVIVLIAYLVGRKRSHAGYQTI

[0113] Дополнительно предложены способы получения иммуногенных полипептидов, описанные в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления способы включают конструирование иммуногенных полипептидов с применением пептидного синтеза. В некоторых вариантах осуществления способы включают конструирование с применением технологии синтетической или рекомбинантной ДНК, полинуклеотидов, кодирующих каждый из полипептидов двухвалентного антигена и экспрессирующих полипептиды из экспрессионного вектора. В некоторых вариантах осуществления способы могут дополнительно включать введение полинуклеотидов в один или более векторов и экспрессию кодированных полипептидов в клетке. Это может быть выполнено с применением известных рекомбинантных методик.

3. Полинуклеотиды, кодирующие иммуногенные полипептиды

[0114] Предложены полинуклеотиды, кодирующие иммуногенные полипептиды, описанные в данном документе, векторы, содержащие такие полинуклеотиды, и клетки-хозяева (например, клетки человека, клетки млекопитающих, клетки дрожжей, клетки растений, клетки насекомых, бактериальные клетки, например, *E. coli*), содержащие такие полинуклеотиды или векторы экспрессии. В данном документе предложены полинуклеотиды, содержащие нуклеотидную последовательность(-и), кодирующую любой из имунногенных полипептидов, предложенных в данном документе, а также кассеты экспрессии и вектор(-ы), содержащие такие полинуклеотидные последовательности, например, векторы экспрессии для их эффективной экспрессии в клетках-хозяевах, например, клетках млекопитающих. В различных вариантах осуществления полинуклеотид представляет собой ДНК, кДНК, мРНК, самоамплифицирующуюся РНК (SAM), самореплицирующуюся РНК или самоамплифицирующийся РНК-репликон (RepRNA). В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид содержит или экспрессируется из альфавирусного самореплицирующегося или самоамплифицирующегося РНК-репликона (RepRNA). Описан самореплицирующийся РНК и самоамплифицирующийся РНК-репликон в качестве способов доставки вакцины, например, в Tews, *et al.*, *Methods Mol Biol*. (2017) 1499:15-35; Démoulins, *et al.*, *Methods Mol Biol*. (2017) 1499:37-75; Englezou, *et al., Mol Ther Nucleic Acids*. (2018) 12:118-134; McCollough, *et al., Vaccines* (Basel). (2014) 2(4):735-54; и McCollough, *et al.*, *Mol Ther Nucleic Acids*. (2014) 3:e173.

[0115] Термины «полинуклеотид» и «молекула нуклеиновой кислоты» взаимозаменяемо относятся к полимерной форме нуклеотидов и включают как смысловые, так и антисмысловые цепи РНК, кДНК, геномной ДНК, а также синтетические формы и смешанные полимеры из вышеперечисленных. Используемый в настоящем документе термин «молекула нуклеиновой кислоты» может быть взаимозаменяемым с термином «полинуклеотид». В некоторых вариантах осуществления нуклеотид относится к рибонуклеотиду, дезоксинуклеотиду или модифицированной форме любого типа нуклеотида и их комбинациям. Термины также включают без ограничения одно- и двухцепочечные формы ДНК. Кроме того, полинуклеотид, например, кДНК или мРНК, может включать как встречающиеся в природе, так и модифицированные нуклеотиды, связанные вместе встречающимися в природе и/или не встречающимися в природе нуклеотидными связями. Молекулы

нуклеиновой кислоты могут быть модифицированы химически или биохимически или могут содержать неприродные или дериватизированные нуклеотидные основания, что легко поймет специалисты в данной области техники. Такие модификации включают, например, метки, метилирование, замену одного или более встречающихся в природе нуклеотидов аналогом, межнуклеотидные модификации, такие как незаряженные связи (например, метилфосфонаты, фосфотриэфиры, фосфорамидаты, карбаматы и т. д.), заряженные связи (например, фосфоротиоаты, фосфородитиоаты и т.д.), боковые фрагменты (например, полипептиды), интеркаляторы (например, акридин, псорален и т.д.), хелаторы, алкиляторы и модифицированные связи (например, альфа-аномерные нуклеиновые кислоты и т.д.). Вышеупомянутый термин также предназначен для включения любой топологической конформации, включая одноцепочечные, двухцепочечные, частично дуплексные, триплексные, шпильчатые, кольцевые и закрытые конформации. Ссылка на последовательность нуклеиновой кислоты включает ее комплемент, если не указано иное. Таким образом, следует понимать, что ссылка на молекулу нуклеиновой кислоты, имеющую конкретную последовательность, включает ее комплементарную цепь с ее комплементарной последовательностью. Термин также включает полинуклеотиды со смещением по кодонам для улучшенной экспрессии в требуемом вирусном экспрессионном векторе или клетке-хозяине.

[0116] Используемый в настоящем документе термин «замена» означает замену одной или более аминокислот или нуклеотидов другими аминокислотами или нуклеотидами, соответственно.

[0117] «Выделенная» нуклеиновая кислота относится к молекуле нуклеиновой кислоты, которая была отделена от компонента ее естественного окружения. Выделенная нуклеиновая кислота включает молекулу нуклеиновой кислоты, содержащуюся в клетках, которые, как правило, содержат молекулу нуклеиновой кислоты, но молекула нуклеиновой кислоты присутствует вне хромосомы или в хромосомном местоположении, которое отличается от ее естественного хромосомного местоположения. «Выделенная нуклеиновая кислота, кодирующая иммуногенный полипептид» относится к одной или более молекулам нуклеиновой кислоты, кодирующим такие иммуногенные полипептиды, включая такую(-ие) молекулу(-ы) нуклеиновой кислоты в одном векторе или множестве отдельных векторов, и такая(-ие) молекула(-ы) нуклеиновой кислоты присутствует(-ют) в одном или более местоположениях в клетке-хозяине.

[0118] В контексте данного документа термин «вариант полинуклеотида», представляет собой полинуклеотид, который, как правило, отличается от полинуклеотида, конкретно раскрытого в настоящем документе, одной или более заменами, делециями, добавлениями и/или вставками. Такие варианты могут встречаться в природе или могут быть получены синтетически, например, путем модификации одной или более из вышеуказанных полинуклеотидных последовательностей, описанных в настоящем документе, и оценки одной или более биологических активностей кодируемого полипептида, как описано в настоящем документе, и/или с применением любого из ряда методов, хорошо известных в данной области техники.

[0119] В некоторых вариантах осуществления молекула нуклеиновой кислоты смещена по кодонам для усиления экспрессии в желаемой клетке-хозяине, например, в клетках человека, клетках млекопитающих, дрожжевых клетках, клетках растений, клетках насекомых или бактериальных клетках, например, клетках *E. coli*. Соответственно, предложены полинуклеотиды, кодирующие

иммуногенный полипептид, описанный в настоящем документе, в котором полинуклеотиды смещены по кодонам, содержат замещающие гетерологичные сигнальные последовательности и/или в которых удалены элементы нестабильности мРНК. Способы создания нуклеиновых кислот со смещением кодонов могут быть реализованы путем адаптации способов, описанных, например, в патентах США №№ 5,965,726; 6,174,666; 6,291,664; 6,414,132; и 6,794,498. Предпочтительная частота применения кодона для экспрессии иммуногенных полипептидов из требуемых вирусных экспрессионных векторов и/или в требуемых клетках-хозяевах представлена, например, по ссылке kazusa.or.jp/codon/; и genscript.com/tools/codon-frequency-table.

[0120] В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид, кодирующий иммуногенный полипептид, как описано в настоящем документе, на по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99%, или на 100% идентичен последовательности нуклеиновой кислоты, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 27–37 и 89–94, как представлено в таблице M.

[0121] Соответственно, в некоторых вариантах осуществления 3'-конец полинуклеотида, кодирующего один или более иммуногенных полипептидов, описанных в настоящем документе, содержит один или более тандемных стоп-кодонов, например, два или более тандемных TAG («янтарь»), TAA («охра») или TGA («опал» или «умбра») стоп-кодонов. Множественные тандемные стоп-кодоны могут быть одинаковыми или разными.

[0122] Дополнительно предложены экспрессионные кассеты, содержащие полинуклеотид, кодирующий иммуногенный полипептид, как описано в настоящем документе, функционально связанный с одной или более регуляторными последовательностями. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид функционально связан с конститутивным промотором и контролируется им. В некоторых вариантах осуществления промотор выбран из основного предраннего цитомегаловируса (CMV), энхансера CMV, слитого с промотором бета-актина кур (CAG), фактора элонгации человека-1α (HEF-1α), цитомегаловируса мыши (CMV мыши), фактора элонгации-1α китайского хомячка (CHEF-1α) и фосфоглицераткиназы (PGK).

Таблица M - Полинуклеотиды, кодирующие иммуногенные полипептиды

SEQ ID NO:	Генотип ВГВ	название	Полинуклеотидная последовательность
27	B	$Pol^{\Delta 1}$	ATGCCCCTGAGCTACCAGCACTTCAGGAAGCTGCTGCTGCTGGATG ATGAGGCTGGCCCTCTGGAGGAGGAGCTGCCCAGGCTGGCAGATG AGGGCCTCAACAGGAGAGTGGCAGAGGACCTGAACCTGGGCAACC TGAATGTGAGCATCCCCTGGACCCACAAAGTGGGGAACTTCACTGG CCTCTACAGCAGCACAGTGCCAGTGTTCAACCCTGAGTGGCAGACC CCCTCCTTCCCCCACATCCACCTCCAGGAGGACATCATCAACAGAT GTCAGCAGTATGTGGGCCCTCTGACAGTCAATGAGAAGAGGAGGC TGAAGCTGATCATGCCTGCCAGGTTCTACCCCAACCTGACCAAGTA CCTCCCACTGGACAAGGGCATCAAGCCATACTATCCTGAGCATGTG GTGAACCACTACTTTCAGACCAGGCACTACCTGCACACACTGTGGA AGGCTGGCATCCTGTACAAGAGGGAGAGCACCAGATCAGCCTCTTT CTGTGGCTCCCCCTACAGCTGGGAGCAGGATCTCCAGCATGGCAGA CTGGTGTTCCAGACCTCCAAGAGGCATGGGGACAAGTCCTTTTGCC

Таблица M - Полинуклеотиды, кодирующие иммуногенные полипептиды			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**название**	**Полинуклеотидная последовательность**
			CCCAGAGCCCTGGCATCCTGCCCAGGAGCGAGCTCCACCACTTCCC CCCCTCCTCCAGCAGAAGCCAGTCCCAGGGACCTGTGCTGTCCTGC TGGTGGCTCCAGTTCAGGAACAGTGAGCCCTGCAGTGAGTACTGTC TGTGTCACATTGTGAACCTGATTGAGGACTGGGGGCCCTGCACTGA GCATGGAGAGCACAGGATCAGAACCCCCAGGACCCCAGCCAGAGT GACTGGAGGTGTGTTCCTGGTGGACAAGAACCCCCACAACACCAC AGAGAGCAGACTGGTGGTGGACTTCTCCCAGTTTTCAAGGGGCAAC ACCAGAGTGTCCTGGCCCAAGTTTGCAGTGCCCAACCTCCAGAGCC TGACCAACCTGCTGTCATCAAACCTGAGCTGGCTGTCCCTGGATGT GTCTGCTGCCTTCTACCACCTGCCCCTGCACCCTGCAGCCATGCCTC ACCTCCTGGTGGGCAGCTCAGGCCTGAGCAGGTATGTGGCCAGGCT GTCAAGCAACTCCAGAATCATCAACAACCAGCACAGGACCATGCA GAACCTGCATGACTCTTGCAGCAGGAACCTGTATGTGAGCCTGATG CTGCTGTACAAGACCTATGGCAGGAAGCTGCACCTGTACTCCCACC CCATCATCCTGGGTTTCAGGAAGATCCCCATGGGAGTGGGACTGTC CCCCTTCCTGCTGGCCCAGTTCACCTCTGCCATCTGCTCTGTGGTGA GGAGAGCCTTCCCCCACTGCCTGGCCTTCTCCTACATGCATGATGT GGTGCTGGGGGCCAAGTCAGTGCAGCACCTGGAGTCTCTGTATGCT GCAGTCACCAACTTCCTGCTCAGCCTGGGCATCCACCTGAACCCCC ACAAGACCAAGAGGTGGGGCTACTCTCTGAACTTCATGGGCTATGT GATAGGCAGCTGGGGCACCCTGCCACAGGAGCACATAGTGCAGAA GATCAAGATGTGCTTCAGGAAGCTGCCAGTGAACAGGCCCATTGAT TGGAAGGTGTGCCAGAGGATTGTGGGCCTGCTGGGCTTTGCAGCAC CCTTCACACAGTGTGGCTACCCAGCTCTGATGCCCCTGTATGCCTGC ATCCAGGCCAAGCAGGCCTTCACCTTCTCCCCCACTTACAAGGCCT TCCTGTCCAAGCAGTACCTGCACCTGTACCCTGTGGCAAGGCAGAG GCCAGGCCTCTGCCAGGTGTTTGCAGATGCCACCCCCACAGGCTGG GGCCTGGCCATTGGCCACCAGAGGATGAGAGGGGCCTTTGTGAGC CCACTGCCAATCCACACAGCCCACCTGCTGGCAGCATGCTTTGCCA GGTCCAGGTCTGGTGCAAAGCTGATTGGCACTGACAACAGTGTGGT GCTGTCCAGAAAGTACACCAGCTTCCCCTGGCTGCTGGGATGTGCT GCCAACTGGATTCTGAGGGGCACCAGCTTTGTCTATGTGCCCTCTG CACTGAACCCTGCAGATGACCCCTCCAGGGGCAGACTGGGGCTGTA CAGGCC
			ACTGCTCAGACTGCTGTACAGGCCCACCACTGGCAGAACCTCCCTG TATGCAGACAGCCCCTCAGTGCCCTCTCACCTGCCAGACAGAGTGC ACTTTGCCAGCCCCCTGCATGTTGCCTGGAGGCCCCCC
28	B	$Pol^{\Delta 3}$	ATGCCCCTGAGCTACCAGCACTTCAGGAAGCTGCTGCTGCTGGATG ATGAGGCTGGCCCTCTGGAGGAGGAGCTGCCCAGGCTGGCAGATG AGGGCCTCAACAGGAGAGTGGCAGAGGACCTGAACCTGGGCAACC TGAATGTGAGCATCCCCTGGACCCACAAAGTGGGGAACTTCACTGG CCTCTACAGCAGCACAGTGCCAGTGTTCAACCCTGAGTGGCAGACC CCCTCCTTCCCCCACATCCACCTCCAGGAGGACATCATCAACAGAT GTCAGCAGTATGTGGGCCCTCTGACAGTCAATGAGAAGAGGAGGC TGAAGCTGATCATGCCTGCCAGGTTCTACCCCAACCTGACCAAGTA CCTCCCACTGGACAAGGGCATCAAGCCATACTATCCTGAGCATGTG GTGAACCACTACTTTCAGACCAGGCACTACCTGCACACACTGTGGA AGGCTGGCATCCTGTACAAGAGGGAGAGCACCAGATCAGCCTCTTT CTGTGGCTCCCCCTACAGCTGGGAGCAGGATCTCCAGCATGGCTGC TGGTGGCTCCAGTTCAGGAACAGTGAGCCCTGCAGTGAGTACTGTC TGTGTCACATTGTGAACCTGATTGAGGACTGGGGGCCCTGCACTGA GCATGGAGAGCACAGGATCAGAACCCCCAGGACCCCAGCCAGAGT GACTGGAGGTGTGTTCCTGGTGGACAAGAACCCCCACAACACCAC AGAGAGCAGACTGGTGGTGGACTTCTCCCAGTTTTCAAGGGGCAAC ACCAGAGTGTCCTGGCCCAAGTTTGCAGTGCCCAACCTCCAGAGCC TGACCAACCTGCTGTCATCAAACCTGAGCTGGCTGTCCCTGGATGT GTCTGCTGCCTTCTACCACCTGCCCCTGCACCCTGCAGCCATGCCTC

Таблица M - Полинуклеотиды, кодирующие иммуногенные полипептиды			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**название**	**Полинуклеотидная последовательность**
			ACCTCCTGGTGGGCAGCTCAGGCCTGAGCAGGTATGTGGCCAGGCT GTCAAGCAACTCCAGAATCATCAACAACCAGCACAGGACCATGCA GAACCTGCATGACTCTTGCAGCAGGAACCTGTATGTGAGCCTGATG CTGCTGTACAAGACCTATGGCAGGAAGCTGCACCTGTACTCCCACC CCATCATCCTGGGTTTCAGGAAGATCCCCATGGGAGTGGGACTGTC CCCCTTCCTGCTGGCCCAGTTCACCTCTGCCATCTGCTCTGTGGTGA GGAGAGCCTTCCCCCACTGCCTGGCCTTCTCCTACATGCATGATGT GGTGCTGGGGGCCAAGTCAGTGCAGCACCTGGAGTCTCTGTATGCT GCAGTCACCAACTTCCTGCTCAGCCTGGGCATCCACCTGAACCCCC ACAAGACCAAGAGGTGGGGCTACTCTCTGAACTTCATGGGCTATGT GATAGGCAGCTGGGGCACCCTGCCACAGGAGCACATAGTGCAGAA GATCAAGATGTGCTTCAGGAAGCTGCCAGTGAACAGGCCCATTGAT TGGAAGGTGTGCCAGAGGATTGTGGGCCTGCTGGGCTTTGCAGCAC CCTTCACACAGTGTGGCTACCCAGCTCTGATGCCCCTGTATGCCTGC ATCCAGGCCAAGCAGGCCTTCACCTTCTCCCCCACTTACAAGGCCT TCCTGTCCAAGCAGTACCTGCACCTGTACCCTGTGGCAAGGCAGAG GCCAGGCCTCTGCCAGGTGTTTGCAGATGCCACCCCCACAGGCTGG GGCCTGGCCATTGGCCACCAGAGGATGAGAGGGGCCTTTGTGAGC CCACTGCCAATCCACACAGCCCACCTGCTGGCAGCATGCTTTGCCA GGTCCAGGTCTGGTGCAAAGCTGATTGGCACTGACAACAGTGTGGT GCTGTCCAGAAAGTACACCAGCTTCCCCTGGCTGCTGGGATGTGCT GCCAACTGGATTCTGAGGGGCACCAGCTTTGTCTATGTGCCCTCTG CACTGAACCCTGCAGATGACCCCTCCAGGGGCAGACTGGGGCTG
			TACAGGCCACTGCTCAGACTGCTGTACAGGCCCACCACTGGCAGAA CCTCCCTGTATGCAGACAGCCCCTCAGTGCCCTCTCACCTGCCAGA CAGAGTGCACTTTGCCAGCCCCCTGCATGTTGCCTGGAGGCCCCCC
29	B	Pol[300]	ATGTCCAGCAGAAGCCAGTCCCAGGGACCTGTGCTGTCCTGCTGGT GGCTCCAGTTCAGGAACAGTGAGCCCTGCAGTGAGTACTGTCTGTG TCACATTGTGAACCTGATTGAGGACTGGGGGCCCTGCACTGAGCAT GGAGAGCACAGGATCAGAACCCCCAGGACCCCAGCCAGAGTGACT GGAGGTGTGTTCCTGGTGGACAAGAACCCCCACAACACCACAGAG AGCAGACTGGTGGTGGACTTCTCCCAGTTTTCAAGGGGCAACACCA GAGTGTCCTGGCCCAAGTTTGCAGTGCCCAACCTCCAGAGCCTGAC CAACCTGCTGTCATCAAACCTGAGCTGGCTGTCCCTGGATGTGTCT GCTGCCTTCTACCACCTGCCCCTGCACCCTGCAGCCATGCCTCACCT CCTGGTGGGCAGCTCAGGCCTGAGCAGGTATGTGGCCAGGCTGTCA AGCAACTCCAGAATCATCAACAACCAGCACAGGACCATGCAGAAC CTGCATGACTCTTGCAGCAGGAACCTGTATGTGAGCCTGATGCTGC TGTACAAGACCTATGGCAGGAAGCTGCACCTGTACTCCCACCCCAT CATCCTGGGTTTCAGGAAGATCCCCATGGGAGTGGGACTGTCCCCC TTCCTGCTGGCCCAGTTCACCTCTGCCATCTGCTCTGTGGTGAGGAG AGCCTTCCCCCACTGCCTGGCCTTCTCCTACATGCATGATGTGGTGC TGGGGGCCAAGTCAGTGCAGCACCTGGAGTCTCTGTATGCTGCAGT CACCAACTTCCTGCTCAGCCTGGGCATCCACCTGAACCCCCACAAG ACCAAGAGGTGGGGCTACTCTCTGAACTTCATGGGCTATGTGATAG GCAGCTGGGGCACCCTGCCACAGGAGCACATAGTGCAGAAGATCA AGATGTGCTTCAGGAAGCTGCCAGTGAACAGGCCCATTGATTGGAA GGTGTGCCAGAGGATTGTGGGCCTGCTGGGCTTTGCAGCACCCTTC ACACAGTGTGGCTACCCAGCTCTGATGCCCCTGTATGCCTGCATCC AGGCCAAGCAGGCCTTCACCTTCTCCCCCACTTACAAGGCCTTCCT GTCCAAGCAGTACCTGCACCTGTACCCTGTGGCAAGGCAGAGGCCA GGCCTCTGCCAGGTGTTTGCAGATGCCACCCCCACAGGCTGGGGCC TGGCCATTGGCCACCAGAGGATGAGAGGGGCCTTTGTGAGCCCACT GCCAATCCACACAGCCCACCTGCTGGCAGCATGCTTTGCCAGGTCC AGGTCTGGTGCAAAGCTGATTGGCACTGACAACAGTGTGGTGCTGT CCAGAAAGTACACCAGCTTCCCCTGGCTGCTGGGATGTGCTGCCAA CTGGATTCTGAGGGGCACCAGCTTTGTCTATGTGCCCTCTGCACTG

Таблица M - Полинуклеотиды, кодирующие иммуногенные полипептиды			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**название**	**Полинуклеотидная последовательность**
			AACCCTGCAGATGACCCCTCCAGGGGCAGACTGGGGCTGTACAGG CCACTGCTCAGACTGCTGTACAGGCCCACCACTGGCAGAACCTCCC TGTATGCAGACAGCCCCTCAGTGCCCTCTCACCTGCCAGACAGAGT GCACTTTGCCAGCCCCCTGCATGTTGCCTGGAGGCCCCCC
89	B	Pol^{300} ori	ATGTCTTCAAGATCCCAGAGTCAGGGCCCTGTACTTTCCTGCTGGT GGCTCCAGTTCAGGAACAGTGAGCCCTGCTCCGAATACTGTCTCTG CCATATCGTCAATCTTATCGAAGACTGGGGACCCTGTACCGAACAT GGAGAACATCGCATCAGGACTCCTAGGACCCCTGCTCGTGTTACAG GCGGGGTTTTTCTTGTTGACAAAAATCCTCACAATACCACAGAGTC TAGACTCGTGGTGGACTTCTCTCAATTTTCTAGGGGGAACACCCGT GTGTCTTGGCCAAAATTCGCAGTCCCAAATCTCCAGTCACTCACCA ACCTGTTGTCCTCCAATTTGTCCTGGTTATCGCTGGATGTGTC
			TGCGGCGTTTTATCATCTTCCTCTGCATCCTGCTGCTATGCCTCATC TTCTTGTTGGTTCTTCTGGACTATCAAGGTATGTTGCCCGTTTGTCC TCTAATTCCAGGATCATCAACAACCAGCACCGGACCATGCAAAACC TGCACGACTCCTGCTCAAGGAACCTCTATGTTTCCCTCATGTTGCTG TACAAAACCTACGGACGGAAACTGCACTTGTATTCCCATCCCATCA TCTTGGGCTTTCGCAAAATTCCTATGGGAGTGGGCCTCAGTCCGTTT CTCTTGGCTCAGTTTACTAGTGCCATTTGTTCAGTGGTTCGTAGGGC TTTCCCCCACTGTCTGGCTTTCAGTTATATGCATGATGTGGTATTGG GGGCCAAGTCTGTACAACATCTTGAGTCCCTTTATGCCGCTGTTACC AATTTTCTTTTGTCTTTGGGTATACATTTAAACCCTCACAAAACAAA AAGATGGGGATATTCCCTTAACTTCATGGGATATGTAATTGGGAGT TGGGGCACATTGCCGCAGGAACATATTGTACAAAAAATCAAAATG TGTTTTAGGAAACTTCCTGTAAACCGGCCTATTGATTGGAAAGTAT GTCAACGAATTGTGGGTCTTTTGGGGTTTGCCGCCCCTTTCACGCAA TGTGGATATCCTGCTTTAATGCCTTTATATGCATGTATACAAGCAAA ACAGGCTTTTACTTTCTCGCCAACTTACAAGGCCTTCCTAAGTAAAC AGTATCTGCACCTTTACCCCGTTGCTCGGCAACGGCCTGGTCTGTGC CAAGTGTTTGCTGACGCAACCCCCACTGGTTGGGGCTTGGCCATAG GCCATCAGCGCATGCGTGGAGCCTTCGTGTCTCCTCTGCCGATCCA TACTGCGCATCTCCTGGCCGCTTGTTTTGCTCGCAGCAGGTCTGGGG CAAAACTCATCGGGACTGACAATTCTGTCGTGCTCTCCCGCAAGTA TACATCCTTTCCATGGCTGCTAGGCTGTGCTGCCAACTGGATCCTGC GCGGGACGTCCTTTGTTTACGTCCCGTCGGCGCTGAATCCCGCGGA CGACCCCTCCCGGGGCCGCTTGGGGCTCTACCGCCCGCTTCTCCGC TTGTTGTACCGACCGACTACGGGGCGCACCTCTCTCTACGCGGACT CCCCGTCTGTGCCTTCTCATCTGCCGGACCGTGTGCACTTCGCTTCA CCTCTGCACGTCGCATGGAGACCACCGT
90	B	Pol^{300} dint	ATGTCATCCAGATCCCAGAGTCAGGGCCCTGTCCTTTCCTGTTGGTG GCTCCAGTTCAGGAACAGTGAGCCCTGTTCTGAGTACTGTCTCTGC CACATTGTCAATCTGATTGAGGACTGGGGCCCCTGCACAGAGCATG GTGAACACAGGATCAGGACTCCCAGGACCCCTGCCAGGGTGACTG GTGGGGTTTTCCTTGTTGACAAAAATCCTCACAACACCACAGAGTC AAGGCTTGTGGTGGACTTCTCTCAATTTTCAAGGGGGAACACAAGG GTGTCTTGGCCCAAATTTGCAGTCCCAAATCTCCAGTCTCTGACCA ACCTGTTGTCCTCCAATTTGTCCTGGTTGTCTCTGGATGTCTCTGCT GCCTTTTATCATCTTCCTCTCCATCCTGCTGCCATGCCTCATCTTCTT GTTGGTTCTTCTGGCCTCTCTAGGTATGTTGCCAGATTGTCCTCCAA TTCCAGGATCATCAACAACCAGCACAGGACCATGCAAAACCTGCAT GACTCCTGCTCCAGAAACCTCTATGTTTCTCTCATGTTGCTGTACAA AACCTATGGCAGGAAACTGCATTTGTATTCCCATCCCATCATCTTG GGCTTCAGGAAAATTCCCATGGGAGTGGGCCTCAGTCCCTTCCTCT TGGCTCAGTTCACCAGTGCCATTTGTTCTGTTGTCAGGAGGGCTTTC CCCCACTGTCTTGCTTTCAGTTACATGCATGATGTGGTCTTGGGGGC CAAGTCTGTCCAACATCTTGAGTCACTTTATGCTGCTGTGACCAACT

Таблица М - Полинуклеотиды, кодирующие иммуногенные полипептиды			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**название**	**Полинуклеотидная последовательность**
			TTCTTTTGTCTTTGGGCATCCATTTGAACCCTCACAAAACCAAAAGA TGGGGCTATTCCCTCAATTTCATGGGCTATGTCATTGGG
			AGTTGGGGCACTTTGCCCCAGGAACACATTGTGCAAAAAATCAAG ATGTGTTTCAGGAAACTTCCTGTGAACAGGCCAATTGACTGGAAAG TCTGTCAGAGAATTGTGGGTCTTTTGGGGTTTGCAGCTCCTTTCACC CAATGTGGCTATCCTGCTTTGATGCCCTTGTATGCCTGCATCCAGGC CAAACAGGCTTTCACTTTCTCCCCCACTTACAAGGCCTTCCTCAGCA AACAGTATCTCCACCTTTACCCTGTTGCAAGGCAGAGGCCTGGTCT GTGCCAAGTGTTTGCTGATGCAACCCCCACTGGTTGGGGCTTGGCC ATTGGCCATCAGAGAATGAGAGGTGCCTTTGTGTCTCCTCTCCCCA TCCACACTGCTCATCTCCTGGCAGCTTGCTTTGCAAGGAGCAGGTC TGGAGCCAAACTCATAGGGACTGACAATTCTGTGGTGCTCTCCAGA AAGTACACCTCCTTTCCTTGGCTGCTGGGCTGTGCAGCCAACTGGA TCCTGAGGGGGACTTCCTTTGTTTATGTCCCCTCTGCCCTGAATCCT GCAGATGACCCCTCCAGGGGCAGGTTGGGGCTCTACAGACCCCTTC TCAGGTTGTTGTACAGACCAACAACAGGGAGGACCTCTCTCTATGC AGATTCCCCCTCTGTTCCTTCTCATCTTCCAGACAGAGTGCACTTTG CTTCTCCTCTGCATGTGGCTTGGAGACCTCCC
91	B	Pol^{300} huCo low GC	ATGTCTAGCAGAAGCCAGTCCCAGGGACCTGTGCTGTCTTGTTGGT GGCTTCAGTTTCGGAATAGCGAGCCATGTAGCGAGTATTGCCTGTG TCACATCGTGAATCTGATTGAGGATTGGGGACCATGCACAGAGCAC GGAGAGCACCGGATCAGAACCCCTAGGACACCAGCCCGCGTGACA GGAGGCGTGTTCCTGGTGGATAAGAACCCCCATAATACAACAGAG AGCAGACTGGTGGTGGATTTTTCTCAGTTTTCTCGGGGCAATACAA GAGTGTCCTGGCCAAAGTTTGCCGTGCCCAATCTCCAGAGCCTGAC AAACCTGCTGTCTTCTAATCTGAGCTGGCTGTCCCTGGACGTGTCCG CCGCCTTTTACCACCTGCCACTGCACCCTGCCGCCATGCCCCACCTG CTGGTGGGCAGCTCCGGACTGAGCAGATACGTGGCAAGGCTGTCTA GCAATTCTAGAATTATTAATAATCAGCACAGAACAATGCAGAATCT GCATGATTCTTGTAGCAGGAATCTGTACGTGAGCCTGATGCTGCTG TATAAGACATATGGACGCAAGCTGCACCTGTATTCTCACCCTATTA TTCTGGGCTTCCGGAAGATCCCTATGGGCGTGGGACTGTCCCCATT CCTGCTGGCCCAGTTTACCTCCGCCATCTGCTCTGTGGTGCGGAGA GCCTTCCCACATTGTCTGGCCTTTTCTTACATGCACGATGTGGTGCT GGGCGCCAAATCCGTGCAGCACCTGGAGTCTCTGTATGCCGCCGTG ACAAACTTCCTGCTGAGCCTGGGCATCCACCTGAATCCACATAAGA CAAAGCGGTGGGGCTATTCTCTGAATTTTATGGGCTATGTGATCGG CAGCTGGGGAACCCTGCCACAGGAGCACATTGTGCAGAAGATCAA GATGTGCTTTCGCAAGCTGCCCGTGAATCGGCCTATCGATTGGAAG GTGTGCCAGAGGATCGTGGGACTGCTGGGATTCGCAGCACCCTTTA CCCAGTGCGGCTACCCAGCCCTGATGCCACTGTATGCCTGTATCCA GGCCAAACAGGCCTTCACCTTTTCCCCTACATATAAGGCTTTTCTGT CTAAGCAGTACCTGCATCTGTATCCAGTGGCAAGGCAGAGGCCAG GACTGTGCCAGGTGTTTGCAGATGCAACACCAACAGGATGGGGAC TGGCAATCGGACACCAGAGGATGAGAGGAGCCTTCGTGAGCCCAC TGCCAATTCACACCGCCCACCTGCTGGCAGCATGCTTTGCAAGGTC CCGCTCTGGAGCAAAGCTGATTGGCACCGATAACAGCGTGGTGCTG TCCAGAAAATACACCAGCTTCCCCTGGCTGCTGGGATGTGCAGCAA ATTGGATTC
			TGAGGGGCACCAGCTTCGTGTATGTGCCTTCCGCCCTGAATCCTGC CGATGATCCATCTCGAGGCAGACTGGGACTGTATAGGCCACTGCTG AGACTGCTGTATAGGCCTACCACAGGCAGAACATCCCTGTATGCCG ACAGCCCATCCGTGCCCTCTCACCTGCCAGATAGAGTGCATTTCGC AAGCCCACTGCATGTGGCATGGAGGCCACCC
92	B	Pol^{300} ori_del CpG	ATGTCTTCAAGATCCCAGAGTCAGGGCCCTGTACTTTCCTGCTGGT GGCTCCAGTTCAGGAACAGTGAGCCCTGCTCTGAATACTGTCTCTG CCATATTGTCAATCTTATAGAAGACTGGGGACCCTGTACTGAACAT

Таблица M - Полинуклеотиды, кодирующие иммуногенные полипептиды			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**название**	**Полинуклеотидная последовательность**
			GGAGAACATAGGATCAGGACTCCTAGGACCCCTGCTAGAGTTACA GGGGGGGTTTTTCTTGTTGACAAAAATCCTCACAATACCACAGAGT CTAGACTTGTGGTGGACTTCTCTCAATTTTCTAGGGGGAACACCAG GGTGTCTTGGCCAAAATTTGCAGTCCCAAATCTCCAGTCACTCACC AACCTGTTGTCCTCCAATTTGTCCTGGTTATCCCTGGATGTGTCTGC AGCCTTTTATCATCTTCCTCTGCATCCTGCTGCTATGCCTCATCTTCT TGTTGGTTCTTCTGGACTATCAAGGTATGTTGCCAGGTTGTCCTCTA ATTCCAGGATCATCAACAACCAGCACAGGACCATGCAAAACCTGC ATGACTCCTGCTCAAGGAACCTCTATGTTTCCCTCATGTTGCTGTAC AAAACCTATGGAAGGAAACTGCACTTGTATTCCCATCCCATCATCT TGGGCTTTAGAAAAATTCCTATGGGAGTGGGCCTCAGTCCCTTTCT CTTGGCTCAGTTTACTAGTGCCATTTGTTCAGTGGTTAGAAGGGCTT TCCCCCACTGTCTGGCTTTCAGTTATATGCATGATGTGGTATTGGGG GCCAAGTCTGTACAACATCTTGAGTCCCTTTATGCTGCTGTTACCAA TTTTCTTTTGTCTTTGGGTATACATTTAAACCCTCACAAAACAAAAA GATGGGGATATTCCCTTAACTTCATGGGATATGTAATTGGGAGTTG GGGCACATTGCCTCAGGAACATATTGTACAAAAAATCAAAATGTGT TTTAGGAAACTTCCTGTAAACAGGCCTATTGATTGGAAAGTATGTC AAAGAATTGTGGGTCTTTTGGGGTTTGCAGCCCCTTTCACCCAATGT GGATATCCTGCTTTAATGCCTTTATATGCATGTATACAAGCAAAAC AGGCTTTTACTTTCTCCCCAACTTACAAGGCCTTCCTAAGTAAACAG TATCTGCACCTTTACCCTGTTGCTAGGCAAAGGCCTGGTCTGTGCCA AGTGTTTGCTGATGCAACCCCCACTGGTTGGGGCTTGGCCATAGGC CATCAGAGGATGAGGGGAGCCTTTGTGTCTCCTCTGCCTATCCATA CTGCCCATCTCCTGGCAGCTTGTTTTGCTAGGAGCAGGTCTGGGGC AAAACTCATTGGGACTGACAATTCTGTTGTGCTCTCCAGAAAGTAT ACATCCTTTCCATGGCTGCTAGGCTGTGCTGCCAACTGGATCCTGA GGGGGACATCCTTTGTTTATGTCCCTTCAGCACTGAATCCTGCTGAT GACCCCTCCAGGGGCAGATTGGGGCTCTACAGGCCCCTTCTCAGGT TGTTGTACAGACCCACTACTGGGAGAACCTCTCTCTATGCAGACTC CCCCTCTGTGCCTTCTCATCTGCCTGACAGGGTGCACTTTGCTTCAC CTCTGCATGTTGCATGGAGACCACCT
93	B	Pol^{300} IDT	ATGAGTTCCCGATCACAGAGTCAGGGGCCCGTCCTTTCATGTTGGT GGCTTCAGTTTCGAAACTCCGAGCCATGTTCTGAGTATTGTCTCTGC CACATTGTGAATCTTATTGAAGACTGGGGCCCCTGCACCGAGCACG GCGAGCACCGAATACGGACACCTCGAACGCCAGCAAGAGTGACGG GCGGAGTGTTCCTCGTCGACAAGAATCCACACAACACGACGGAGA GTAGATTGGTCGTTGATTTCAGTCAATTTTCAAGAGGCAATACACG AGTTTCTTGGCCGAAAT
			TCGCCGTACCGAATCTGCAATCCTTGACAAATTTGCTTAGTTCTAAT TTGTCTTGGCTTTCTCTCGATGTTTCCGCCGCTTTCTATCACTTGCCC CTTCACCCAGCCGCGATGCCGCATCTCTTGGTGGGCAGCTCTGGAC TTAGTAGATACGTAGCTAGACTCAGTTCTAACTCACGGATAATAAA TAACCAACATCGCACTATGCAGAACCTGCATGATTCTTGTTCCCGG AACTTGTATGTCTCCTTGATGTTGTTGTATAAAACTTATGGGCGAAA GCTTCATCTGTATAGCCATCCGATTATATTGGGTTTTAGGAAAATTC CTATGGGTGTTGGCTTGAGCCCTTTTCTGCTGGCGCAATTTACTTCA GCTATCTGCTCAGTAGTACGCCGGGCGTTTCCCCATTGTCTTGCTTT CTCATACATGCATGATGTAGTACTTGGGGCCAAGTCTGTACAACAC CTTGAGAGTTTGTATGCCGCCGTAACTAATTTCCTTCTCTCTCTCGG GATCCATCTTAACCCTCACAAAACGAAGAGGTGGGGTTATTCTCTG AATTTCATGGGATATGTTATCGGGTCTTGGGGAACGCTGCCTCAGG AACACATCGTCCAGAAAATCAAGATGTGTTTCAGAAAGTTGCCAGT GAACAGACCGATAGATTGGAAGGTTTGCCAAAGAATTGTTGGCTTG TTGGGATTCGCAGCCCCATTCACACAGTGCGGGTATCCGGCTTTGA TGCCCCTTTATGCTTGTATCCAGGCAAAACAGGCATTCACCTTTTCA CCGACTTACAAAGCATTTCTTTCTAAGCAGTATCTCCATCTTTACCC

Таблица M - Полинуклеотиды, кодирующие иммуногенные полипептиды			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**название**	**Полинуклеотидная последовательность**
			TGTCGCTCGACAGCGGCCGGGGCTTTGCCAGGTTTTCGCAGACGCA ACCCCAACTGGTTGGGGTCTTGCGATCGGCCACCAGAGGATGCGCG GTGCATTCGTGTCCCCGCTCCCAATCCATACGGCCCACTTGCTGGC GGCGTGCTTCGCTCGAAGTAGAAGCGGGGCTAAATTGATCGGCAC GGACAATTCAGTCGTGTTGTCACGCAAATATACCTCCTTTCCCTGGT TGCTCGGTTGCGCAGCAAACTGGATACTTCGGGGAACTAGTTTCGT TTATGTGCCCTCTGCTCTCAACCCCGCCGACGATCCTTCACGAGGG AGGCTGGGTCTTTACCGCCCATTGCTCAGGCTGCTTTACCGGCCTAC CACTGGGAGAACAAGCTTGTACGCCGACAGCCCGAGCGTCCCGTCT CATCTGCCCGACAGAGTTCACTTTGCGAGTCCATTGCACGTCGCTT GGCGCCCGCCG
94	B	Pol^{300}_IDT_CpGdel	ATGAGTTCCAGATCACAGAGTCAGGGGCCTGTCCTTTCATGTTGGT GGCTTCAGTTTAGAAACTCAGAGCCATGTTCTGAGTATTGTCTCTGC CACATTGTGAATCTTATTGAAGACTGGGGCCCCTGCACAGAGCATG GAGAGCACAGAATAAGGACACCTAGAACCCCAGCAAGAGTGACAG GTGGAGTGTTCCTGGTAGACAAGAATCCACACAACACAACTGAGA GTAGATTGGTGGTTGATTTCAGTCAATTTTCAAGAGGCAATACAAG AGTTTCTTGGCCAAAATTTGCTGTACCCAATCTGCAATCCTTGACAA ATTTGCTTAGTTCTAATTTGTCTTGGCTTTCTCTAGATGTTTCTGCAG CTTTCTATCACTTGCCCCTTCACCCAGCAGCTATGCCTCATCTCTTG GTGGGCAGCTCTGGACTTAGTAGATATGTAGCTAGACTCAGTTCTA ACTCAAGGATAATAAATAACCAACATAGGACTATGCAGAACCTGC ATGATTCTTGTTCCAGGAACTTGTATGTCTCCTTGATGTTGTTGTAT AAAACTTATGGGAGAAAGCTTCATCTGTATAGCCATCCTATTATAT TGGGTTTTAGGAAAATTCCTATGGGTGTTGGCTTGAGCCCTTTTCTG CTGGCCCAATTTACTTCAGCTATCTGCTCAGTAGTAAGGAGGGCCT TTCCCCATTGTCTTGCTTTCTCATACATGCATGATGTAGTACTTGGG GCCAAGTCTGTACAACACCTTGAGAGTTTGTATGCAGCAGTAACTA ATTTCCTTCTCTCTCT
			TGGGATCCATCTTAACCCTCACAAAACCAAGAGGTGGGGTTATTCT CTGAATTTCATGGGATATGTTATAGGGTCTTGGGGAACCCTGCCTC AGGAACACATTGTCCAGAAAATCAAGATGTGTTTCAGAAAGTTGCC AGTGAACAGACCAATAGATTGGAAGGTTTGCCAAAGAATTGTTGG CTTGTTGGGATTTGCAGCCCCATTCACACAGTGTGGGTATCCTGCTT TGATGCCCCTTTATGCTTGTATCCAGGCAAAACAGGCATTCACCTTT TCACCCACTTACAAAGCATTTCTTTCTAAGCAGTATCTCCATCTTTA CCCTGTGGCTAGACAGAGGCCAGGGCTTTGCCAGGTTTTTGCAGAT GCAACCCCAACTGGTTGGGGTCTTGCAATTGGCCACCAGAGGATGA GAGGTGCATTTGTGTCCCCACTCCCAATCCATACTGCCCACTTGCTG GCAGCTTGCTTTGCTAGAAGTAGAAGTGGGGCTAAATTGATTGGCA CAGACAATTCAGTTGTGTTGTCAAGGAAATATACCTCCTTTCCCTG GTTGCTTGGTTGTGCAGCAAACTGGATACTTAGGGGAACTAGTTTT GTTTATGTGCCCTCTGCTCTCAACCCTGCAGATGATCCTTCAAGAGG GAGGCTGGGTCTTTACAGGCCATTGCTCAGGCTGCTTTACAGGCCT ACCACTGGGAGAACAAGCTTGTATGCAGACAGCCCCAGTGTCCCCT CTCATCTGCCTGACAGAGTTCACTTTGCAAGTCCATTGCATGTTGCT TGGAGACCTCCA
30	D	Pol$^{\Delta 1}$	ATGCCCCTGAGCTACCAACACTTCAGGAGACTGCTGCTGCTGGATG ATGAGGCAGGCCCTCTGGAGGAGGAGCTGCCCAGGCTGGCAGATG AGGGCCTGAACAGGAGGGTGGCTGAGGACCTGAACCTGGGCAACC TGAATGTGAGCATCCCTTGGACCCACAAAGTGGGCAACTTCACAGG CCTGTACAGCAGCACTGTGCCTGTGTTCAACCCCCACTGGAAGACA CCCAGCTTCCCCAACATCCACCTGCACCAGGACATCATCAAGAAGT GTGAGCAGTTTGTGGGCCCCCTGACAGTCAATGAGAAGAGGAGGC TCCAGCTGATCATGCCAGCCAGGTTCTACCCCAATGTGACCAAGTA CCTCCCCCTGGACAAGGGCATCAAGCCTTACTATCCAGAGCACCTG GTGAACCACTACTTCCAGACCAGACACTACCTGCACACACTGTGGA

Таблица M - Полинуклеотиды, кодирующие иммуногенные полипептиды			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**название**	**Полинуклеотидная последовательность**
			AGGCAGGCATCCTGTACAAGAGGGAGACCACACACAGTGCCTCCT TCTGTGGCAGCCCCTACTCCTGGGAGCAGGAGCTGCAACATGGAGC TGAGTCCTTCCACCAGCAGTCCAGTGGCATCCTGAGCAGGCCCCCT GTGGGCAGCGAGCTGCACAACCTGCCCCCCAACTCTGCCAGATCCC AGTCTGAGAGGCCAGTGTTCCCTTGCTGGTGGCTCCAGTTCAGGAA CAGCAAGCCCTGCTCAGACTACTGCCTGAGCCACATTGTGAACCTG CTGGAGGACTGGGGCCCCTGTGCAGAGCATGGGGAGCACCACATC AGAATCCCCAGGACCCCTGCCAGGGTGACAGGAGGGGTGTTCCTG GTGGACAAGAACCCCCACAACACTGCAGAGTCCAGGCTGGTGGTG GACTTCTCCCAGTTCAGCAGGGGCAACTACAGAGTCTCCTGGCCAA AGTTTGCTGTGCCCAACCTCCAGAGCCTGACAAACCTGCTGAGCAG CAACCTGTCCTGGCTCTCCCTGGATGTGAGTGCAGCCTTCTATCACC TGCCCCTGCACCCAGCAGCCATGCCACACCTGCTGGTGGGCTCCAG TGGCCTGTCCAGGTATGTGGCCAGGCTCTCCTCCAACTCCAGGATC TTCAACTATCAGCATGGCACCATGCAGAACCTGCATGACAGCTGCT CCAGGAACCTGTATGTGTCCCTGATGCTGCTCTATCAGACCTTTGGC AGGAAGCTGCACCTGTACAGCCACCCCATCATCCTGGGGTTCAGGA AGATCCCCATGGGTGTGGGCCTGTCCCCCTTCCTGCTGGCCCAGTTC ACCAGTGCCATCTGCTCAGTGGTGAGGAGG
			GCCTTCCCACACTGCCTGGCCTTCTCTTACATGCATGATGTGGTCCT GGGTGCCAAGTCTGTGCAGCACCTGGAGAGCCTGTTCACAGCTGTG ACAAACTTTCTCCTGAGCCTGGGCATCCACCTGAACCCCAACAAGA CCAAGAGGTGGGGTTATTCACTGCACTTCATGGGCTATGTGATTGG CTGCTATGGCTCTCTGCCACAGGACCACATCATCCAGAAGATCAAG GAGTGCTTCAGAAAGCTGCCAGTGAACAGGCCAATTGACTGGAAG GTGTGCCAGAGGATTGTGGGCCTGCTGGGCTTTGCAGCCCCCTTCA CCCAGTGTGGCTACCCTGCCCTGATGCCCCTGTATGCCTGCATCCA GAGCAAGCAGGCCTTCACCTTTTCCCCCACTTACAAGGCCTTCCTGT GCAAGCAGTACCTGAACCTGTACCCTGTGGCCAGGCAGAGACCTG GGCTGTGCCAGGTGTTTGCAGATGCCACCCCCACAGGATGGGGACT GGTCATGGGACACCAGAGGATGAGGGGCACCTTCAAGGCACCCCT GCCCATCCACACAGCCCACCTGCTGGCTGCCTGCTTTGCCAGGAGC AGGAGTGGGGCCAACATCCTGGGCACAGACAACTCTGTGGTGCTG AGCAGGAAGTACACATCCTTCCCCTGGCTGCTGGGATGTGCAGCCA ACTGGATCCTGAGGGGCACCAGCTTTGTGTATGTGCCCTCTGCCCT CAACCCTGCAGATGATCCAAGCAGGGGCAGGCTGGGACTGTACAG GCCACTGCTCAGACTGCCCTTCAGGCCCACCACTGGCAGGACCAGC CTGTATGCTGACTCCCCATCTGTGCCCTCCCACCTGCCTGACAGAGT GCACTTTGCCTCCCCACTGCATGTGGCCTGGAGGCCCCCA
31	D	$Pol^{\Delta 3}$	ATGCCCCTGAGCTACCAACACTTCAGGAGACTGCTGCTGCTGGATG ATGAGGCAGGCCCTCTGGAGGAGGAGCTGCCCAGGCTGGCAGATG AGGGCCTGAACAGGAGGGTGGCTGAGGACCTGAACCTGGGCAACC TGAATGTGAGCATCCCTTGGACCCACAAAGTGGGCAACTTCACAGG CCTGTACAGCAGCACTGTGCCTGTGTTCAACCCCCACTGGAAGACA CCCAGCTTCCCCAACATCCACCTGCACCAGGACATCATCAAGAAGT GTGAGCAGTTTGTGGGCCCCCTGACAGTCAATGAGAAGAGGAGGC TCCAGCTGATCATGCCAGCCAGGTTCTACCCCAATGTGACCAAGTA CCTCCCCCTGGACAAGGGCATCAAGCCTTACTATCCAGAGCACCTG GTGAACCACTACTTCCAGACCAGACACTACCTGCACACACTGTGGA AGGCAGGCATCCTGTACAAGAGGGAGACCACACACAGTGCCTCCT TCTGTGGCAGCCCCTACTCCTGGGAGCAGGAGCTGCAACATGGATG CTGGTGGCTCCAGTTCAGGAACAGCAAGCCCTGCTCAGACTACTGC CTGAGCCACATTGTGAACCTGCTGGAGGACTGGGGCCCCTGTGCAG AGCATGGGGAGCACCACATCAGAATCCCCAGGACCCCTGCCAGGG TGACAGGAGGGGTGTTCCTGGTGGACAAGAACCCCCACAACACTG CAGAGTCCAGGCTGGTGGTGGACTTCTCCCAGTTCAGCAGGGGCAA CTACAGAGTCTCCTGGCCAAAGTTTGCTGTGCCCAACCTCCAGAGC

Таблица M - Полинуклеотиды, кодирующие иммуногенные полипептиды			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**название**	**Полинуклеотидная последовательность**
			CTGACAAACCTGCTGAGCAGCAACCTGTCCTGGCTCTCCCTGGATG TGAGTGCAGCCTTCTATCACCTGCCCCTGCACCCAGCAGCCATGCC ACACCTGCTGGTGGGCTCCAGTGGCCTGTCCAGGTATGTGGCCAGG CTCTCCTCCAACTCCAGGATCTTCAACTATCAGCATGGCACCATGC AGAACCTGCATGACAGCTGCTCCAGGAACCTGTATGTGTCCCTGAT GCTGCTCTATCAGACCTTTGGCAGGAAGCTGCACCTGTACAGCCAC CCCATCATCCTGGGGTTCAGGAAGATCCCCATGGGTGTGGGCCTGT CCCCCTTCCTGCTGGCCCAGTTCA
			CCAGTGCCATCTGCTCAGTGGTGAGGAGGGCCTTCCCACACTGCCT GGCCTTCTCTTACATGCATGATGTGGTCCTGGGTGCCAAGTCTGTGC AGCACCTGGAGAGCCTGTTCACAGCTGTGACAAACTTTCTCCTGAG CCTGGGCATCCACCTGAACCCCAACAAGACCAAGAGGTGGGGTTA TTCACTGCACTTCATGGGCTATGTGATTGGCTGCTATGGCTCTCTGC CACAGGACCACATCATCCAGAAGATCAAGGAGTGCTTCAGAAAGC TGCCAGTGAACAGGCCAATTGACTGGAAGGTGTGCCAGAGGATTG TGGGCCTGCTGGGCTTTGCAGCCCCCTTCACCCAGTGTGGCTACCCT GCCCTGATGCCCCTGTATGCCTGCATCCAGAGCAAGCAGGCCTTCA CCTTTTCCCCCACTTACAAGGCCTTCCTGTGCAAGCAGTACCTGAAC CTGTACCCTGTGGCCAGGCAGAGACCTGGGCTGTGCCAGGTGTTTG CAGATGCCACCCCCACAGGATGGGGACTGGTCATGGGACACCAGA GGATGAGGGGCACCTTCAAGGCACCCCTGCCCATCCACACAGCCCA CCTGCTGGCTGCCTGCTTTGCCAGGAGCAGGAGTGGGGCCAACATC CTGGGCACAGACAACTCTGTGGTGCTGAGCAGGAAGTACACATCCT TCCCCTGGCTGCTGGGATGTGCAGCCAACTGGATCCTGAGGGGCAC CAGCTTTGTGTATGTGCCCTCTGCCCTCAACCCTGCAGATGATCCAA GCAGGGGCAGGCTGGGACTGTACAGGCCACTGCTCAGACTGCCCTT CAGGCCCACCACTGGCAGGACCAGCCTGTATGCTGACTCCCCATCT GTGCCCTCCCACCTGCCTGACAGAGTGCACTTTGCCTCCCCACTGC ATGTGGCCTGGAGGCCCCCA
32	D	Pol^{300}	ATGTCTGCCAGATCCCAGTCTGAGAGGCCAGTGTTCCCTTGCTGGT GGCTCCAGTTCAGGAACAGCAAGCCCTGCTCAGACTACTGCCTGAG CCACATTGTGAACCTGCTGGAGGACTGGGGCCCCTGTGCAGAGCAT GGGGAGCACCACATCAGAATCCCCAGGACCCCTGCCAGGGTGACA GGAGGGGTGTTCCTGGTGGACAAGAACCCCCACAACACTGCAGAG TCCAGGCTGGTGGTGGACTTCTCCCAGTTCAGCAGGGGCAACTACA GAGTCTCCTGGCCAAAGTTTGCTGTGCCCAACCTCCAGAGCCTGAC AAACCTGCTGAGCAGCAACCTGTCCTGGCTCTCCCTGGATGTGAGT GCAGCCTTCTATCACCTGCCCCTGCACCCAGCAGCCATGCCACACC TGCTGGTGGGCTCCAGTGGCCTGTCCAGGTATGTGGCCAGGCTCTC CTCCAACTCCAGGATCTTCAACTATCAGCATGGCACCATGCAGAAC CTGCATGACAGCTGCTCCAGGAACCTGTATGTGTCCCTGATGCTGC TCTATCAGACCTTTGGCAGGAAGCTGCACCTGTACAGCCACCCCAT CATCCTGGGGTTCAGGAAGATCCCCATGGGTGTGGGCCTGTCCCCC TTCCTGCTGGCCCAGTTCACCAGTGCCATCTGCTCAGTGGTGAGGA GGGCCTTCCCACACTGCCTGGCCTTCTCTTACATGCATGATGTGGTC CTGGGTGCCAAGTCTGTGCAGCACCTGGAGAGCCTGTTCACAGCTG TGACAAACTTTCTCCTGAGCCTGGGCATCCACCTGAACCCCAACAA GACCAAGAGGTGGGGTTATTCACTGCACTTCATGGGCTATGTGATT GGCTGCTATGGCTCTCTGCCACAGGACCACATCATCCAGAAGATCA AGGAGTGCTTCAGAAAGCTGCCAGTGAACAGGCCAATTGACTGGA AGGTGTGCCAGAGGATTGTGGGCCTGCTGGGCTTTGCAGCCCCCTT CACCCAGTGTGGCTACCCTGCCCTGATGCCCCTGTATGCCTGCATCC AGAGCAAGCAGGCCTTCACCTTTTCCCCCACTTACAAGGCCTTCCT GTGCAAGCAGTACCTGAACCTGTACCCTGTGGCCAGGCAGAGACCT GGGCTGTGCCAGGTGTTTG
			CAGATGCCACCCCCACAGGATGGGGACTGGTCATGGGACACCAGA GGATGAGGGGCACCTTCAAGGCACCCCTGCCCATCCACACAGCCCA

Таблица M - Полинуклеотиды, кодирующие иммуногенные полипептиды			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**название**	**Полинуклеотидная последовательность**
			CCTGCTGGCTGCCTGCTTTGCCAGGAGCAGGAGTGGGGCCAACATC CTGGGCACAGACAACTCTGTGGTGCTGAGCAGGAAGTACACATCCT TCCCCTGGCTGCTGGGATGTGCAGCCAACTGGATCCTGAGGGGCAC CAGCTTTGTGTATGTGCCCTCTGCCCTCAACCCTGCAGATGATCCAA GCAGGGGCAGGCTGGGACTGTACAGGCCACTGCTCAGACTGCCCTT CAGGCCCACCACTGGCAGGACCAGCCTGTATGCTGACTCCCCATCT GTGCCCTCCCACCTGCCTGACAGAGTGCACTTTGCCTCCCCACTGC ATGTGGCCTGGAGGCCCCCA
33	B/C	Капсид-sAg	ATGGACATTGACCCCTACAAGGAGTTTGGGGCCAGTGTGGAGCTGC TGTCTTTTCTGCCATCTGACTTCTTCCCCAGTGTGAGGGACCTGCTG GACACTGCCTCAGCACTGTACAGAGAGGCCCTGGAGAGCCCAGAG CACTGCTCCCCCCACCACACAGCCCTGAGGCAGGCCATCCTCTGCT GGGGGGAGCTGATGAACCTGGCCACCTGGGTGGGCTCCAACCTGG AGGACCCTGCCTCAAGGGAGCTGGTGGTCAGCTATGTCAATGTGAA CATGGGCCTCAAGATCAGGCAGCTGCTGTGGTTCCACATCTCCTGC CTGACCTTTGGCAGGGAGACAGTCCTGGAGTACCTGGTGAGCTTTG GGGTGTGGATCAGGACCCCCCCTGCCTACAGGCCCCCCAATGCTCC CATCCTGTCCACCCTGCCAGAGACCACTGTGGTCAGGAGAAGGGGC AGGTCCCCCAGGAGGAGAACCCCCTCTCCCAGGAGGAGGAGAAGC CAGTCCCCCAGGAGGAGGAGGAGCCAGAGCAGAGAGTCTCAGTGC ATGGAGAGCACCACATCAGGCTTCCTGGGCCCCCTGCTGGTGCTCC AGGCAGGCTTCTTTCTGCTGACCAGGATTCTGACCATCCCCCAGTC CCTGGACAGCTGGTGGACCTCCCTGAATTTTCTGGGGGGGGCCCCT ACCTGTCCTGGCCAGAACTCTCAGTCTCCCACCTCGAATCACTCAC CAACCAGCTGTCCCCCCATCTGTCCTGGCTACAGGTGGATGTGCCT GAGGAGATTCATCATCTTCCTGTGCATCCTGCTGCTGTGCCTGATCT TTCTGCTGGTGCTGCTGGACTACCAGGGCATGCTGCCAGTGTGCCC TCTCATCCCAGGCAGCTCCACCACATCCACAGGACCTTGCAAGACA TGCACCACACCAGCCCAGGGCACCAGCATGTTCCCCTCCTGCTGTT GCACCAAGCCAACAGATGGCAACTGCACATGCATTCCCATCCCCTC CAGCTGGGCCTTTGCCAGGTTTCTGTGGGAGTGGGCCAGTGTGAGA TTTTCCTGGCTGTCTCTTCTGGTGCCCTTTGTGCAGTGGTTTGTGGG CCTGTCCCCTACAGTGTGGCTGAGTGTCATCTGGATGATGTGGTAC TGGGGCCCCTCCCTGTACAACATCCTCTCTCCCTTTCTGCCTCTGCT GCCAATCTTCTTTTGCCTGTGGGTGTACATC
34	B/C	Капсид-P2A-sAg	ATGGACATTGACCCCTACAAGGAGTTTGGGGCCAGTGTGGAGCTGC TGTCTTTTCTGCCATCTGACTTCTTCCCCAGTGTGAGGGACCTGCTG GACACTGCCTCAGCACTGTACAGAGAGGCCCTGGAGAGCCCAGAG CACTGCTCCCCCCACCACACAGCCCTGAGGCAGGCCATCCTCTGCT GGGGGGAGCTGATGAACCTGGCCACCTGGGTGGGCTCCAACCTGG AGGACCCTGCCTCAAGGGAGCTGGTGGTCAGCTATGTCAATGTGAA CATGGGCCTCAAGATCAGGCAGCTGCTGTGGTTCCACATCTCCTGC CTGACCTTTGGCAGGGAGACAGTCCTGGAGTACCTGGTGAGCTTTG GGGTGTGGATCAGGACCCCCCCTGCCTACAGGCCCCCCAATGCTCC CATCCTGTCCACCCTGCCAGAGACC
			ACTGTGGTCAGGAGAAGGGGCAGGTCCCCCAGGAGGAGAACCCCC TCTCCCAGGAGGAGGAGAAGCCAGTCCCCCAGGAGGAGGAGGAGC CAGAGCAGAGAGTCTCAGTGCGGCAGTGGGGCAACCAACTTCAGC CTCCTGAAACAGGCAGGGGATGTGGAGGAAAACCCAGGCCCCGAG AGCACCACATCAGGCTTCCTGGGCCCCCTGCTGGTGCTCCAGGCAG GCTTCTTTCTGCTGACCAGGATTCTGACCATCCCCCAGTCCCTGGAC AGCTGGTGGACCTCCCTGAATTTTCTGGGGGGGGCCCCTACCTGTC CTGGCCAGAACTCTCAGTCTCCCACCTCGAATCACTCACCAACCAG CTGTCCCCCCATCTGTCCTGGCTACAGGTGGATGTGCCTGAGGAGA TTCATCATCTTCCTGTGCATCCTGCTGCTGTGCCTGATCTTTCTGCTG GTGCTGCTGGACTACCAGGGCATGCTGCCAGTGTGCCCTCTCATCC CAGGCAGCTCCACCACATCCACAGGACCTTGCAAGACATGCACCAC

Таблица M - Полинуклеотиды, кодирующие иммуногенные полипептиды			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**название**	**Полинуклеотидная последовательность**
			ACCAGCCCAGGGCACCAGCATGTTCCCCTCCTGCTGTTGCACCAAG CCAACAGATGGCAACTGCACATGCATTCCCATCCCCTCCAGCTGGG CCTTTGCCAGGTTTCTGTGGGAGTGGGCCAGTGTGAGATTTTCCTG GCTGTCTCTTCTGGTGCCCTTTGTGCAGTGGTTTGTGGGCCTGTCCC CTACAGTGTGGCTGAGTGTCATCTGGATGATGTGGTACTGGGGCCC CTCCCTGTACAACATCCTCTCTCCCTTTCTGCCTCTGCTGCCAATCTT CTTTTGCCTGTGGGTGTACATC
35	D/D	Капсид-sAg	ATGGACATTGACCCCTACAAGGAGTTTGGGGCCAGTGTGGAGCTGC TCTCCTTCCTGCCCTCAGACTTCTTTCCCAGTGTGAGGGACCTGCTT GACACAGCCTCTGCCCTCTACAGAGAGGCCCTGGAGAGCCCAGAG CATTGCTCCCCCCACCACACAGCACTGAGGCAGGCCATCCTGTGCT GGGGGGAGCTCATGAACCTGGCCACCTGGGTGGGTGTCAACCTGG AGGACCCAGCTTCCAGGGATCTGGTGGTCAGCTATGTGAACACAAA CATGGGCCTCAAGTTCAGGCAGCTGCTCTGGTTCCACATCTCCTGC CTGACCTTTGGCAGGGAGACTGTGCTGGAGTACCTGGTGAGCTTTG GAGTGTGGATCAGGACCCCACCTGCCTACAGGCCCCCCAATGCCCC CATCCTGTCCACCCTGCCTGAGACCACAGTGGTGAGGAGGAGGGG GAGGTCCCCCAGAAGGAGGACCCCTTCTCCCAGGAGGAGGAGGAG TCAGTCTCCCAGGAGGAGGAGGAGCCAGAGCAGAGAGTCCCAGTG TATGGAGAACATCACCTCTGGCTTTCTGGGACCCCTGCTGGTGCTC CAGGCAGGCTTTTTCCTGCTGACCAGGATCCTGACCATCCCTCAGA GCCTGGACTCCTGGTGGACATCTCTGAATTTTCTTGGGGGCACCAC TGTGTGCCTGGGACAGAACTCCCAGTCTCCCCACCTCCAACCACAGC CCAACATCCTGTCCCCCCATCTGCCCAGGCTACAGGTGGATGTGCC TGAGGAGGTTCATCATCTTCCTGTTCATCCTGCTGCTGTGCCTGATC TTTCTGCTGGTGCTCCTGGACTATCAGGGCATGCTGCCAGTGTGCCC ACTGATCCCAGGCAGCTCCACCACAAGCACAGGACCTTGCAGGAC ATGCACCACACCTGCCCAGGGCACTTCCATGTACCCATCTTGCTGTT GCACCAAGCCATCTGATGGCAATTGCACCTGCATCCCCATCCCCTC AAGCTGGGCCTTTGGCAAGTTCCTGTGGGAGTGGGCAAGTGCCAGA TTCTCTTGGCTGAGCCTGCTGGTCCCTTTTGTGCAGTGGTTTGTGGG CCTGAGCCCCACTGTGTGGCTGTCTGTGATCTGGATGATGTGGTAC TGGGGCCCCTCCCTGTATTCAATCCTGAGCCCTTTTCTGCCACTGCT GCCCATCTTCTTTTGTCTGTGGGTGTACATC
36	D/D	Капсид-P2A-sAg	ATGGACATTGACCCCTACAAGGAGTTTGGGGCCAGTGTGGAGCTGC TCTCCTTCCTGCCCTCAGACTTCTTTCCCAGTGTGAGGGACCTGCTT GACACAGCCTCTGCCCTCTACAGAGAGGCCCTGGAGAGCCCAGAG CATTGCTCCCCCCACCACACAGCACTGAGGCAGGCCATCCTGTGCT GGGGGGAGCTCATGAACCTGGCCACCTGGGTGGGTGTCAACCTGG AGGACCCAGCTTCCAGGGATCTGGTGGTCAGCTATGTGAACACAAA CATGGGCCTCAAGTTCAGGCAGCTGCTCTGGTTCCACATCTCCTGC CTGACCTTTGGCAGGGAGACTGTGCTGGAGTACCTGGTGAGCTTTG GAGTGTGGATCAGGACCCCACCTGCCTACAGGCCCCCCAATGCCCC CATCCTGTCCACCCTGCCTGAGACCACAGTGGTGAGGAGGAGGGG GAGGTCCCCCAGAAGGAGGACCCCTTCTCCCAGGAGGAGGAGGAG TCAGTCTCCCAGGAGGAGGAGGAGCCAGAGCAGAGAGTCCCAGTG TGGCAGTGGGGCAACCAACTTCAGCCTCCTGAAACAGGCAGGGGA TGTGGAGGAAAACCCAGGCCCCGAGAACATCACCTCTGGCTTTCTG GGACCCCTGCTGGTGCTCCAGGCAGGCTTTTTCCTGCTGACCAGGA TCCTGACCATCCCTCAGAGCCTGGACTCCTGGTGGACATCTCTGAA TTTTCTTGGGGGCACCACTGTGTGCCTGGGACAGAACTCCCAGTCT CCCACCTCCAACCACAGCCCAACATCCTGTCCCCCCATCTGCCCAG GCTACAGGTGGATGTGCCTGAGGAGGTTCATCATCTTCCTGTTCAT CCTGCTGCTGTGCCTGATCTTTCTGCTGGTGCTCCTGGACTATCAGG GCATGCTGCCAGTGTGCCCACTGATCCCAGGCAGCTCCACCACAAG CACAGGACCTTGCAGGACATGCACCACACCTGCCCAGGGCACTTCC ATGTACCCATCTTGCTGTTGCACCAAGCCATCTGATGGCAATTGCA

Таблица M - Полинуклеотиды, кодирующие иммуногенные полипептиды			
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**название**	**Полинуклеотидная последовательность**
			CCTGCATCCCCATCCCCTCAAGCTGGGCCTTTGGCAAGTTCCTGTGG GAGTGGGCAAGTGCCAGATTCTCTTGGCTGAGCCTGCTGGTCCCTT TTGTGCAGTGGTTTGTGGGCCTGAGCCCCACTGTGTGGCTGTCTGTG ATCTGGATGATGTGGTACTGGGGCCCCTCCCTGTATTCAATCCTGA GCCCTTTTCTGCCACTGCTGCCCATCTTCTTTTGTCTGTGGGTGTAC ATC
37	D/D	iCore-P2A-sAg	ATGGACATTGACCCCTACAAGGAGTTTGGGGCCAGTGTGGAGCTGC TGTCTTTTCTGCCATCTGACTTCTTCCCCAGTGTGAGGGACCTGCTG GACACTGCCTCAGCACTGTACAGAGAGGCCCTGGAGAGCCCAGAG CACTGCTCCCCCCACCACACAGCCCTGAGGCAGGCCATCCTCTGCT GGGGGGAGCTGATGAACCTGGCCACCTGGGTGGGCGTCAACCTGG AGGACCCTGCCTCAAGGGACCTGGTGGTCAGCTATGTCAATACGAA CATGGGCCTCAAGTTCAGGCAGCTGCTGTGGTTCCACATCTCCTGC CTGACCTTTGGCAGGGAGACAGTCCTGGAGTACCTGGTGAGCTTTG GGGTGTGGATCAGGACCCCCCCTGCCTACAGGCCCCCCAATGCTCC CATCCTGTCCACCCTGCCAGAGACCACTGTGGTCAGGAGAAGGGGC AGGTCCCCCAGGAGGAGAACCCCCTCTCCCAGGAGGAGGAGAAGC CAGTCCCCCAGGAGGAGGAGGAGCCAGAGCAGAGAGTCTCAGTGC GGCAGTGGGGCAACCAACTTCAGCCTCCTGAAACAGGCAGGGGAT GTGGAGGAAAACCCAGGCCCCGAGAACATCACATCAGGCTTCCTG GGCCCCCTGCTGGTGCTCCAGGCAGGCTTCTTTCTGCTGACCAGGA TTCTGACCATCCCCCAGTCCCTGGACAGCTGGTGGACCTCCCTGAA TTTTCTGGGGGGGACCACTGTCTGTCTTGGCCAGAACTCTCAGTCTC CCACCTCGAATCACTCACCAACCAG
			CTGTCCCCCCATCTGTCCTGGCTACAGGTGGATGTGCCTGAGGAGA TTCATCATCTTCCTGTTCATCCTGCTGCTGTGCCTGATCTTTCTGCTG GTGCTGCTGGACTACCAGGGCATGCTGCCAGTGTGCCCTCTCATCC CAGGCAGCTCCACCACATCCACAGGACCTTGCAGGACATGCACCAC ACCAGCCCAGGGCACCAGCATGTACCCCTCCTGCTGTTGCACCAAG CCATCAGATGGCAACTGCACATGCATTCCCATCCCCTCCAGCTGGG CCTTTGGCAAGTTTCTGTGGGAGTGGGCCAGTGCGAGATTTTCCTG GCTGTCTCTTCTGGTGCCCTTTGTGCAGTGGTTTGTGGGCCTGTCCC CTACAGTGTGGCTGAGTGTCATCTGGATGATGTGGTACTGGGGCCC CTCCCTGTACAGCATCCTCTCTCCCTTTCTGCCTCTGCTGCCAATCTT CTTTTGCCTGTGGGTGTACATC

4. Векторы и клетки-хозяева

[0123] Дополнительно предложены векторы, содержащие один или более полинуклеотидов, кодирующих один или более иммуногенных полипептидов, описанных в настоящем документе, или экспрессионную кассету, содержащую такие полинуклеотиды. Вектор может быть любого типа, например, рекомбинантный вектор, такой как экспрессионный вектор. Векторы включают, без ограничения, плазмиды, космиды, бактериальные искусственные хромосомы (BAC) и дрожжевые искусственные хромосомы (YAC), а также векторы, полученные из бактериофагов или вирусов растений или животных (включая человека). Векторы могут содержать точку начала репликации, распознаваемую предполагаемой клеткой-хозяином, а в случае экспрессионных векторов, промотор и другие регуляторные области, распознаваемые клеткой-хозяином. В дополнительных вариантах осуществления вектор содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих один или более иммуногенных полипептидов по настоящему изобретению, функционально связанных с промотором и, необязательно, дополнительными регуляторными элементами. Некоторые векторы способны к

автономной репликации в хозяине, в которого они введены (например, векторы, имеющие бактериальную точку начала репликации, могут реплицироваться в бактериях). Другие векторы могут быть интегрированы в геном хозяина при введении в хозяина и, таким образом, реплицироваться вместе с геномом хозяина. Векторы включают, без ограничения, векторы, подходящие для рекомбинантного продуцирования описанных в данном документе иммуногенных полипептидов.

[0124] В контексте данного документа термин «вектор» относится к молекуле нуклеиновой кислоты, способной обеспечивать репродукцию другой нуклеиновой кислоты, связанной с ней. Термин включает вектор как самореплицирующуюся структуру нуклеиновой кислоты, а также вектор, который включен в геном клетки-хозяина, в которую он был введен. Некоторые векторы подходят для доставки молекулы нуклеиновой кислоты или полинуклеотида по настоящей заявке. Некоторые векторы способны направлять экспрессию нуклеиновых кислот, с которыми они функционально связаны. Такие векторы в данном документе называют «экспрессионными векторами».

[0125] Термин «функционально связанный» относится к двум или более последовательностям нуклеиновой кислоты или элементам полипептидных последовательностей, которые обычно физически связаны и находятся в функциональной взаимосвязи друг с другом. Например, в контексте элементов последовательности нуклеиновой кислоты, промотор функционально связан с кодирующей последовательностью, если промотор способен инициировать или регулировать транскрипцию или экспрессию кодирующей последовательности, и в этом случае кодирующую последовательность следует понимать как находящуюся «под контролем» промотора.

[0126] Выбор вектора зависит от применяемых рекомбинантных процедур и используемого хозяина. Введение векторов в клетки-хозяева можно осуществлять путем среди прочего, трансфекции фосфата кальция, DEAE-декстран-опосредованной трансфекции, трансфекции липофектамина, электропорации, вирусной инфекции или введения субъекту, как описано в настоящем документе. Векторы могут реплицироваться автономно или могут реплицироваться вместе с хромосомой, в которую они были интегрированы. В определенных вариантах осуществления векторы содержат один или более селективных маркеров. Выбор маркеров может зависеть от выбранных клеток-хозяев. К ним относятся, помимо прочего, ген устойчивости к канамицину, неомицину, пуромицину, гигромицину, зеоцину, ген тимидинкиназы вируса простого герпеса (HSV-TK) и ген дигидрофолатредуктазы мыши (dhfr). Векторы, содержащие одну или более молекул нуклеиновых кислот, кодирующих иммуногенные полипептиды, описанные в настоящем документе, функционально связанные с одной или более молекулами нуклеиновых кислот, кодирующих белки или пептиды, которые могут применяться для выделения иммуногенных полипептидов, также охватываются настоящим изобретением. Эти белки или пептиды включают, без ограничения, глутатион-S-трансферазу, белок, связывающий мальтозу, металл-связывающий полигистидин, зеленый флуоресцентный белок, люциферазу и бета-галактозидазу.

[0127] В других вариантах осуществления используется вектор pcDNA™ 3.1+ (ThermoFisher, штат Массачусетс).

[0128] В некоторых вариантах осуществления вектор представляет собой вирусный вектор. В соответствующих случаях вирусный вектор может представлять собой ДНК-вирус или РНК-вирус, включая самореплицирующийся РНК-вирус. Самореплицирующиеся РНК-вирусы включают альфавирусы и описаны, например, в Lundstrom, *Molecules*. (2018) 23(12). pii: E3310 (PMID: 30551668); и Ljungberg, *et al., Expert Rev Vaccines*. (2015) 14(2):177-94). В различных вариантах осуществления вирусный вектор получен из вируса, выбранного из группы, состоящей из аденовируса, аденоассоциированного вируса, аренавируса, альфавируса, самореплицирующегося альфавируса, поксвируса, цитомегаловируса, рабдовируса, вируса везикулярного стоматита, флавивируса, вируса Мараба и вируса осповакцины. В некоторых вариантах осуществления вирусный вектор получают из семейства вирусов, выбранного из группы, состоящей из следующего: Аденовирусы (например, аденовирусы, аденоассоциированный вирус), аренавирусы (например, маммаренавирус лимфоцитарного хориоменингита, маммаренавирус Кали (также известный как маммаренавирус Пичинде (PICV)), поксвирусы (например, вирус осповакцины), вирусы герпеса (например, цитомегаловирус, вирус герпеса, например, HSV-1), парвовирусы (например, парвовирус H1), поксвирусы (например, вирус осповакцины, например, модифицированный вирус осповакцины Анкара (MVA), флавивирусы (например, вирус желтой лихорадки), реовирусы (например, реовирус), ретровирусы (например, лентивирус), пикорнавирусы (например, вирус Коксаки, вирус долины Сенека, полиовирус), парамиксовирусы (например, вирус кори, вирус болезни Ньюкасла (NDV)), рабдовирусы (например, везикуловирус, включая везикуловирус Мараба и вирус везикулярного стоматита (VSV), тогавирусы (например, альфавирус, например, самореплицирующийся альфавирус; вирус Синдбис), энтеровирусы (например, эховирус). Иллюстративные модифицированные векторы вируса осповакцины, применяемые для экспрессии настоящих иммуногенных полипептидов, описаны, например, в WO 2019/134049.

[0129] В некоторых вариантах осуществления вирусный экспрессионный вектор представляет собой аренавирусный вектор, выбранный из маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) (NCBI:txid11623), маммаренавируса Кали (также известного как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде) (NCBI:txid2169993), вируса Гуанарито (GTOV) (NCBI:txid45219), аргентинского маммаренавируса (также известного как вирус Хунин (JUNV)) (NCBI:xid2169991), вируса Ласса (LASV) (NCBI:xid11620), вируса Луйо (LUJV) (NCBI:txid649188), вируса Мачупо (MACV) (NCBI:xid11628), бразильского маммаренавируса (также известного как вирус Сабиа (SABV)) (NCBI:xid2169992) и вируса Уайтуотера Арройо (WWAV) (NCBI:xid46919). В некоторых вариантах осуществления вирусный экспрессионный вектор представляет собой аренавирусный вектор, выбранный из маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) или маммаренавируса Кали (LCMV) (также известного как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)). Иллюстративные аренавирусные векторы, которые можно применять в качестве доставки и экспрессионных несущих сред для описанных в настоящем документе иммуногенных полипептидов, описаны, например, в WO 2009/083210; WO 2015/183895; WO 2016/075250; WO 2017/198726; и в патентах США № 9 943 585 и 10 342 861, которые включены в настоящий документ посредством ссылки в полном объеме для всех целей.

[0130] В некоторых вариантах осуществления вирусный экспрессионный вектор представляет собой вектор аденовируса, например, аденовируса человека или аденовируса обезьян (например, аденовируса шимпанзе, аденовируса гориллы или аденовируса резус-макака). В различных вариантах осуществления вектор аденовируса выбран из аденовируса серотипа 5 (Ad5), аденовируса серотипа 26 (Ad26), аденовируса серотипа 34 (Ad34), аденовируса серотипа 35 (Ad35), аденовируса серотипа 48 (Ad48), аденовируса шимпанзе (например, ChAdOx1, ChAdOx2, ChAd3 (AdC3), ChAd5 (AdC5), ChAd6 (AdC6), ChAd7 (AdC7), ChAd8 (AdC8), ChAd9 (AdC9), ChAd10 (AdC10), ChAd11 (AdC11), ChAd17 (AdC17), ChAd16 (AdC16), ChAd19 (AdC19), ChAd20 (AdC20), ChAd22 (AdC22), ChAd24 (AdC24), ChAdY25, ChAd26 (AdC26), ChAd28 (AdC28), ChAd30 (AdC30), ChAd31 (AdC31), ChAd37 (AdC37), ChAd38 (AdC38), ChAd43 (AdC43), ChAd44 (AdC44), ChAd55 (AdC55), ChAd63 (AdC63), ChAdV63, ChAd68 (AdC68), ChAd73 (AdC73), ChAd82 (AdC82), ChAd83 (AdC83), ChAd143 (AdC143), ChAd144 (AdC144), ChAd145 (AdC145), ChAd147 (AdC147)), аденовируса гориллы (например, GC44, GC45, GC46) и аденовируса резус-макака (например, RhAd51, RhAd52, RhAd53, RhAd54, RhAd55, RhAd56, RhAd57, RhAd58, RhAd59, RhAd60, RhAd61, RhAd62, RhAd63, RhAd64, RhAd65, RhAd66). Иллюстративные векторы аденовируса шимпанзе, гориллы и резус-макака, которые можно применять в качестве доставки и экспрессионных несущих сред для описанных в настоящем документе иммуногенных полипептидов, описаны, например, в WO2012/172277 (ChAdOx1), WO2017/221031 (ChAdOx2), WO2019/076880; WO2019/076877; Andrabi *et al.,* (2019) *Cell Reports* 27:2426–2441Guo, *et al*., *Hum Vaccin Immunother*. (2018) 14(7):1679-1685; Abbink, *et al*., *J Virol*. (2015) 89(3):1512-22; и Abbink, *et al*., *J Virol*. (2018) 92(6). pii: e01924-17.

[0131] В различных вариантах осуществления вирусный экспрессионный вектор не способен к репликации (т. е. является репликационно-дефектным или репликационно-дефицитным), имеет уменьшенную или ограниченную пропускную способность к репликации, например, по сравнению с вирусным вектором дикого типа (т. е репликационно-аттенуированным) или является репликационно-компетентным. В различных вариантах осуществления вирусный экспрессионный вектор представляет собой репликационно-дефектный или репликационно-дефицитный вектор аренавируса, имеющий геном из двух сегментов, например, как описано в WO 2009/083210 и WO 2017/076988. В различных вариантах осуществления вирусный экспрессионный вектор представляет собой репликационно-аттенуированный вектор аренавируса, имеющий из двух сегментов геном из трех сегментов, например, как описано в WO 2016/075250, WO 2017/076988 и WO 2017/198726.

[0132] Дополнительно предложены клетки-хозяева, содержащие один или более полинуклеотидов, кодирующих один или более иммуногенных полипептидов или один или более векторов, экспрессирующих иммуногенные полипептиды, как описано в настоящем документе. Можно использовать любые из множества клеток-хозяев. В одном варианте осуществления клетка-хозяин представляет собой прокариотическую клетку, например, *E. coli.* В еще одном варианте осуществления клетка-хозяин представляет собой эукариотическую клетку, например, дрожжевую клетку, растительную клетку, клетку насекомых, клетку млекопитающих, такую как клеточная линия на основе яичника китайского хомячка (CHO) или линия клеток происхождения CHO (например, CHO-S, CHO DG44, ExpiCHO™, ZFN-модифицированная линия клеток GS-/-CHO CHOZN®, CHO-K1, CHO-K1a), клетки COS, клетки BHK, клетки NSO или клетки меланомы Bowes. Примерами

клеток-хозяев человека являются, среди прочего, HeLa, 911, AT1080, A549 и HEK293 (например, HEK293E, HEK293F, HEK293H, HEK293T, Expi293™). Кроме того, иммуногенные полипептиды могут экспрессироваться в дрожжевых клетках, таких как *Pichia* (см., например, Powers *et al.*, *J Immunol Methods*. 251:123-35 (2001)), *Hanseula*, или *Saccharomyces*.

[0133] Термины «клетка-хозяин», «линия клеток-хозяев» и «культура клеток-хозяев» используются как взаимозаменяемые и относятся к клеткам, в которые введена экзогенная нуклеиновая кислота, включая потомство таких клеток. Клетки-хозяева включают «трансформанты» и «трансформированные клетки», которые включают первично трансформированные клетки и полученное от них потомство вне зависимости от числа пассажей. Потомство может не быть полностью идентичным исходной клетке по содержанию нуклеиновых кислот, и может содержать мутации. В настоящий документ включено мутантное потомство, которое обладает такой же функцией или биологической активностью, которая является предметом исследований или отбора в изначально трансформированной клетке.

[0134] При необходимости, клетки-хозяева можно стабильно или временно трансфицировать одним или более полинуклеотидом, кодирующим один или более иммуногенных полипептидов, как описано в настоящем документе. В соответствующих случаях клетки-хозяева могут быть инфицированы одним или более векторами, экспрессирующими один или более иммуногенных полипептидов, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления клетки-хозяева способны быть инфицированы и размножены одним или более репликационно-аттенуированными или репликационно-компетентным векторами, экспрессирующими один или более иммуногенных полипептидов, как описано в настоящем документе. Иллюстративные клетки, пригодные для инфицирования и/или распространения вирусных векторов, включают, без ограничения, клетки BHK-21, A549, Vero и HEK293 (например, HEK293E, HEK293F, HEK293H, HEK293T, Expi293™). В определенных вариантах осуществления клетки-хозяева экспрессируют вирус Коксаки и аденовирусный рецептор (CAR), например, клетки-хозяева MDCK, Caco-2 или Calu-3. В определенных вариантах осуществления полинуклеотиды интегрируются в геном клетки-хозяина.

5. Фармацевтические композиции/иммуногенные композиции

[0135] Предложены фармацевтические композиции или иммуногенные композиции, содержащие один или более иммуногенных полипептидов ВГВ, как описано в настоящем документе, или полинуклеотид, кодирующий один или более иммуногенных полипептидов ВГВ, как описано в настоящем документе, или вирусный экспрессионный вектор, содержащий один или более таких полинуклеотидов, и фармацевтически приемлемый разбавитель, носитель или эксципиент. «Фармацевтически приемлемый эксципиент» включает, без ограничения, любой адъювант, носитель, эксципиент, глидант, подсластитель, разбавитель, консервант, краситель/красящее вещество, энхансер ароматизатора, поверхностно-активное вещество, смачивающий агент, диспергирующее средство, суспендирующий агент, стабилизатор, изотонический агент, растворитель или эмульгатор, который был одобрен Управлением по надзору за качеством продуктов питания и медикаментов США в качестве приемлемого для применения у людей или домашних животных.

[0136] Как правило, фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, являются иммуногенными. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержит терапевтически эффективное количество одного или более (например, двух или более, трех или более) иммуногенных полипептидов ВГВ или один или более (например, два или более, три или более) полинуклеотидыов, кодирующих один или более (например, два или более, три или более) иммуногенных полипептидов ВГВ или один или более (например, два или более, три или более) вирусных экспрессионных векторов, содержащие один или более (например, два или более, три или более) полинуклеотидов, кодирующих один или более иммуногенных полипептидов ВГВ.

[0137] Различные фармацевтически приемлемые разбавители, носители и эксципиенты, а также способы приготовления и применения фармацевтических композиций будут известны специалистам в данной области техники в свете настоящего изобретения. Иллюстративные фармацевтические композиции и фармацевтически приемлемые разбавители, носители и эксципиенты также описаны, например, в Loyd V. Allen Jr (Editor), "Remington: The Science and Practice of Pharmacy," 22nd Edition, 2012, Pharmaceutical Press; Brunton, Knollman and Hilal-Dandan, "Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics," 13th Edition, 2017, McGraw-Hill Education / Medical; McNally and Hastedt (Editors), "Protein Formulation and Delivery, 2nd Edition, 2007, CRC Press; Banga, "Therapeutic Peptides and Proteins: Formulation, Processing, and Delivery Systems," 3rd Edition, 2015, CRC Press; Lars Hovgaard, Frokjaer and van de Weert (Editors), "Pharmaceutical Formulation Development of Peptides and Proteins," 2nd Edition, 2012, CRC Press; Carpenter and Manning (Editors), "Rational Design of Stable Protein Formulations: Theory and Practice," 2002, Springer (Pharmaceutical Biotechnology (Book 13)); Meyer (Editor), "Therapeutic Protein Drug Products: Practical Approaches to Formulation in the Laboratory, Manufacturing, and the Clinic, 2012, Woodhead Publishing.

[0138] В определенных вариантах осуществления полинуклеотиды или векторы составлены в липидные наночастицы. Например, в некоторых вариантах осуществления, в которых иммуногенные полипептиды ВГВ экспрессируются из самореплицирующихся или самоамплифицирующихся молекул РНК, самореплицирующаяся или самоамплифицирующаяся РНК может быть составлена в липидные наночастицы (LNP). Используемый в настоящем документе термин «липидная наночастица» относится к одной или более сферическим наночастицам со средним диаметром от около 10 до около 1000 нанометров, которые содержат матрицу твердого липидного ядра, которая может солюбилизировать липофильные молекулы. В некоторых вариантах осуществления липидное ядро стабилизировано поверхностно-активными веществами (например, эмульгаторами) и может содержать один или более из триглицеридов (например, тристеарина), диглицеридов (например, глицерин бахената), моноглицеридов (например, моностеарат глицерина), жирных кислот (например, стеариновой кислоты), стероидов (например, холестерина) и восков (например, цетилпальмитата), включая их комбинации. Липидные наночастицы описаны, например, в Petrilli et al., Curr Pharm Biotechnol. 15:847-55, 2014; и патентах США №№ 6,217,912; 6,881,421; 7,402,573; 7,404,969; 7,550,441; 7,727,969; 8,003,621; 8,691,750; 8,871,509; 9,017,726; 9,173,853; 9,220,779; 9,227,917; и 9,278,130, каждый из которых включен в настоящий документ в полном объеме посредством ссылки. В одном варианте осуществления самореплицирующаяся или самоамплифицирующаяся молекула РНК, кодирующая один или более иммуногенных полипептидов

ВГВ, описанных в настоящем документе, составлена или конденсируется в полиэтилениминовые (PEI)-полиплексные носители, например, как описано в Démoulins, *et al., Nanomedicine*. (2016) Apr;12(3):711-722 и Démoulins, *et al., J Control Release*. (2017) Nov 28;266:256-271, которые могут быть наночастицами.

[0139] В вариантах осуществления, в которых иммуногенные полипептиды ВГВ экспрессируются из вирусного экспрессионного вектора, вирусный экспрессионный вектор может быть составлен для требуемого пути введения, например, в виде изотопного фармацевтически приемлемого водного раствора или суспензии, подходящего для внутривенного, внутримышечного, подкожного или внутридермального введения. В некоторых вариантах осуществления вирусный экспрессионный вектор может быть составлен для мукозального, например, трансбуккального, интраназального, интравагинального или интраректального введения. Иллюстративные составы для вирусных экспрессионных векторов, которые можно применять в описанных в настоящем документе фармацевтических композициях и способах, описаны, например, в Manfredsson and Benskey, *editors*, "Viral Vectors for Gene Therapy: Methods and Protocols (Methods in Molecular Biology)," 2019, Book 1937 in Methods in Molecular Biology Series, Humana Press; WO 2017/013169 (состав векторов аденовируса в водной смеси или сублимационной высушенной композиции в присутствии аморфного сахара и низкой концентрации соли); и Kumru, *et al*., *J Pharm Sci*. (2018) Nov;107(11):2764-2774 (водные составы, буферизованные в трометамоле и содержащие пролин, лактозу и маннитол в качестве стабилизирующих добавок). Описан состав векторов аренавируса, например, в WO 2009/083210; WO 2016075250 и WO 2017/198726. В определенных вариантах осуществления вирусные экспрессионные векторы доставляются посредством доставки, опосредованной микроиглой, например, как описано в Zaric, *et al*., *Expert Opin Drug Deliv*. (2017) Oct;14(10):1177-1187.

[0140] В некоторых вариантах осуществления каждый носитель, разбавитель или эксципиент является «приемлемым» в том смысле, что он совместим с другими ингредиентами фармацевтической композиции и не причиняет вреда субъекту. Часто фармацевтически приемлемый носитель представляет собой водный pH-буферный раствор. Некоторые примеры материалов, которые могут служить фармацевтически приемлемыми носителями, разбавителями или эксципиентами, включают следующее: вода; буферы, например, буфер, имеющий pKa в диапазоне от около 6,0 до около 8,0, например, физиологически приемлемый буфер, например, выбранный из фосфата, карбоната, бикарбоната, цитрата, малеата, глицин-глицина, HEPES, HEPPSO, HEPPS, имидазола, BICINE, TRICINE, трометамола и BIS-трометамола; сахара, такие как лактоза, трегалоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлоза и ее производные, такие как карбоксиметилцеллюлоза натрия, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; порошкообразный трагакант; солод; желатин; тальк; эксципиенты, такие как масло какао и воски для суппозиториев; масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли, такие как пропиленгликоль; полиолы, такие как глицерин, сорбит, маннит и полиэтиленгликоль; сложные эфиры, такие как этилолеат и этиллаурат; агар; буферные агенты, такие как гидроксид магния и гидроксид алюминия; альгиновая кислота; апирогенная вода; изотонический солевой раствор; раствор Ханка, раствор Рингера; этиловый спирт; фосфатные буферные растворы; аминокислоты (например, заряженные

аминокислоты, включая, без ограничения, аспартат, аспарагин, глутамат, глутамин, гистидин, аргинин, лизин); и другие нетоксичные совместимые вещества, используемые в фармацевтических составах. В композициях также могут присутствовать увлажняющие агенты, эмульгаторы и смазывающие вещества, такие как лаурилсульфат натрия и стеарат магния, а также красители, антиадгезивные агенты, покрытия, подсластители, вкусовые добавки и ароматизаторы, консерванты и антиоксиданты.

[0141] В одном конкретном составе аренавирусный вектор (например, вектор LCMV или маммаренавируса Пичинде (PICV)), описанный в настоящем документе, составлен в изотоническом водном растворе, содержащем биологически совместимый буфер, имеющий pKa в диапазоне от около 6,0 до около 8,0 (например, HEPES и NaCl), при нейтральном или близком к нейтральному pH и неионогенном поверхностно-активном веществе (например, PLURONIC® F68 (также называемый, как полоксамер 188)). В одном конкретном составе аренавирусный вектор (например, вектор LCMV или маммаренавируса Пичинде), описанный в настоящем документе, содержится в изотоническом водном растворе, содержащем буфер HEPES при pH 7,4, NaCl и PLURONIC® F68 (также называемый, как полоксамер 188). Schleiss, *et al.* (*Clin Vaccine Immunol*. 2017 Jan 5;24(1):e00300-16) описывает LCMV, составленный из LCMV-векторов в разбавителе 25 мМ HEPES, 150 мМ NaCl, 0,01% PLURONIC® F68; pH 7,4), который можно применять для составления описанных в настоящем документе аренавирусных векторов. Перед замораживанием ниже –60 °C добавляли конечную концентрацию 10% сорбита.

[0142] Состав и способы доставки фармацевтических композиций, как правило, будут адаптированы в соответствии с местом и заболеванием, которое необходимо лечить. Примеры составов включают, без ограничения, те, которые подходят для парентерального введения, например, внутривенного, внутриартериального, внутримышечного или подкожного введения, включая составы, инкапсулированные в мицеллы, липосомы или капсулы с контролируемым высвобождением лекарственного средства (активные агенты, включенные в биосовместимое покрытие, предназначенное для медленного высвобождения); составы для приема внутрь; составы для местного применения, такие как кремы, мази и гели; и другие составы, такие как ингалянты, аэрозоли и спреи. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции составлены для парентерального, например, внутривенного, подкожного или перорального введения. В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции составлены для введения на слизистые оболочки, например, трансбуккального, интраназального, интраректального и/или интравагинального введения.

[0143] В определенных вариантах осуществления фармацевтические композиции стерильны. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция имеет pH в диапазоне от 4,5 до 8,5, от 4,5 до 6,5, от 6,5 до 8,5, от 6,0 до 8,0, от 6,5 до 8,5 или pH около 5,0, около 5,5, около 6,0, около 6,5, около 6,6, около 6,7, около 6,8, около 6,9, около 7,0, около 7,1, около 7,2, около 7,3, около 7,5, около 8,0 или около 8,5. В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция имеет осмолярность в диапазоне 240–260 или 250–330 мОсмоль/л. В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция является изотонической или почти изотонической.

[0144] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции представляют собой жидкости или твердые вещества. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция включает водный раствор или суспензию. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция лиофилизирована или представляет собой замороженную жидкость.

[0145] В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит один или более дополнительных терапевтических агентов, например, второй терапевтический агент или второй и третий терапевтические агенты, для применения в комбинированных терапиях, как описано в настоящем документе.

[0146] В определенных вариантах осуществления фармацевтическая композиция дополнительно содержит адъювант. Иллюстративные адъюванты, которые могут быть совместно приготовлены или вводиться совместно с описанными в настоящем документе иммуногенными полипептидами ВГВ, полинуклеотидами, кодирующими такие иммуногенные полипептиды ВГВ, и векторами, экспрессирующими такие иммуногенные полипептиды ВГВ, включают в себя без ограничения цитокины, хемокины, иммунные костимулирующие молекулы, агонисты Toll-подобных рецепторов или ингибиторы иммунных супрессивных путей, как описано в настоящем документе, и в Li, *et al*., *Curr Issues Mol Biol*. (2017) 22:17-40. Другие адъюванты, которые могут быть совместно приготовлены или вводиться совместно с описанными в настоящем документе иммуногенными полипептидами ВГВ, полинуклеотиды, кодирующие такие иммуногенные полипептиды ВГВ и векторы, экспрессирующие такие иммуногенные полипептиды ВГВ, включают, без ограничения, минеральные соли (например, алюминиевые соли (например, алюминиевые квасцы), фосфат кальция, неполный адъювант Фрейнда), липидные частицы (например, MF59, кохлеаты, вирусоподобные частицы), микрочастицы (например, вирозомы, полимолочную кислоту (PLA), поли[лактид-когликолид] (PLG)), иммуностимуляторы (например, dsRNA:Poly(I:C), Poly-IC:LC, монофосфориллипид A (MPL), ЛПС, фллагеллин, имидазохинолины: имиквимод (R837), резиквимод (848), олигодезоксинуклеотиды CpG (ODN), мурамил-дипептид (MDP), сапонины (QS-21) и мукозные адъюванты (например, холерный токсин (CT), термолабильный энтеротоксин (LTK3 и LTR72), хитозан). Адъюванты, которые могут быть совместно составлены или вводиться совместно с описанными в настоящем документе иммуногенными полипептидами ВГВ, полинуклеотиды, кодирующие такие иммуногенные полипептиды ВГВ и векторы, экспрессирующие такие иммуногенные полипептиды ВГВ, обобщены в Apostólico, *et al*., *J Immunol Res*. (2016) 2016:1459394.

[0147] В некоторых вариантах осуществления фармацевтические композиции или иммуногенные композиции содержат смеси двух или более иммуногенных полипептидов ВГВ, два или более полинуклеотидов, кодирующих такие иммуногенные полипептиды ВГВ, или два или более векторов, экспрессирующих такие иммуногенные полипептиды ВГВ. В некоторых вариантах осуществления фармацевтическая композиция содержат два или более иммуногенных полипептидов ВГВ, два или более полинуклеотидов, кодирующих такие иммуногенные полипептиды ВГВ, или два или более векторов, экспрессирующих такие иммуногенные полипептиды ВГВ.

[0148] В различных вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих, или один или более векторов, способных экспрессировать два иммуногенных полипептида, причем иммуногенные полипептиды содержат: (a) мутантный

полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 5–14 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 5–14; и (b) слитый белок капсид-sAg ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 38–41.

[0149] В различных вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих, или один или более векторов, способных экспрессировать два иммуногенных полипептида, причем иммуногенные полипептиды содержат: (a) мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 13–14 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 13–14; и (b) слитый белок капсид-sAg ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 38–41.

[0150] В различных вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих, или один или более векторов, способных экспрессировать два иммуногенных полипептида, причем иммуногенные полипептиды содержат: (a) мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 13; и (b) слитый белок капсид-sAg ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 41.

[0151] Что касается слитого полипептида капсид-sAg в иммуногенной композиции, в некоторых вариантах осуществления капсидный полипептид содержит остаток серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, и остаток аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg содержит остаток изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 53, остатка изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 125, остатка пролина (P) в аминокислотном положении,

соответствующем положению 127, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 161, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 200, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 210, и остатка лейцина (L) в аминокислотном положении, соответствующем положению 213, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления слитый полипептид капсид-sAg содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, остатка аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, остатка валина (V) в аминокислотном положении, соответствующем положению 74, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 97, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 249, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 250, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 317, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 318, остатка аргинина (R) в аминокислотном положении, соответствующем положению 326, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 338, остатка глицина (G) в аминокислотном положении, соответствующем положению 363, и остатка аланина (A) в аминокислотном положении, соответствующем положению 372, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:41.

[0152] В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 27–32 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 и 92 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 27–32 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 и 92; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 33–37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 33–37.

[0153] В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 29 или 90 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 37.

[0154] Согласно некоторым вариантам осуществления иммуногенная композиция содержит первый экспрессионный вектор аренавируса LCMV и второй экспрессионный вектор аренавируса LCMV, причем: (a) первый экспрессионный вектор аренавируса LCMV содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 29 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 29; и (b) второй экспрессионный вектор аренавируса LCMV содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 37.

[0155] Согласно некоторым вариантам осуществления иммуногенная композиция содержит первый экспрессионный вектор аренавируса Пичинде и второй экспрессионный вектор аренавируса Пичинде, причем: (a) первый экспрессионный вектор аренавируса Пичинде содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 90 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 90; и (b) второй экспрессионный вектор аренавируса Пичинде содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 37.

[0156] При необходимости или при желании полипептид полимеразы ВГВ и слитый белок капсид-sAg ВГВ могут быть обеспечены в иммуногенной композиции в соотношении в диапазоне от 1:10 до 10:1, например, в диапазоне от 1:9 до 9:1, от 1:8 до 8:1, от 1:7 до 7:1, от 1:6 до 6:1, от 1:5 до 5:1, от 1:4 до 4:1, от 1:3 до 3:1, от 1:2 до 2:1 или 1:1. В различных вариантах осуществления соотношения можно измерить в бляшкообразующих единицах (БОЕ), фокус-образующих единицах (ФОЕ), инфекционных единицах (ИЕ) или вирусных частицах (ВЧ).

[0157] В различных вариантах осуществления один или более полинуклеотидов представляют собой ДНК, кДНК, мРНК или самореплицирующуюся РНК.

[0158] В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий усеченный полипептид полимеразы ВГВ или мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией, как описано в настоящем документе; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, как описано в настоящем документе. При необходимости или при желании первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор могут быть обеспечены в соотношении в диапазоне от 1:10 до 10:1, например, в диапазоне от 1:9 до 9:1, от 1:8 до 8:1, от 1:7 до 7:1, от 1:6 до 6:1, от 1:5 до 5:1, от 1:4 до 4:1, от 1:3 до 3:1, от 1:2 до 2:1 или 1:1.

[0159] В некоторых вариантах осуществления иммуногенная композиция содержит в диапазоне от около 10^3 до около 10^{12} вирусных фокус-образующих единиц (ФОЕ), или

бляшкообразующих единиц (БОЕ), или инфекционных единиц (ИЕ), или вирусных частиц (ВЧ), например, от около 10^4 до около 10^7 вирусных ФОЕ или БОЕ, например, от около 10^3 до около 10^4, 10^5, 10^6, 10^7, 10^8, 10^9, 10^{10}, 10^{11} или 10^{12} вирусных ФОЕ, или БОЕ, или ИЕ, или ВЧ на миллилитр, каждого из первого вирусного экспрессионного вектора и второго вирусного экспрессионного вектора.

[0160] В различных вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор иммуногенной композиции независимо происходят из таксономического семейства, выбранного из аденовирусов, аренавирусов, вирусов герпеса (например, цитомегаловирус), поксвирусов (например, вирус осповакцины, например, модифицированный вирус осповакцины Анкара (MVA), флавивирусов (например, вирус желтой лихорадки), рабдовирусов (например, везикуловирус, например, везикуловирус Мараба), тогавирусов (например, альфавирус). В различных вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор могут происходить из того же таксономического семейства или различных таксономических семейств. Например, в некоторых вариантах осуществления как первый вирусный экспрессионный вектор, так и второй вирусный экспрессионный вектор в иммуногенной композиции происходят из семейства аденовирусов, аренавирусов или поксвирусов (например, вирус осповакцины, например, модифицированный вирус осповакцины Анкара (MVA)).

[0161] В некоторых вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор в иммуногенной композиции происходят из аренавирусов. В некоторых вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор происходят из вектора аренавируса, выбранного из маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), маммаренавируса Кали (также известного как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)), вируса Гуанарито (GTOV), вируса Хунин (JUNV), вируса Ласса (LASV), вируса Луйо (LUJV), вируса Мачупо (MACV), вируса Сабиа (SABV) и вируса Уайтуотера Арройо (WWAV). В некоторых вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор происходят из вектора аренавируса, выбранного из маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) или маммаренавируса Кали (LCMV) (также известного как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)).

[0162] В различных вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор иммуногенной композиции являются репликационно-дефектными или репликационно-дефицитными. В некоторых вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор в иммуногенной композиции являются репликационно-аттенуированными.

6. Способы лечения

[0163] Дополнительно предложены способы вызывания иммуного ответа на вирус гепатита В человека (ВГВ) у субъекта, нуждающегося в этом. Также предложены способы лечения или профилактики вируса гепатита В человека (ВГВ) у субъекта, нуждающегося в этом. Также предложены способы ингибирования репликации ВГВ у инфицированного индивидуума.

Дополнительно предложены способы снижения вирусной нагрузки, связанной с инфекцией ВГВ. В различных вариантах осуществления способы включают введение субъекту эффективного количества иммуногенной композиции, как описано в настоящем документе. В различных вариантах осуществления «субъект» или «индивидуум» представляет собой человека, сурка, пекинскую утку, мышь или отличного от человека примата (например, шимпанзе).

[0164] Используемый в настоящем документе термин «лечение» или «лечить» относится к подходу для получения полезных или требуемых результатов. Для целей настоящего описания полезные или требуемые результаты включают, без ограничений, облегчение симптома и/или уменьшение степени симптома, отсрочку прогрессирования и/или предотвращение ухудшения симптома, связанного с заболеванием или состоянием. Термин «лечение» может включать одно или более из следующего: a) ингибирование заболевания или состояния (например, ослабление одного или более симптомов, появляющихся в результате заболевания или состояния, и/или уменьшение степени заболевания или состояния); b) замедление или остановка развития одного или более симптомов, связанных с заболеванием или состоянием (например, стабилизация заболевания или состояния, задержка ухудшения или прогрессирования заболевания или состояния); и c) облегчение заболевания или состояния, например, вызов регрессии клинических симптомов, облегчение болезненного состояния, задержка прогрессирования заболевания, повышение качества жизни и/или продление выживаемости.

[0165] Используемый в настоящем документе термин «задержка» относится к развитию заболевания или состояния означает отсрочку, замедление, торможение, задержку, стабилизацию и/или откладывание развития заболевания или состояния. Эта задержка может быть различной продолжительности, в зависимости от анамнеза болезни и/или индивидуума, который подлежит лечению. Как очевидно для специалиста в данной области техники, достаточная или значительная задержка может, по сути, включать предотвращение, поскольку у индивидуума не развивается заболевание или состояние.

[0166] Используемые в настоящем документе термины «предотвращать» или «предотвращение» относятся к схеме, которая предупреждает манифестацию заболевания или нарушения, так что клинические симптомы заболевания не развиваются. Таким образом, «профилактика» относится к введению терапии (например, введение терапевтического вещества) субъекту до того, как у субъекта будут обнаружены признаки заболевания (например, введение терапевтической субстанции субъекту в отсутствие обнаруживаемого инфекционного агента (например, вируса) у субъекта). Субъект может представлять собой индивидуум с риском развития заболевания или нарушения, таким как индивидуум, у которого есть один или более факторов риска, которые, как известно, связаны с развитием или манифестацией заболевания или нарушения. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления термин «предотвращение инфекции ВГВ» относится к введению субъекту, у которого нет обнаруживаемой инфекции ВГВ, терапевтического вещества против ВГВ. Понятно, что субъектом профилактической терапии против ВГВ может быть индивидуум, подверженный риску заражения вирусом ВГВ. Также понятно, что профилактика не требует 100% показателя успешности. В некоторых случаях профилактика может подразумевать снижение риска инфекции, но не полное устранение возникновения инфекции.

[0167] Термин «терапевтически эффективное количество» или «эффективное количество» в настоящем документе относится к количеству, которое является эффективным для выявления требуемого биологического или медицинского ответа, включая количество иммуногенной композиции, которая при введении субъекту для лечения заболевания является достаточным для выполнения такого лечения заболевания. Эффективное количество будет варьироваться в зависимости от иммуногенной композиции, заболевания и его тяжести, возраста, массы и т. д. субъекта, подлежащего лечению. Эффективное количество может включать диапазон количеств. Эффективное количество может находиться в одной или более дозах, т. е. для достижения требуемой конечной точки лечения может потребоваться однократная доза или несколько доз. Эффективное количество можно рассматривать в контексте введения одного или более терапевтических агентов, и можно считать, что один агент можно считать данным в эффективном количестве, если в сочетании с одним или более другими агентами может быть достигнут или достигнут желательный или благоприятный результат. Подходящие дозы любых совместно вводимых соединений могут быть необязательно снижены из-за комбинированного действия (например, аддитивных или синергических эффектов) соединений.

[0168] В различных вариантах осуществления вводимая иммуногенная композиция содержит смесь, содержащую первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий усеченный полипептид полимеразы ВГВ, как описано в настоящем документе, или мутантный полипептид полимеразы ВГВ с делецией, как описано в настоящем документе; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, как описано в настоящем документе.

[0169] В различных вариантах осуществления вводимая иммуногенная композиция содержит смесь, содержащую первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 5–14 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 5–14; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 38–41. Такая иммуногенная композиция может быть введена в примирующую композицию и/или в стимулирующую композицию.

[0170] В различных вариантах осуществления вводимая иммуногенная композиция содержит первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 13–14 или последовательности, которая по меньшей мере

на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 13–14; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 38–41. Такая иммуногенная композиция может быть введена в примирующей композиции и/или в усиливающей композиции.

[0171] Что касается слитого полипептида капсид-sAg во вводимой иммуногенной композиции, в некоторых вариантах осуществления капсидный полипептид содержит остаток серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, и остаток аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg содержит остаток изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 53, остатка изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 125, остатка пролина (P) в аминокислотном положении, соответствующем положению 127, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 161, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 200, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 210, и остатка лейцина (L) в аминокислотном положении, соответствующем положению 213, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления слитный полипептид капсид-sAg содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, остатка аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, остатка валина (V) в аминокислотном положении, соответствующем положению 74, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 97, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 249, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 250, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 317, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 318, остатка аргинина (R) в аминокислотном положении, соответствующем положению 326, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 338, остатка глицина (G) в аминокислотном положении, соответствующем положению 363, и остатка аланина (A) в аминокислотном положении, соответствующем положению 372, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:41.

[0172] В различных вариантах осуществления вводимая иммуногенная композиция содержит смесь, содержащую первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий

из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 13; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 41. Такая иммуногенная композиция может быть введена в примирующую композицию и/или в стимулирующую композицию.

[0173] В различных вариантах осуществления вводимая иммуногенная композиция содержит смесь, содержащую первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из нуклеиновой последовательности любой из SEQ ID NO: 27–32 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 и 92 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 27–32 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 и 92; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 33–37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 33–37. Такая иммуногенная композиция может быть введена в примирующей композиции и/или в усиливающей композиции.

[0174] В различных вариантах осуществления вводимая иммуногенная композиция содержит смесь, содержащую первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из нуклеиновой последовательности SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 37. Такая иммуногенная композиция может быть введена в примирующей композиции и/или в усиливающей композиции.

[0175] В различных вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор вводимой иммуногенной композиции независимо происходят из таксономического семейства, выбранного из аденовирусов, аренавирусов, вирусов герпеса (например, цитомегаловирус), поксвирусов (например, вирус осповакцины, например, модифицированный вирус осповакцины Анкара (MVA), флавивирусы (например, вирус желтой лихорадки), рабдовирусы (например, везикуловирус, например, везикуловирус Мараба), тогавирусы (например, альфавирус), как описано выше и в настоящем документе. В различных вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор

могут быть из того же таксономического семейства или различных таксономических семейств. Например, в некоторых вариантах осуществления как первый вирусный экспрессионный вектор, так и второй вирусный экспрессионный вектор вводимой иммуногенной композиции происходят из семейства аденовирусов, аренавирусов или поксвирусов (например, вирус осповакцины, например, модифицированный вирус осповакцины Анкара (MVA)).

[0176] В некоторых вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор происходят из семейства аренавирусов. В некоторых вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор вводимой иммуногенной композиции происходят из вектора аренавируса, выбранного из маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), маммаренавируса Кали (также известного как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)), вируса Гуанарито (GTOV), вируса Хунин (JUNV), вируса Ласса (LASV), вируса Луйо (LUJV), вируса Мачупо (MACV), вируса Сабиа (SABV) и вируса Уайтуотера Арройо (WWAV). В некоторых вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор вводимой иммуногенной композиции происходят из вектора аренавируса, выбранного из маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) или маммаренавируса Кали (LCMV) (также известного как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)).

[0177] В различных вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор вводимой иммуногенной композиции являются репликационно-дефектными или репликационно-дефицитными. В некоторых вариантах осуществления первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор вводимой иммуногенной композиции являются репликационно-аттенуированными.

[0178] В различных вариантах осуществления вводимая иммуногенная композиция содержит смесь, содержащую первый экспрессионный вектор аренавируса LCMV и второй экспрессионный вектор аренавируса LCMV, причем: (a) первый экспрессионный вектор аренавируса LCMV содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из нуклеиновой последовательности SEQ ID NO: 29 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 29; и (b) второй экспрессионный вектор аренавируса LCMV содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 37. Такая иммуногенная композиция может быть введена в примирующей композиции и/или в усиливающей композиции.

[0179] В различных вариантах осуществления вводимая иммуногенная композиция содержит смесь, содержащую первый экспрессионный вектор аренавируса Пичинде и второй экспрессионный вектор аренавируса Пичинде, причем: (a) первый экспрессионный вектор аренавируса Пичинде содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из нуклеиновой последовательности SEQ ID NO: 90 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 90; и (b) второй экспрессионный вектор аренавируса Пичинде содержит

полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 37. Такая иммуногенная композиция может быть введена в примирующей композиции и/или в усиливающей композиции.

[0180] В различных вариантах осуществления субъект инфицирован ВГВ, предположительно инфицирован ВГВ или подвержен риску инфицирования ВГВ. В контексте данного документа термин «подверженный риску индивидуум» относится к индивидууму, который подвержен риску развития патологического состояния, подлежащего лечению. «Подверженный риску» индивидуум может иметь или не иметь выявляемое заболевание или состояние, и может иметь или не проявлять выявляемое заболевание до применения способов лечения, описанных в настоящем документе. «Подверженный риску» означает, что у человека есть один или более так называемых факторов риска, которые представляют собой измеряемые параметры, которые коррелируют с развитием заболевания или патологического состояния и известны в данной области техники. Индивидуум, имеющий один или более из этих факторов риска, имеет более высокую вероятность развития заболевания или состояния, чем индивидуум без этого(-их) фактора(-ов) риска. В различных вариантах осуществления субъект хронически инфицирован ВГВ, например, инфицирован ВГВ в течение более 6 месяцев. Как правило, индивидуум страдает хронической инфекцией гепатита В, хотя в пределах объема настоящего изобретения находится лечение людей, у которых наблюдается острое инфицирование ВГВ. Соответственно, в некоторых вариантах осуществления у субъекта наблюдается острое инфицирование ВГВ. В некоторых вариантах осуществления субъект одновременно инфицирован вирусом гепатита D (HDV).

[0181] В различных вариантах осуществления субъект может быть бессимптомным. В некоторых вариантах осуществления субъект испытывает или проявляет симптомы, связанные с инфекцией ВГВ. Симптомы ВГВ могут включать, например, желтуху, видимые сетки вздутых кровеносных сосудов, темно-окрашенную (например, в оранжевый или коричневый) мочу, обесцвеченный кал, повышенную температуру, непроходящую усталость, дискомфорт, боль в области живота, абдоминальную жидкость, потерю аппетита, тошноту и рвоту. Хроническая инфекция ВГВ может приводить к одному или более симптомам, включая, например, печеночную недостаточность, рак печени, фиброз печени и цирроз печени. Одно или более введений иммуногенных полипептидов, полинуклеотидов, кодирующих такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, могут предотвращать, задерживать, облегчать, уменьшать, подавлять, обращать или устранять один или более симптомов, связанных с инфекцией ВГВ или вызываемых инфекцией ВГВ.

[0182] В некоторых вариантах осуществления иммуногенную композицию вводят способом, выбранным из внутривенного, внутримышечного, внутридермального, подкожного и мукозального (например, трансбуккального, интраназального, интраректального, интравагинального).

[0183] В некоторых вариантах осуществления вводимая доза иммуногенной композиции содержит в диапазоне от около 10^3 до около 10^{12} вирусных фокус-образующих единиц (ФОЕ) или

бляшкообразующих единиц (БОЕ) или инфекционных единиц (ИЕ) или вирусных частиц (ВЧ), например, от около 10^4 до около 10^7 вирусных ФОЕ или БОЕ, например, от около 10^3 до около 10^4, 10^5, 10^6, 10^7, 10^8, 10^9, 10^{10}, 10^{11} или 10^{12} вирусных ФОЕ, или БОЕ, или ИЕ, или ВЧ на миллилитр, каждого из первого вирусного экспрессионного вектора и второго вирусного экспрессионного вектора. В некоторых вариантах осуществления способы включают введение внутривенно или внутримышечно от около 10^6 до около 10^8 вирусных ФОЕ или БОЕ, или ИЕ, или ВЧ на введение каждые две недели (Q2W) или ежемесячно (Q4W).

[0184] В различных вариантах осуществления способы включают цикл примирование/усиление. В некоторых вариантах осуществления цикл примирование/усиление включает введение примирующей композиции в первый момент времени и введение одной или более усиливающих композиций в одной или более последующих временных точках. При необходимости, способы могут включать повторение цикла примирование/усиление на один или более циклов. В различных вариантах осуществления введение примирующей композиции и одной или более усиливающих композиций разнесены по меньшей мере на 1 неделю и до по меньшей мере 2 недель, 3 недель, 1 месяца, 2 месяцев, 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев или 6 месяцев. В соответствующих случаях дозировка или частота дозирования иммуногенной композиции могут быть скорректированы в течение курса лечения на основании заключения назначающего лечение врача. В соответствующих случаях субъекта можно лечить несколькими введениями в течение периода времени, составляющего по меньшей мере от около 2 недель до 3 недель, 1 месяц, 2 месяца, 3 месяца, 4 месяца, 5 месяцев, 6 месяцев, 7 месяцев, 8 месяцев, 9 месяцев, 10 месяцев, 11 месяцев, 12 месяцев, 13 месяцев, 14 месяцев, 15 месяцев, 16 месяцев, 17 месяцев, 18 месяцев, 19 месяцев, 20 месяцев, 21 месяц, 22 месяца, 23 месяца, 24 месяца или дольше, или до тех пор, пока sAg больше не обнаруживается в сыворотке или плазме субъекта.

[0185] В некоторых вариантах осуществления после одного или более введений одного или более иммуногенных полипептидов, как описано в настоящем документе, или одного или более полинуклеотидов, кодирующих один или более иммуногенных полипептидов, как описано в настоящем документе, или одного или более векторов, экспрессирующих один или более иммуногенных полипептидов, как описано в настоящем документе, необязательно с одним или более дополнительными терапевтическими агентами, описанными в настоящем документе, субъект не проявляет симптомов ВГВ в отсутствие противовирусной терапии в течение по меньшей мере 6 месяцев, по меньшей мере 1 года, по меньшей мере 2 лет, по меньшей мере 3 лет или более. В некоторых вариантах осуществления после одного или более введений одного или более иммуногенных полипептидов, как описано в настоящем документе, или одного или более полинуклеотидов, кодирующих один или более иммуногенных полипептидов, как описано в настоящем документе, или одного или более векторов, экспрессирующих один или более иммуногенных полипептидов, как описано в настоящем документе, необязательно с одним или более дополнительными терапевтическими агентами, описанными в настоящем документе, sAg больше не обнаруживается в сыворотке или плазме субъекта, в отсутствие противовирусной терапии в течение по меньшей мере 6 месяцев, например, по меньшей мере 1 года, по меньшей мере 2 лет, по меньшей мере 3 лет или более.

[0186] При необходимости или при желании примирующая композиция и усиливающая композиция может содержать ту же иммуногенную композицию или различные иммуногенные композиции. В различных вариантах осуществления примирующая композиция и усиливающая композиция содержат один или более полипептидов и один и тот же экспрессионный вектор (например, вирусный экспрессионный вектор). В некоторых вариантах осуществления примирующая композиция и усиливающая композиция содержат различные полипептиды и/или различные вирусные экспрессионные векторы (например, вирусные экспрессионные векторы). Например, в некоторых вариантах осуществления примирующая композиция и усиливающая композиция содержат один или более полипептидов и различные экспрессионные векторы (например, вирусные векторы из разных видов вируса в таксономической семействе, вирусные векторы из разных таксономических семейств, вирусные векторы с различными компетенциями репликации). В некоторых вариантах осуществления примирующая композиция и усиливающая композиция содержат различные иммуногенные полипептиды и один и тот же экспрессионный вектор (например, вирусный экспрессионный вектор).

[0187] В некоторых вариантах осуществления способы включают примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов. В некоторых вариантах осуществления цикл примирование/усиление включает:

a) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более полинуклеотидов, причем один или более полинуклеотидов содержат ДНК, кДНК, мРНК или самореплицирующуюся РНК;

b) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более полинуклеотидов, причем один или более полинуклеотидов содержат ДНК, кДНК, мРНК или самореплицирующуюся РНК, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов,

c) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов, причем один или более вирусных экспрессионных векторов в примирующей композиции и один или более вирусных экспрессионных векторов в усиливающей композиции происходят из идентичных, родственных или не связанных с ними таксономических семейств;

d) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов, причем один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов в примирующей композиции и один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов в усиливающей композиции происходят из идентичных, родственных или не связанных с ними таксономических семейств;

e) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-аттенуированных вирусных экспрессионных векторов, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-аттенуированных вирусных экспрессионных векторов, причем один или более репликационно-аттенуированных вирусных экспрессионных векторов в примирующей композиции и один или более репликационно-аттенуированных вирусных экспрессионных векторов в усиливающей композиции происходят из идентичных, родственных или не связанных с ними таксономических семейств;

f) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-аттенуированных вирусных экспрессионных векторов;

g) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-аттенуированных вирусных экспрессионных векторов, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов;

h) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV);

i) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV), и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV);

j) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV), и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV);

k) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV);

l) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аренавируса, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аденовируса;

m) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аденовируса, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аренавируса;

n) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов поксвируса, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аренавируса;

o) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аренавируса, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов поксвируса;

p) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов поксвируса, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аденовируса; или

q) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов аденовируса, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов поксвируса.

[0188] В некоторых вариантах осуществления способы включают примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов. В некоторых вариантах осуществления цикл примирование/усиление включает:

a) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV);

b) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV), и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV);

c) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV), и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV); или

d) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде (PICV);

[0189] В различных вариантах осуществления примирующая композиция и усиливающая композиция содержат иммуногенную композицию, как описано в настоящем документе.

[0190] В некоторых вариантах осуществления субъект не получает противовирусной терапии или противовирусную терапию прекращают до введения одной или более иммуногенных

композиций. В некоторых вариантах осуществления противовирусную терапию прекращают после одного или более введений композиций.

[0191] В некоторых вариантах осуществления способы лечения активируются в Т-клетках CD8+ субъекта, нацеленных на один или более полипептидных эпитопов ВГВ. В некоторых вариантах осуществления способы лечение вызывают у субъекта получение антител, которые связывают один или более полипептидов ВГВ.

7. Комбинированные терапии

[0192] В определенных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним, двумя, тремя или четырьмя дополнительными терапевтическими агентами. В определенных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с двумя дополнительными терапевтическими агентами. В определенных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с тремя дополнительными терапевтическими агентами. В определенных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с четырьмя дополнительными терапевтическими агентами. Один, два, три, четыре или более дополнительных терапевтических агентов могут представлять собой различные терапевтические агенты, выбранные из того же класса терапевтических агентов, и/или они могут быть выбраны из разных классов терапевтических агентов.

[0193] Используемый в настоящем документе термин «совместное введение» относится к введению единичных доз иммуногенных полипептидов, полинуклеотидов, кодирующих такие полипептиды, векторов, LNP и иммуногенных композиций, содержащих такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, до или после введения единичных доз одного или более дополнительных терапевтических агентов. Например, введение иммуногенной композиции, описанной в настоящем документе, в течение нескольких секунд, минут или часов введения одного или более дополнительных терапевтических агентов. Например, в некоторых вариантах осуществления единичную дозу иммуногенной композиции по настоящему изобретению вводят сначала, а затем в течение нескольких секунд или минут путем введения единичной дозы одного или более дополнительных терапевтических агентов. Альтернативно, в других вариантах осуществления вводят единичную дозу одного или более дополнительных терапевтических агентов с последующим введением единичной дозы иммуногенной композиции по настоящему изобретению в течение нескольких секунд или минут. В некоторых вариантах осуществления единичная доза иммуногенных полипептидов, полинуклеотидов, кодирующих такие полипептиды, векторов, LNP и иммуногенных композиций, содержащих такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем

документе, вводят сначала, затем после периода в несколько часов (например, 1–12 часов), путем введения единичной дозы одного или более дополнительных терапевтических агентов. В других вариантах осуществления единичная доза одного или более дополнительных терапевтических агентов вводится сначала, затем после периода нескольких часов (например, 1–12 часов), путем введения стандартной дозы иммуногенных полипептидов, полинуклеотидов, кодирующих такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе.

[0194] Совместное введение иммуногенных полипептидов, полинуклеотидов, кодирующих такие полипептиды, векторов, LNP и иммуногенных композиций, содержащих такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, с одним или более дополнительными терапевтическими агентами обычно относится к одновременному или последовательному введению иммуногенной композиции, описанной в настоящем документе, и одного или более дополнительных терапевтических агентов, так что терапевтически эффективные количества каждого агента присутствуют в организме пациента.

[0195] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в данном документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более дополнительными терапевтическими агентами, как описано в настоящем документе, компоненты композиции вводят в виде одновременного или последовательного цикла. При последовательном введении комбинацию можно вводить в двух или более введениях.

[0196] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или вводят совместно с одним, двумя, тремя, четырьмя или более дополнительными терапевтическими агентами, выбранными из комбинированных лекарственных средств ВГВ, вакцин против ВГВ, ингибиторов полимеразы ДНК ВГВ, иммуномодуляторов, модуляторов Toll-подобных рецепторов (TLR), лигандов рецептора интерферона альфа, ингибиторов гиалуронидазы, ингибиторов антигенов ВГВ (например, ингибиторов капсидного антигена ВГВ (HBcAg), ингибиторов поверхностного антигена ВГВ (HBsAg), ингибиторов HBx, ингибиторов антигена E ВГВ), антигенных антител к ВГВ, ингибирующих нуклеиновые кислоты, нацеленные на ВГВ (например, антисмыслового олигонуклеотида, короткой интерферирующей РНК (киРНК), ДНК-направленной РНК-интерференции (ddRNAi), ингибиторов секреции или сборки HBsAg, ингибиторов проникновения вируса ВГВ, ингибитора иммуной контрольной точки, ингибиторов цитотоксического Т-лимфоцит-ассоциированного белка 4 (CTLA4), ингибиторов циклофилина, модуляторов эндонуклеазы, ингибиторов рибонуклеотидредуктазы, ингибиторов ковалентно замкнутой кольцевой ДНК (кзкДНК), агонистов фарнезоидного X-рецептора (FXR), агонистов STING, антител против ВГВ, антагонистов хемокина CCR2, агонистов тимозина, цитокинов, модуляторов нуклеопротеинов, стимуляторов гена 1, индуцируемого ретиноевой кислотой, стимуляторов NOD2, ингибиторов фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K), ингибиторов пути индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO),

ингибиторов ZCCHC14, ингибиторов третичных лимфоидных агрегатов, полимеров нуклеиновой кислоты (например, NAP и STOPS), ингибиторов PD-1, ингибиторов PD-L1, рекомбинантных ингибиторов тирозинкиназы Брутона (BTK), ингибиторов лизиндеметилазы (KDM), ингибиторов репликации ВГВ, ингибиторов аргиназы, генной терапии и клеточной терапии, редакторов гена, клеточной терапии, TCR-T-клеточной терапии и другие лекарственных средств против ВГВ.

[0197] В некоторых вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, могут быть объединены или совместно введены с одним или более из химиотерапевтического агента, иммуномодулятора, иммунотерапевтического агента, терапевтического антитела, терапевтической вакцины, биспецифического антитела и «антителоподобного терапевтического белка» (например, DARPins®, TCR-подобных антител к pMHC, DARTs®, Duobodies®, Bites®, XmAbs®, TandAbs®, производных Fab), конъюгата антитела с лекарственным веществом (ADC), модификаторов гена или редакторов генов, нацеленных на ВГВ (например, CRISPR-Cas (например, Cas9, Cas12, Cascade, Cas13), нуклеаз с «цинковыми пальцами», хоминг-эндонуклеаз, хоминг-мегануклеаз (например, ARCUS), синтетических нуклеаз, TALEN), клеточной терапии (например, Т-клеток, NK-клеток, макрофагов, имеющих химерный антигенный рецептор (CAR)) и TCR-T (сконструированный Т-клеточный рецептор) или любую их комбинацию.

[0198] В некоторых вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним, двумя, тремя, четырьмя или более дополнительными терапевтическими агентами, например, в виде ингибиторов 3-диоксигеназы (IDO), модулятора аполипопротеина A1, ингибиторов аргиназы, ингибиторов B- и Т-лимфоцитарного аттенюатора, ингибиторов тирозинкиназы Брутона (BTK), антагониста хемокина CCR2, ингибиторов CD137, ингибиторов CD160, ингибиторов CD305, агониста и модулятора CD4, соединений, нацеленных на капсидный антиген гепатита B (HBcAg), аллостерических модуляторов белка капсида, ингибриторов ковалентно замкнутой кольцевой ДНК (кзкДНК), ингибиторов циклофилина, ингибиторов цитотоксического Т-лимфоцит-ассоциированного белка 4 (CTLA4), ингибитора ДНК-полимеразы, модуляторов эндонуклеазы, эпигенетических модификаторов, агонистов фарнезоидного Х-рецептора (FXR), ингибиторов ДНК-полимеразы ВГВ, ингибиторов репликации ВГВ, ингибиторов РНазы ВГВ, ингибиторов проникновения вируса ВГВ, ингибиторов HBx, модулятора белка большой оболочки гепатита B, стимулятора белка большой оболочки гепатита B, модулятора структурного белка гепатита B, ингибиторов поверхностного антигена гепатита B (HBsAg), ингибиторов секреции или сборки поверхностного антигена гепатита B (HBsAg), ингибиторов антигена E вируса гепатита B, ингибиторов репликации вируса гепатита B, ингибитора структурного белка вируса гепатита, ингибитора обратной транскриптазы HIV-1, ингибитора гиалуронидазы, ингибитора белка семейства ингибиторов белков апоптоза (IAP), агониста IL-2, агониста IL-7, иммуномодуляторов, ингибиторов индоламина-2, ингибиторов рибонуклеотидредуктазы, лиганда интерлейкина-2, ингибиторов ipi4, ингибиторов лизиндеметилазы, ингибиторов гистондеметилазы, ингибиторов KDM1, ингибиторов

KDM5, ингибиторов лектиноподобных рецепторов клеток-киллеров подсемейства G члена 1, ингибиторов гена 3 активации лимфоцитов, активаторов рецептора лимфотоксина бета, модуляторов B7-H3, модуляторов B7-H4, модуляторов CD160, модуляторов CD161, модуляторов CD27, модуляторов CD47, модуляторов CD70, модуляторов GITR, модуляторов HEVEM, модуляторов ICOS, модуляторов Mer, модуляторов NKG2A, модуляторов NKG2D, модуляторов OX40, модуляторов SIRPalpha, модуляторов TIGIT, модуляторов Tim-4, модуляторов Tyro, ингибиторов Na+-таурохолат котранспортирующего полипептида (NTCP), ингибиторов рецептора натуральных клеток-киллеров 2B4, стимулятора гена NOD2, ингибитора нуклеопротеина, модуляторов нуклеопротеина, агониста рецептора OX-40, ингибиторов PD-1, ингибиторов PD-L1, ингибиторов пептидилпролилизомеразы, ингибиторов фосфатидилинозитол-3 киназы (PI3K), стимулятора гена 1, индуцируемого ретиноевой кислотой, ингибитора обратной транскриптазы, ингибитора рибонуклеазы, ингибитора РНК-ДНК-полимеразы, ингибитора гена SLC10A1, миметиков SMAC, ингибитора тирозинкиназы Src, стимулятора интерферона агонистов гена (STING), стимуляторов NOD1, ингибитора гликопротеина CD28 поверхности Т-клеток, модулятора гликопротеина CD8 поверхности Т-клеток, агониста тимозина, лиганда тимозина альфа-1, ингибиторов Tim-3, агонистов TLR-3, агонистов TLR-7, агонистов TLR- 9, агонистов или стимулятора гена TLR9, модуляторов Toll-подобного рецептора (TLR), ингибиторов вирусной рибонуклеотидредуктазы и их комбинаций.

Противовирусные лекарственные средства, ингибирующие ВГВ

[0199] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более противовирусных агентов. В некоторых вариантах осуществления один или более противовирусных агентов выбраны из группы, состоящей из ламивудина (LAM), адефовир дипивоксила (ADV), энтекавира (ETV), телбивудина (LdT), тенофовира дизопроксил фумарата (TDF), тенофовира дизопроксил фумарата и эмтрицитабина (TRUVADA®), тенофовира алафенамида (TAF или VEMLIDY®) и ледипасвира и софосбувира (HARVONI®).

Другие лекарственные средства против ВГВ

[0200] К примерам других лекарственных средств для лечения ВГВ, которые можно комбинировать или совместно вводить, относятся альфа-гидрокситрополон, амдоксовир, антрохинонол, бета-гидроксицитозиновые нуклеозиды, ARB-199, CCC-0975, ccc-R08, эльвуцитабин, эзетимиб, циклоспорин А, гентиопикрин (гентиопикрозид), HH-003, гепалатид, JNJ-56136379, нитазоксанид, биринапант, NJK14047, NOV-205 (моликсан, BAM-205), олиготид, мивотилат, ферон, GST-HG-131, левамизол, Ка Шу Нин, аллоферон, WS-007, Y-101 (Ti Fen Tai), rSIFN-co, PEG-IIFNm, KW-3, BP-Inter-014, олеаноловая кислота, HepB-nRNA, cTP-5 (rTP-5), HSK-II-2, HEISCO-106-1, HEISCO-106, Hepbarna, IBPB-006IA, Hepuyinfen, DasKloster 0014-01, ISA-204, Jiangantai (Ganxikang), MIV-210, OB-AI-004, PF-06, пикрозид, DasKloster-0039, гепулантай, IMB-2613, NCO-48 фумарат, XTYW-001, SFA-001, TCM-800B, восстановленный глутатион, RO-6864018, ENOB-HB-01, RG-7834, QL-007софосбувир, ледипасвир, UB-551, PA-1010, HPN-BV1, STSG-0002 и ZH-2N, и соединения, описанные в US20150210682, (Roche), US 2016/0122344 (Roche), WO2015173164, WO2016023877,

US2015252057A (Roche), WO16128335A1 (Roche), WO16120186A1 (Roche), US2016237090A (Roche), WO16107833A1 (Roche), WO16107832A1 (Roche), US2016176899A (Roche), WO16102438A1 (Roche), WO16012470A1 (Roche), US2016220586A (Roche) и US2015031687A (Roche).

[0201] Примеры комбинированных лекарственных средств для лечения ВГВ, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают тенофовира дизопроксил фумарат и эмтрицитабин (TRUVADA®), ледипасвир и софосбувир (HARVONI®); ABX-203 (NASVAC), ламивудин и PEG-IFNα; адефовир и PEG-IFNα; и INO-1800 (INO-9112 и RG7944).

Вакцины против ВГВ

[0202] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одной или более вакцинами ВГВ. Вакцины против ВГВ, которые можно комбинировать или вводить совместно (например, в цикле примирование/усиление), включают как профилактические, так и терапевтические вакцины. Примеры профилактических вакцин против ВГВ включают Vaxelis, гексаксим, Heplisav, Mosquirix, вакцину DTwP-HBV, Bio-Hep-B, D/T/P/HBV/M (LBVP-0101; LBVW-0101), вакцину DTwP-HepB-Hib-IPV, Heberpenta L, DTwP-HepB-Hib, V-419, CVI-HBV-001, Tetrabhay, профилактическую вакцину против гепатита B (Advax Super D), Hepatrol-07, GSK-223192A, ENGERIX B®, рекомбинантную вакцину против гепатита B (внутримышечно, Kangtai Biological Products), рекомбинантную вакцину против гепатита B (дрожжи Hansenual polymorpha, внутримышечно, Hualan Biological Engineering), рекомбинантную вакцину поверхностного антигена гепатита B, Bimmugen, CARG-101, Euforavac, Eutravac, anrix-DTaP-IPV-Hep B, HBAI-20, Infanrix-DTaP-IPV-Hep B-Hib, Pentabio Vaksin DTP-HB-Hib, Comvac 4, Twinrix, Euvax-B, Tritanrix HB, Infanrix Hep B, Comvax, вакцину DTP-Hib-HBV, вакцину DTP-HBV, Yi Tai, Heberbiovac HB, Trivac HB, GerVax, вакцина DTwP-Hep B-Hib, Bilive, Hepavax-Gene, SUPERVAX, Comvac5, Shanvac-B, Hebsulin, Recombivax HB, Revac B mcf, Revac B+, Fendrix, DTwP-HepB-Hib, DNA-001, Shan5, Shan6, вакцину rhHBsAG, пентавакцину HBI, LBVD, Infanrix HeXa, YS-HBV-001, IR-101H, TVAX-008, и вакцину DTaP-rHB-Hib.

[0203] К примерам вакцин против ВГВ, которые можно комбинировать или вводить совместно (например, в цикле примирование/усиление) относятся комплекс HBsAG-HBIG, ARB-1598, Bio-Hep-B, abi-HB (внутривенный), ABX-203 (NASVAC), Tetrabhay, GX-110E, GS-4774, пептидная вакцина (эпсилон-PA-44), Гепатрол-07, NASVAC (NASTERAP), IMP-321, BEVAC, Revac B mcf, Revac B+, MGN-1333, KW-2, CVI-HBV-002, AltraHepB, VGX-6200, FP-02, FP-02.2 (HepTcell), NU-500, HBVax, im/TriGrid/антигенная вакцина, адъювантная вакцина на основе MEGA-CD40L, HepB-v, RG7944 (INO-1800), терапевтическая вакцина на основе рекомбинантной вирусоподобной частицы (HBV-инфекция, VLP Biotech), AdTG-17909, AdTG-17910 AdTG-18202, ChronVac-B, TG-1050, VVX-001, GSK-3528869A (ChAd155-hli-HBV + MVA-HBV +Hbc-HBs/AS01B-4), VBI-2601, VTP-300 (прайм ChAdOx1-SIi-HBV-CPmut-TPA-Ssh и буст MVA-SIi-HBV-CPmut-TPA-Ssh), Lm HBV и BM32 (Tulaeva, *et al.*, EBioMedicine (2020) 102953). Вакцины против аренавируса HBV описаны, например, в WO2017076988 и WO2017198726.

Ингибиторы ДНК-полимеразы ВГВ

[0204] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в данном документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более ингибиторов полимеразы. К примерам ингибиторов ДНК-полимеразы ВГВ, которые можно комбинировать или вводить совместно, относятся адефовир (HEPSERA®), эмтрицитабин (EMTRIVA®), тенофовира дизопроксила фумарат (VIREAD®), тенофовира алафенамид, тенофовир, тенофовира дизопроксил, тенофовира алафенамида фумарат, тенофовира алафенамида гемифумарат, тенофовира дипивоксил, тенофовира дипивоксила фумарат, тенофовира октадецилоксиэтиловый эфир, CMX-157, тенофовира эксалидекс, бесифовир, энтекавир (BARACLUDE®), энтекавира малеат, телбивудин (TYZEKA®), филоциловир, прадефовир, клевудин, рибавирин, ламивудин (EPIVIR-HBV®), фосфазид, фамцикловир, фузолин, метакавир, SNC-019754, FMCA, AGX-1009, AR-II-04-26, HIP-1302, тенофовира дизопроксила аспартат, тенофовира дизопроксила оротат, AiB-001 и HS-10234.

иммуномодуляторы

[0205] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более иммуномодуляторами (например, ингибитор иммунных контрольных точек, агонист суперсемейства рецептора фактора некроза опухоли (TNF) (TNFRSF), иммуностимулятор, например, агонист TLR). К примерам иммуномодуляторов, которые можно комбинировать или вводить совместно, относятся ринтатолимод, имидола гидрохлорид, ингарон, дермавир, плаквенил (гидроксихлорохин), пролейкин, гидроксимочевина, микофенолятмофетил (MPA) и его сложноэфирное производное микофенолятмофетила (MMF), JNJ-440, WF-10, AB-452, рибавирин, IL-12, INO-9112, полимер полиэтиленимин (PEI), Gepon, VGV-1, MOR-22, CRV-431, JNJ-0535, TG-1050, ABI-H2158, BMS-936559, GS-9688, RO-7011785 и соответствующее пролекарство RO-702053, RG-7854, RO-6871765, AIC-649, и IR-103.

Агонисты Toll-подобных рецепторов (TLR)

[0206] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в данном документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более агонистов или стимуляторов Toll-подобного рецептора (TLR). В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с агонистом TLR, например, агонистом TLR1 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7096), TLR2 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7097), TLR3 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7098), TLR4 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7099), TLR5 (идентификационный номер гена

в базе данных NCBI: 7100), TLR6 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10333), TLR7 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51284), TLR8 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51311), TLR9 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 54106), и/или TLR10 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 81793), TLR11, TLR12 и TLR13.

[0207] Примеры агонистов TLR3, которые можно комбинировать или вводить совместно, включают ринтатолимод, поли-ICLC, RIBOXXON®, Apoxxim, RIBOXXIM®, IPH-33, MCT-465, MCT-475 и ND-1.1.

[0208] Примеры агонистов TLR4, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают G-100 и GSK-1795091.

[0209] Примеры агонистов TLR7, которые можно комбинировать или вводить совместно, включают, без ограничения, AL-034, DSP-0509, GS-9620 (везатолимод), LHC-165, TMX-101 (имиквимод), GSK-2245035, резиквимод, DSR-6434, DSP-3025, IMO-4200, MCT-465, телратолимод (MEDI-9197), 3M-051, SB-9922, 3M-052, Limtop, TMX-30X, TMX-202, RG-7863, RG-7854, RG-7795, RO-7011785 и соответствующее пролекарство RO-702053, и соединения, описанные в US20100143301 (Gilead Sciences), US20110098248 (Gilead Sciences) и US20090047249 (Gilead Sciences), US20140045849 (Janssen), US20140073642 (Janssen), WO2014/056953 (Janssen), WO2014/076221 (Janssen), WO2014/128189 (Janssen), US20140350031 (Janssen), WO2014/023813 (Janssen), US20080234251 (Array Biopharma), US20080306050 (Array Biopharma), US20100029585 (Ventirx Pharma), US20110092485 (Ventirx Pharma), US20110118235 (Ventirx Pharma), US20120082658 (Ventirx Pharma), US20120219615 (Ventirx Pharma), US20140066432 (Ventirx Pharma), US20140088085 (Ventirx Pharma), US20140275167 (Novira Therapeutics) и US20130251673 (Novira Therapeutics).

[0210] Примером двойных агонистов TLR7/TLR8, которые можно комбинировать или вводить совместно, является NKTR-262, телратолимод и BDB-001

[0211] Примеры агонистов TLR8, которые можно вводить совместно, включают, без ограничения, E-6887, IMO-4200, IMO-8400, IMO-9200, MCT-465, телратолимод (MEDI-9197), мотолимод, резиквимод, селгантолимод (GS-9688), HRS-9950, VTX-1463, VTX-763, 3M-051, 3M-052, SBT6050 и соединения, описанные в US2016289229 (Gilead Sciences), US20140045849 (Janssen), US20140073642 (Janssen), WO2014/056953 (Janssen), WO2014/076221 (Janssen), WO2014/128189 (Janssen), US20140350031 (Janssen), WO2014/023813 (Janssen), US20080234251 (Array Biopharma), US20080306050 (Array Biopharma), US20100029585 (Ventirx Pharma), US20110092485 (Ventirx Pharma), US20110118235 (Ventirx Pharma), US20120082658 (Ventirx Pharma), US20120219615 (Ventirx Pharma), US20140066432 (Ventirx Pharma), US20140088085 (Ventirx Pharma), US20140275167 (Novira Therapeutics) и US20130251673 (Novira Therapeutics), патент США № 9670205 (Gilead Sciences, Inc.), US20160289229 (Gilead Sciences, Inc.), WO2017/048727 (Gilead Sciences, Inc.), US20180065938 (Gilead Sciences, Inc.) и US20180086755 (Gilead Sciences, Inc.).

[0212] Примеры агонистов TLR9, которые можно комбинировать или вводить совместно, включают, без ограничения, AST-008, кобитолимод, CMP-001, IMO-2055, IMO-2125, S-540956, литенимоб, MGN-1601, BB-001, BB-006, IMO-3100, IMO-8400, IR-103, IMO-9200, агатолимод, DIMS-

9054, DV-1079, DV-1179, AZD-1419, лефитолимод (MGN-1703), CYT-003, CYT-003-QbG10, тилсотолимод и PUL-042.

[0213] Дополнительные примеры модуляторов TLR7, TLR8 и TLR9, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают соединения, описанные в WO2017047769 (Teika Seiyaku), WO2015014815 (Janssen), WO2018045150(Gilead Sciences Inc), WO2018045144 (Gilead Sciences Inc), WO2015162075 (Roche), WO2017034986 (University of Kansas), WO2018095426 (Jiangsu Hengrui Medicine Co Ltd), WO2016091698(Roche), WO2016075661 (GlaxoSmithKline Biologicals), WO2016180743 (Roche), WO2018089695 (Dynavax Technologies), WO2016055553 (Roche), WO2015168279 (Novartis), WO2016107536 (Medshine Discovery), WO2018086593 (Livo (Shanghai) Pharmaceutical), WO2017106607 (Merck), WO2017061532 (Sumitomo Dainippon Pharma), WO2016023511 (Chia Tai Tianqing Pharmaceutical), WO2017076346 (Chia Tai Tianqing Pharmaceutical), WO2017046112 (Roche), WO2018078149 (Roche), WO2017040233 (3M Co), WO2016141092 (Gilead Sciences), WO2018049089 (BristolMyers Squibb), WO2015057655 (Eisai Co Ltd), WO2017001307 (Roche), WO2018005586 (BristolMyers Squibb), WO201704023 (3M Co), WO2017163264 (Council of Scientific and Industrial Research (India)), WO2018046460 (GlaxoSmithKline Biologicals), WO2018047081 (Novartis), WO2016142250 (Roche), WO2015168269 (Novartis), WO201804163 (Roche), WO2018038877 (3M Co), WO2015057659 (Eisai Co Ltd), WO2017202704 (Roche), WO2018026620 (BristolMyers Squibb), WO2016029077 (Janus Biotherapeutics), WO201803143 (Merck), WO2016096778 (Roche), WO2017190669 (Shanghai De Novo Pharmatech), US09884866 (University of Minnesota), WO2017219931 (Sichuan KelunBiotech Biopharmaceutical), WO2018002319 (Janssen Sciences), WO2017216054 (Roche), WO2017202703 (Roche), WO2017184735 (IFM Therapeutics), WO2017184746 (IFM Therapeutics), WO2015088045 (Takeda Pharmaceutical), WO2017038909 (Takeda Pharmaceutical), WO2015095780 (University of Kansas), WO2015023958 (University of Kansas).

[0214] В определенных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с агонистом TLR7, TLR8 или TLR9.

Лиганды рецептора интерферона-альфа

[0215] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в данном документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более лигандами рецептора интерферона-альфа. К примерам лигандов рецептора интерферона альфа, которые можно комбинировать или совместно вводить, относятся интерферон альфа-2b (INTRON A®), пегилированный интерферон альфа-2a (PEGASYS®), ПЭГилированный интерферон альфа-1b, интерферон альфа-1b (HAPGEN®), Veldona, Infradure, Роферон-А, YPEG-интерферон альфа-2a (YPEG-rhIFNalpha-2a), P-1101, Альгерон, Альфарона, Ингарон (интерферон гамма), rSIFN-co (рекомбинантный суперинтерферон), YPEG-интерферон альфа-2b (YPEG-rhIFNalpha-2b), MOR-22, пегинтерферон альфа-2b (PEG-INTRON®), Биоферон, Новаферон, инмутаг (инферон), MULTIFERON®, интерферон альфа-n1 (HUMOFERON®), интерферон бета-1a (AVONEX®), шаферон, интерферон альфа-2b (Axxo), Альфаферон, интерферон

альфа-2b (BioGeneric Pharma), интерферон-альфа 2 (CJ), лаферон, VIPEG, БЛАУФЕРОН-А, м-В, Intermax Alpha, Реальдирон, Ланстион, Пегаферон, PDferon-B, интерферон альфа-2b (IFN, Laboratories Bioprofarma), альфаинтерферон-2b, Калферон, Пегнано, Феронсур, PegiHep, интерферон альфа-2b (Zydus-Cadila), интерферон альфа-2a, Optipeg A, Realfa 2B, Релиферон, интерферон альфа-2b (Amega), интерферон альфа-2b (Virchow), ропегинтерферон альфа-2b, rHSA-IFN альфа-2a (слитый белок рекомбинантного человеческого сывороточного альбумина и интерферона альфа 2a), пэгинтерферон-альфа, rHSA-IFN альфа 2b, рекомбинантный человеческий интерферон альфа-(1b, 2a, 2b), пегинтерферон альфа-2b (Amega), пегинтерферон альфа-2a, Реаферон-ЕС, Проквиферон, Униферон, Урифрон, интерферон альфа-2b (Changchun Institute of Biological Products), антерферон, шанферон, лайфферон, Shang Sheng Lei Tai, INTEFEN, СИНОГЕН, Fukangtai, пегстат, rHSA-IFN альфа-2b, SFR-9216 и Interapo (Interapa).

Ингибиторы гиалуронидазы

[0216] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в данном документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более ингибиторов гиалуронидазы. Примеры ингибиторов гиалуронидазы, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают астодример.

Ингибиторы поверхностного антигена гепатита В (HBsAg)

[0217] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более ингибиторов HBsAg. Примеры ингибиторов HBsAg, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают AK-074, HBF-0259, GP-605, PBHBV-001, PBHBV-2-15, PBHBV-2-1, REP-9AC, REP-9C, REP-9, REP-2139, REP-2139-Ca, REP-2055, REP-2163, REP-2165, REP-2053, REP-2031 и REP-006, и REP-9AC′. Примеры ингибиторов секреции HBsAg, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают BM601, GST-HG-131, AB-452 и ALG-010093.

Ингибиторы циклофилина

[0218] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более ингибиторов циклофилина. Примеры ингибиторов секреции циклофилина, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают CPI-431-32, EDP-494, OCB-030, SCY-635, NVP-015, NVP-018, NVP-019, STG-175, и соединения, описанные в US8513184 (Gilead Sciences), US20140030221 (Gilead Sciences), US20130344030 (Gilead Sciences) и US20130344029 (Gilead Sciences).

Ингибиторы проникновения вируса ВГВ

[0219] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более ингибиторов проникновения вируса ВГВ. Примеры ингибиторов проникновения вируса ВГВ, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают булевиртид (Hepcludex; Myrcludex B).

Ингибиторные нуклеиновые кислоты

[0220] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более ингибирующими нуклеиновыми кислотами (например, антисмысловым олигонуклеотидом, короткой интерферирующей РНК (киРНК), ДНК-направленной интерференцией РНК (ddRNAi), специфически нацеленными на полинуклеотид ВГВ. В некоторых вариантах осуществления полинуклеотид ВГВ кодирует и белок ВГВ (т. е. находится в кодирующей области в геноме ВГВ).

Антисмысловый олигонуклеотид, нацеленный на вирусную мРНК

[0221] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более антисмысловых олигонуклеотидов. Примеры антисмыслового олигонуклеотида, нацеленного на вирусную мРНК, которые можно комбинировать или вводить совместно, включают ISIS-HBVRx, IONIS-HBVRx, IONIS-HBV-LRx, IONIS-GSK6-LRx, GSK-3389404, BNC-1701 и RG-6004.

Короткие интерферирующие РНК (киРНК)

[0222] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одной или более киРНК, специфически нацеленными на полинуклеотид ВГВ. Примеры киРНК, специфически нацеленных на полинуклеотид ВГВ, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают TKM-HBV (TKM-HepB), ALN-HBV, SR-008, HepB-nRNA, ARC-520, ARC-521, ARB-1740, ARB-1467, AB-729, DCR-HBVS, RG-6084 (PD-L1), RG-6217, ALN-HBV-02, JNJ-3989 (ARO-HBV), STSG-0002, LUNAR-HBV и DCR-HBVS (DCR-S219).

ДНК-направленная РНК-интерференция (ddRNAi)

[0223] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одной или более ddRNAi, специфически нацеленными на

полинуклеотид ВГВ. Примеры ddRNAi, специфически нацеленных на полинуклеотид ВГВ, который можно комбинировать или совместно вводить, включают BB-HB-331.

Модуляторы эндонуклеазы

[0224] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более модуляторов эндонуклеазы. Примеры модуляторов эндонуклеазы, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают PGN-514.

Ингибиторы рибонуклеотидредуктазы

[0225] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более ингибиторами рибонуклеотидредуктазы. Примеры ингибиторов рибонуклеотидредуктазы, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают Trimidox.

Ненуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы (NNRTI)

[0226] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более NNRTI. Примеры NNRTI, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают соединения, описанные в WO2018118826 (Merck), WO2018080903(Merck), WO2018119013 (Merck), WO2017100108 (Idenix), WO2017027434 (Merck), WO2017007701 (Merck), WO2008005555 (Gilead).

Ингибиторы репликации ВГВ

[0227] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более ингибиторов репликации ВГВ. Примеры ингибиторов репликации ВГВ, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают GP-31502, изотиафлудин, IQP-HBV, RM-5038 и Xingantie.

Ингибиторы ковалентно замкнутой кольцевой ДНК (кзкДНК)

[0228] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более ингибиторов кзкДНК. Примеры ингибиторов кзкДНК, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают BSBI-25, ccc-R08 и CHR-101.

Агонисты фарнезоидного X-рецептора (FXR)

[0229] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более агонистами FXR. Примеры агонистов FXR, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают EYP-001, силофексор (GS-9674), EDP-305, MET-409, Tropifexor, AKN-083, RDX-023, BWD-100, LMB-763, INV-3, NTX-023-1, EP-024297 и GS-8670.

Антитела к ВГВ

[0230] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более антителами, которые специфически связываются с антигеном ВГВ, включая пептид ВГВ, представленный в главной молекуле гистосовместимости (MHC) (pMHC). Примеры антител к ВГВ, нацеленных на поверхностные антигены вируса гепатита B, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают lenvervimab (GC-1102), XTL-17, XTL-19, KN-003, IV Hepabulin SN и полностью человеческое моноклональное антитело (вирус гепатита B, Humabs BioMed). Антитела, нацеленные на белок X ВГВ (HBx), которые можно комбинировать или совместно вводить, описаны, например, в Kornyeyev, *et al.*, *J Virol*. 2019 Jul 30;93(16). pii: e00248-19.

[0231] Примеры антител к ВГВ, включая моноклональные антитела и поликлональные антитела, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают Zutectra, Shang Sheng Gan Di, Uman Big (гипериммунный гепатит B), Omri-Hep-B, Nabi-HB, Hepatect CP, HepaGam B, Igantibe, Niuliva, CT-P24, иммуноглобулин против гепатита B (внутривенный, pH4, инфекция ВГВ, Shanghai RAAS Blood Products) и Fovepta (BT-088).

[0232] Примеры полностью человеческих моноклональных антител ВГВ, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают HBC-34.

[0233] Антитела к комплексам вирусного пептида/главного гистосовместимого комплекса (MHC) ВГВ (pMHC), которые можно комбинировать или совместно вводить, описаны, например, в Sastry, *et al., J Virol*. 2011 Mar;85(5):1935-42 и в WO2011062562.

Антагонисты хемокина CCR2

[0234] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более антагонистами хемокина CCR2. Примеры антагонистов хемокина CCR2, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают пропагерманиум.

Агонисты тимозина

[0235] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более агонистами тимозина, например, рекомбинантного тимозина альфа-1. Примеры агонистов тимосина, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают тимальфазин и рекомбинантный тимозин альфа-1 (GeneScience). Примеры рекомбинантного тимозина альфа-1 включают NL-004 и пегилированный тимозин альфа-1.

Агонисты рецептора интерлейкина (например, цитокинов)

[0236] В некоторых вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более агонистами рецептора интерлейкина, выбранными из IL-2, IL-7, IL-12 и IL-15. В некоторых вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более цитокинами, выбранными из группы, состоящей из IL-2, IL-7, IL-12, IL-15, IL-21, IL-24 и их вариантов. Примеры агонистов рецептора IL-2, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают пролейкин (алдеслейкин, IL-2); целмолейкин; пегилированный IL-2 (например, NKTR-214); модифицированные варианты IL-2 (например, THOR-707), бемпегалдеслейкин, AIC-284, ALKS-4230, CUI-101 и Neo-2/15. Примеры агонистов рецептора IL-15, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают ALT-803, NKTR-255 и hetIL-15, слитый белок интерлейкин-15/Fc, AM-0015, NIZ-985, SO-C101, синториновый IL-15, (пегилированный IL-15), P-22339 и слитый белок IL-15-PD-1 N-809. Примеры агонистов рецептора IL-7, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают CYT-107.

Модуляторы нуклеопротеинов

[0237] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более модуляторов нуклеопротеинов. Модификаторы нуклеопротеинов могут представлять собой ингибиторы капсида ВГВ или белка капсида. Примеры модуляторов нуклеопротеинов, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают GS-4882, AB-423, AB-836, AT-130, ALG-001075, ALG-001024, ALG-000184, EDP-514, GLS4, NVR-1221, NVR-3778, AL-3778, BAY 41-4109, морфотиадина мезилат, ARB-168786, ARB-880, ARB-1820, GST-HG-141, JNJ-379, JNJ-632, RG-7907, GST-HG-141, HEC-72702, KL-060332, AB-506, ABI-H0731, ABI-H3733, JNJ-440, AK-0605, HRS-5091, VNRX-9945, ABI-H2158, CB-HBV-001, AK-0605, SOC-10, SOC-11 и DVR-23.

[0238] Примеры ингибиторов капсида, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают ALG-000184, ABI-H0731, NVR 3-778 и соединения, описанные в US2018161307

(Gilead Sciences), US20140275167 (Novira Therapeutics), US20130251673 (Novira Therapeutics), US20140343032 (Roche), WO2014037480 (Roche), US20130267517 (Roche), WO2014131847 (Janssen), WO2014033176 (Janssen), WO2014033170 (Janssen), WO2014033167 (Janssen), WO2015/059212 (Janssen), WO2015118057 (Janssen), WO2015011281 (Janssen), WO2014184365 (Janssen), WO2014184350 (Janssen), WO2014161888 (Janssen), WO2013096744 (Novira), US20150225355 (Novira), US20140178337 (Novira), US20150315159 (Novira), US20150197533 (Novira), US20150274652 (Novira), US20150259324, (Novira), US20150132258 (Novira), US9181288 (Novira), WO2014184350 (Janssen), WO2013144129 (Roche), WO2017198744 (Roche), US 20170334882 (Novira), US20170334898 (Roche), WO2017202798 (Roche), WO2017214395 (Enanta), WO2018001944 (Roche), WO2018001952 (Roche), WO2018005881 (Novira), WO2018005883 (Novira), WO2018011100 (Roche), WO2018011160 (Roche), WO2018011162 (Roche), WO2018011163 (Roche), WO2018036941 (Roche), WO2018043747 (Kyoto Univ), US20180065929 (Janssen), WO2016168619 (Indiana University), WO2016195982 (The Penn State Foundation), WO2017001655 (Janssen), WO2017048950 (Assembly Biosciences), WO2017048954 (Assembly Biosciences), WO2017048962 (Assembly Biosciences), US20170121328 (Novira), US20170121329 (Novira).

[0239] Примеры ингибиторов транскрипта, которые можно комбинировать или вводить совместно, включают соединения, описанные в WO2017013046 (Roche), WO2017016960 (Roche), WO2017017042 (Roche), WO2017017043 (Roche), WO2017061466 (Toyoma chemicals), WO2016177655 (Roche), WO2016161268 (Enanta). WO2017001853 (Redex Pharma), WO2017211791 (Roche), WO2017216685 (Novartis), WO2017216686 (Novartis), WO2018019297 (Ginkgo Pharma), WO2018022282 (Newave Pharma), US20180030053 (Novartis), WO2018045911 (Zhejiang Pharma).

Врожденные активаторы иммуннитета

[0240] В некоторых вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более врожденными активаторами иммунитета. В различных вариантах осуществления один или более врожденных активаторов иммуннитета содержат агонист рецептора, выбранный из группы, состоящей из fms-подобной тирозинкиназы 3 (FLT3), рецептора стимулятора генов интерферона (STING), рецептора интерферона, DExD/H-бокс хеликазы 58 (DDX58; также известной как RIG-I), нуклеотидсвязывающего олигомеризационного домена, содержащего белок 2 (NOD2). В некоторых вариантах осуществления способы включают совместное введение GS-3583 и/или GS-9992. В некоторых вариантах осуществления способы включают комбинирование или совместное введение агониста FLT3, например, GS-3583 или CDX-301.

Агонисты STING, модуляторы RIG-I и NOD2

[0241] В некоторых вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с агонистом интерактора 1 стимулятора ответа на интерферон cGAMP 1 (STING или STING1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 340061). В

некоторых вариантах осуществления агонист или активатор STING/STING1 выбран из группы, состоящей из ADU-S100 (MIW-815), SB-11285, MK-1454, SR-8291, AdVCA0848, STINGVAX, GSK-532, SYN-STING, MSA-1, SR-8291, 5,6-диметилксантенон-4-уксусной кислоты (DMXAA), циклического ГМФ-АМФ (цГАМФ) и циклического ди-АМФ. Примеры агонистов STING, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают соединения, описанные в WO 2018065360 (Biolog Life Science Institute Forschungslabor und Biochemica-Vertrieb GmbH, Germany), WO 2018009466 (Aduro Biotech), WO 2017186711 (InvivoGen), WO 2017161349 (Immune Sensor), WO 2017106740 (Aduro Biotech), US 20170158724 (Glaxo Smithkline), WO 2017075477 (Aduro Biotech), US 20170044206 (Merck), WO 2014179760 (University of California), WO2018098203 (Janssen), WO2018118665 (Merck), WO2018118664 (Merck), WO2018100558 (Takeda), WO2018067423 (Merck), WO2018060323 (Boehringer).

[0242] В некоторых вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с DExD/H-box хеликазой 58 (DDX58; также известным, как ген 1, индуцируемый ретиноевой кислотой (RIG-I), RIG1, RIGI, RLR-1, SGMRT2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23586). Иллюстративные агонисты RIG-I, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают инаригивир сопроксил (SB-9200; GS-9992); SB-40, SB-44, ORI-7246, ORI-9350, ORI-7537, ORI-9020, ORI-9198, ORI-7170 и RGT-100.

[0243] В некоторых вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с нуклеотидсвязывающим олигомеризационным доменом, содержащим белок 2 (NOD2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 64127), таким как инаригивир сопроксил (SB-9200; GS-9992) и IR-103.

Ингибиторы фосфатидилинозитол-3-киназы (PI3K)

[0244] В некоторых вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с ингибитором каталитической субъединицы фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы, например, каталитической субъединицы альфа фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы (PIK3CA, CLAPO, CLOVE, CWS5, MCAP, MCM, MCMTC, PI3K, PI3K-альфа, p110-альфа; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5290); каталитической субъединицы бета фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы (PIK3CB, P110-бета, PI3K, PI3K-бета, PIK3C1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5291); каталитической субъединицы гамма фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы (PIK3CG, PI3CG, PI3K, PI3K-гамма, PIK3, p110-гамма, p120-PI3K; идентификационный номер гена: 5494); и/или каталитической субъединицы дельта фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназы (PIK3CD, APDS, IMD14, P110-дельта, PI3K, p110D, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5293). В некоторых вариантах осуществления ингибитор PI3K представляет собой ингибитор пан-PI3K.

Примеры ингибиторов PI3K включают, без ограничения, ACP-319, AEZA-129, AMG-319, AS252424, AZD8186, BAY 1082439, BEZ235, бимиралисиб (PQR309), бупарлисиб (BKM120), BYL719 (алпелисиб), карбоксиамидотриазол оротат (CTO), CH5132799, CLR-457, CLR-1401, копанлисиб (BAY 80-6946), DS-7423, дувелисиб (IPI-145), фимепиностат (CUDC-907), гедатолисиб (PF-05212384), GDC-0032, GDC-0084 (RG7666), GDC-0077, пистилисиб (GDC-0941), GDC-0980, GSK2636771, GSK2269577, идеалалисиб (Zydelig®), INCB040093, INCB50465, IPI-443, IPI-549, KAR4141, LY294002, LY3023414, NERLYNX® (нератиниб), немиралисиб (GSK2269557), омипалисиб (GSK2126458, GSK458), OXY111A, панулисиб (P7170, AK151761), PA799, перифосин (KRX-0401), пиларалисиб (SAR245408; XL147), пукутинитб мезилат (XC-302), SAR260301, селеталисиб (UCB-5857), серабелисиб (INK-1117, MLN-1117, TAK-117), SF1126, сонолисиб (PX-866), RG7604, натрия ригосертиб (ON-01910 натрия), RP5090, теналисиб (RP6530), RV-1729, SRX3177, таселисиб, TG100115, умбралисиб (TGR-1202), TGX221, вокталисиб (SAR245409), VS-5584, WX-037, X-339, X-414, XL499, XL756, вортманнин, ZSTK474 и соединения, описанные в WO 2005/113556 (ICOS), WO 2013/052699 (Gilead Calistoga), WO 2013/116562 (Gilead Calistoga), WO 2014/100765 (Gilead Calistoga), WO 2014/100767 (Gilead Calistoga) и WO 2014/201409 (Gilead Sciences).

Модуляторы иммунных контрольных точек

[0245] В некоторых вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более блокаторами или ингибиторами белков или рецепторов ингибирующих иммунных контрольных точек и/или с одним или более стимуляторами, активаторами или агонистами одного или более белков или рецепторов стимулирующих иммунных контрольных точек. Блокада или ингибирование ингибирующих иммунных контрольных точек может положительно регулировать активацию Т-клеток или NK-клеток и предотвращать ускользание от иммуного ответа инфицированных клеток. Активация или стимуляция стимулирующих иммунных контрольных точек может усилить эффект ингибиторов иммунных контрольных точек в инфекционной терапии. В различных вариантах осуществления белки или рецепторы иммунных контрольных точек регулируют Т-клеточные ответы (например, рассматриваются в Xu, et al., J Exp Clin Cancer Res. (2018) 37:110). В различных вариантах осуществления белки или рецепторы иммунных контрольных точек регулируют NK-клеточные ответы (например, рассматриваются в Davis, et al., Semin Immunol. (2017) 31:64–75 и Chiossone, et al., Nat Rev Immunol. (2018) 18(11):671-688).

[0246] Примеры белков или рецепторов иммунных контрольных точек включают, без ограничения, CD27 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 939); CD70 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 970); CD40 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 958); CD40LG (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 959); CD47 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 961); CD48 (SLAMF2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 962); содержащий трансмембранный и иммуноглобулиновый домен белок 2 (TMIGD2, CD28H; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 126259); CD84 (LY9B, SLAMF5; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8832); CD96

(идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10225); CD160 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 11126); MS4A1 (CD20; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 931); CD244 (SLAMF4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51744); CD276 (B7H3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 80381); ингибитор 1 активации Т-клеток, содержащий вариабельный иммуноглобулиноподобный домен (VTCN1, B7H4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 79679); V-set домен-содержащий иммунорегуляторный рецептор (VSIR, B7H5, VISTA; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 64115); член 11 суперсемейства иммуноглобулинов (IGSF11, VSIG3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 152404); лиганд 1 рецептора цитотоксичности натуральных клеток-киллеров 3 (NCR3LG1, B7H6; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 374383); HERV-H LTR-ассоциированный белок 2 (HHLA2, B7H7; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 11148); индуцибельный костимулятор Т-клеток (ICOS, CD278; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 29851); лиганд индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOSLG, B7H2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23308); член 4 суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF4, OX40; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7293); член 4 суперсемейства TNF (TNFSF4, OX40L; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7292); TNFRSF8 (CD30; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 943); TNFSF8 (CD30L; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 944); TNFRSF10A (CD261, DR4, TRAILR1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8797); TNFRSF9 (CD137; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3604); TNFSF9 (CD137L; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8744); TNFRSF10B (CD262, DR5, TRAILR2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8795); TNFRSF10 (TRAIL; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8743); TNFRSF14 (HVEM, CD270; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8764); TNFSF14 (HVEML; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8740); CD272 (ассоциированный с B- и T-лимфоцитами белок (BTLA); идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 151888); TNFRSF17 (BCMA, CD269; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 608); TNFSF13B (BAFF; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10673); TNFRSF18 (GITR; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8784); TNFSF18 (GITRL; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8995); последовательность A, родственная полипептиду MHC класса I (MICA; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 100507436); последовательность B, родственная полипептиду MHC класса I (MICB; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4277); CD274 (CD274, PDL1, PD-L1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 29126); белок программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1, PD1, PD-1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5133); ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA4, CD152; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1493); CD80 (B7-1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 941); CD28 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 940); молекула клеточной адгезии-2 нектин (NECTIN2, CD112; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5819); CD226 (DNAM-1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 10666); молекула клеточной адгезии рецептора полиовируса (PVR) (PVR, CD155; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5817); родственный PVR белок, содержащий иммуноглобулиновый домен, (PVRIG, CD112R; идентификационный номер гена в базе

данных NCBI: 79037); Т-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITIM (TIGIT; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 201633); белок-4, содержащий домен иммуноглобулина Т-клеток и домен муцина (TIMD4; TIM4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 91937); клеточный рецептор 2 вируса гепатита А (HAVCR2, TIMD3, TIM3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 84868); галектин 9 (LGALS9; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3965); белок гена активации лимфоцитов 3 (LAG3, CD223; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3902); член 1 семейства сигнальных лимфоцит-активирующих молекул (SLAMF1, SLAM, CD150; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 6504); антиген лимфоцита 9 (LY9, CD229, SLAMF3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4063); член 6 семейства SLAM (SLAMF6, CD352; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 114836); член 7 семейства SLAM (SLAMF7, CD319; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 57823); Ul16-связывающий белок 1 (ULBP1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 80329); UL16-связывающий белок 2 (ULBP2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 80328); UL16-связывающий белок 3 (ULBP3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 79465); ранний транскрипт ретиноевой кислоты 1E (RAET1E; ULBP4; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 135250); ранний транскрипт ретиноевой кислоты 1G (RAET1G; ULBP5; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 353091); ранний транскрипт ретиноевой кислоты 1L (RAET1L; ULBP6; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 154064); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C1 (KLRC1, NKG2A, CD159A; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3821); лектинподобный рецептор клеток-киллеров K1 (KLRK1, NKG2D, CD314; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 22914); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C2 (KLRC2, CD159c, NKG2C; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3822); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C3 (KLRC3, NKG2E; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3823); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C4 (KLRC4, NKG2F; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8302); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR2DL1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3802); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 2 (KIR2DL2; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3803); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 3 (KIR2DL3; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3804); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR3DL1, KIR, CD158E1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3811) (например, лирилумаб (IPH2102/BMS-986015), IPH-4102); и лектинподобный рецептор клеток-киллеров D1 (KLRD1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3824).

[0247] В некоторых вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более блокаторами или ингибиторами одного или более белков или рецепторов Т-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек. Иллюстративные белки или рецепторы Т-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек

включают, но не ограничиваясь этим, CD274 (CD274, PDL1, PD-L1); лиганд 2 белка программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1LG2, PD-L2, CD273); белок программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1, PD1, PD-1); ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA4, CD152); CD276 (B7H3); ингибитор 1 активации Т-клеток, содержащий вариабельный иммуноглобулиноподобный домен (VTCN1, B7H4); V-set домен-содержащий иммунорегуляторный рецептор (VSIR, B7H5, VISTA); член 11 суперсемейства иммуноглобулинов (IGSF11, VSIG3); TNFRSF14 (HVEM, CD270), TNFSF14 (HVEML); CD272 (ассоциированный с B- и Т-лимфоцитами белок (BTLA)); родственный PVR белок, содержащий иммуноглобулиновый домен, (PVRIG, CD112R); Т-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITIM (TIGIT); белок гена активации лимфоцитов 3 (LAG3, CD223); клеточный рецептор 2 вируса гепатита A (HAVCR2, TIMD3, TIM3); галектин 9 (LGALS9); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR, CD158E1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR2DL1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 2 (KIR2DL2); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 3 (KIR2DL3); и иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR3DL1). В различных вариантах осуществления агенты, как описано в настоящем документе, комбинируют с одним или более агонистов или активаторов одного или более белков или рецепторов Т-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек. Иллюстративные белки или рецепторы Т-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек включают, но не ограничиваясь этим, CD27, CD70; CD40, CD40LG; индуцибельный костимулятор Т-клеток (ICOS, CD278); лиганд индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOSLG, B7H2); члена 4 суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF4, OX40); члена 4 суперсемейства TNF (TNFSF4, OX40L); TNFRSF9 (CD137), TNFSF9 (CD137L); TNFRSF18 (GITR), TNFSF18 (GITRL); CD80 (B7-1), CD28; молекулы клеточной адгезии-2 нектин (NECTIN2, CD112); CD226 (DNAM-1); CD244 (2B4, SLAMF4), молекула клеточной адгезии рецептора полиовируса (PVR) (PVR, CD155). См., например, Xu, et al., J Exp Clin Cancer Res. (2018) 37:110.

[0248] В некоторых вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более блокаторами или ингибиторами одного или более белков или рецепторов NK-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек. Иллюстративные белки или рецепторы NK-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек включают, но не ограничиваясь этим, иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR, CD158E1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR2DL1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 2 (KIR2DL2); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 3 (KIR2DL3); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR3DL1); лектинподобный рецептор клеток-

киллеров C1 (KLRC1, NKG2A, CD159A); и лектинподобный рецептор клеток-киллеров D1 (KLRD1, CD94).

[0249] В некоторых вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более агонистами или активаторами одного или более белков или рецепторов NK-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек. Иллюстративные белки или рецепторы NK-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек включают, но не ограничиваясь этим, CD16, CD226 (DNAM-1); CD244 (2B4, SLAMF4); лектинподобный рецептор клеток-киллеров K1 (KLRK1, NKG2D, CD314); член 7 семейства SLAM (SLAMF7). См., например, Davis, et al., Semin Immunol. (2017) 31:64–75; Fang, et al., Semin Immunol. (2017) 31:37-54; и Chiossone, et al., Nat Rev Immunol. (2018) 18(11):671-688).

Ингибиторы цитотоксического Т-лимфоцит-ассоциированного белка 4 (CTLA4)

[0250] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более ингибиторов цитотоксического Т-лимфоцит-ассоциированного белка 4 (CTLA4) (CD152; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 1493). Примеры ингибиторов CTLA4, которые можно вводить совместно, включают, без ограничения, ипилимумаб, тремелимумаб, BMS-986218, AGEN1181, AGEN1884, AGEN2041, BMS-986249, MK-1308, REGN-4659, ADU-1604, CS-1002, BCD-145, APL-509, JS-007, BA-3071, ONC-392, JHL-1155, KN-044, CG-0161, ATOR-1144, PBI-5D3H5, BPI-002, беталасепт, PSI-001, PRS-010, JHL-1155, а также полиспецифические ингибиторы FPT-155 (CTLA4/PD-L1/CD28), PF-06936308 (PD-1/CTLA4), MGD-019 (PD-1/CTLA4), KN-046 (PD-1/CTLA4), MEDI-5752 (CTLA4/PD-1), XmAb-20717 (PD-1/CTLA4) и AK-104 (CTLA4/PD-1).

Ингибиторы PD-L1 (CD274) или PD-1 (PDCD1; CD279)

[0251] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более ингибиторами лиганда 1 программируемой клеточной гибели 1 (PD-L1; CD274; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 29126) ингибитор белка программируемой клеточной гибели 1 (PD-1; PDCD1; CD279; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 5133). Примеры ингибиторов PD-L1 (CD274) или PD-1 (PDCD1), которые можно комбинировать или вводить совместно, включают, без ограничения, зимберелимаб (AB122), пембролизумаб, ниволумаб, цемиплимаб, пидилизумаб, AMP-224, MEDI0680 (AMP-514), спартализумаб, атезолизумаб, авелумаб, (MSB0010718C), ASC22, дурвалумаб, ALN-PDL, BMS-936559, CK-301, PF-06801591, BGB-108, BGB-A317 (тислелизумаб), GLS-010 (WBP-3055), AK-103 (HX-008), GB-226, AK-105, CS-1003, HLX-10, MGA-012, BI-754091, PDR-001, AGEN-2034, JS-001 (торипалимаб), JNJ-63723283, генолимзумаб (CBT-501), LZM-009, BCD-100, LY-3300054, SHR-1201,

SHR-1210 (камрелизумаб), Sym-021, ABBV-181, PD1-PIK, BAT-1306, RO-6084 (антисмысловый олигонуклеотид PD-L1), STI-1110, GX-P2, RG-7446, mDX-400, CX-072, CBT-502, TSR-042 (достарлимаб), MSB-2311, JTX-4014, BGB-A333, SHR-1316, CS-1001 (WBP-3155), MEDI-0680, энвафолимаб (KN-035), KD-033, KY-1003, IBI-308 (синтилимаб), HLX-20, KL-A167, STI-A1014, STI-A1015 (IMC-001), BCD-135, FAZ-053, TQB-2450, MDX1105-01, MSB-0010718C, GS-4224, GS-4416, INCB086550, MAX10181, а также полиспецифические ингибиторы FPT-155 (CTLA4/PD-L1/CD28), PF-06936308 (PD-1/ CTLA4), MGD-013 (PD-1/LAG-3), FS-118 (LAG-3/PD-L1) MGD-019 (PD-1/CTLA4), KN-046 (PD-1/CTLA4), MEDI-5752 (CTLA4/PD-1), RO-7121661 (PD-1/TIM-3), XmAb-20717 (PD-1/CTLA4), AK-104 (CTLA4/PD-1), M7824 (домен PD-L1/TGFβ-EC), CA-170 (PD-L1/VISTA), CDX-527 (CD27/PD-L1), LY-3415244 (TIM3/PDL1), GNS-1480 (антагонист рецептора эпидермального фактора роста; Ингибитор программируемой клеточной гибели 1), M-7824 (бифункциональный слитый белок PD-L1/TGF-β bifunctional fusion protein) и INBRX-105 (4-1BB/PDL1).

[0252] Примеры ингибиторов PD-1, которые можно комбинировать или совместно вводить дополнительно, включают соединения, описанные в WO2017112730 (Incyte Corp), WO2017087777 (Incyte Corp), WO2017017624, WO2014151634 (BristolMyers Squibb Co), WO201317322 (BristolMyers Squibb Co), WO2018119286 (Incyte Corp), WO2018119266 (Incyte Corp), WO2018119263(Incyte Corp), WO2018119236 (Incyte Corp), WO2018119221(Incyte Corp), WO2018118848 (BristolMyers Squibb Co), WO20161266460(BristolMyers Squibb Co), WO2017087678 (BristolMyers Squibb Co), WO2016149351 (BristolMyers Squibb Co), WO2015033299 (Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2015179615(Eisai Co Ltd; Eisai Research Institute), WO2017066227(BristolMyers Squibb Co), WO2016142886 (Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2016142852(Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2016142835 (Aurigene Discovery Technologies Ltd; Individual), WO2016142833 (Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2018085750 (BristolMyers Squibb Co), WO2015033303 (Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2017205464 (Incyte Corp), WO2016019232 (3M Co; Individual; Texas A&M University System), WO2015160641 (BristolMyers Squibb Co), WO2017079669 (Incyte Corp), WO2015033301 (Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2015034820 (BristolMyers Squibb Co), WO2018073754 (Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2016077518 (BristolMyers Squibb Co), WO2016057624 (BristolMyers Squibb Co), WO2018044783 (Incyte Corp), WO2016100608 (BristolMyers Squibb Co), WO2016100285 (BristolMyers Squibb Co), WO2016039749 (BristolMyers Squibb Co), WO2015019284 (Cambridge Enterprise Ltd), WO2016142894 (Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2015134605 (BristolMyers Squibb Co), WO2018051255 (Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2018051254 (Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2017222976 (Incyte Corp), WO2017070089 (Incyte Corp), WO2018044963 (BristolMyers Squibb Co), WO2013144704 (Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2018013789 (Incyte Corp), WO2017176608 (BristolMyers Squibb Co), WO2018009505 (BristolMyers Squibb Co), WO2011161699 (Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2015119944 (Incyte Corp; Merck Sharp & Dohme Corp), WO2017192961 (Incyte Corp), WO2017106634 (Incyte Corp), WO2013132317 (Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2012168944 (Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2015036927 (Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2015044900 (Aurigene Discovery Technologies Ltd), WO2018026971 (Arising International).

[0253] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более белковыми ингибиторами (например, антитела или его фрагмента или миметики антител) PD-L1 (CD274), PD-1 (PDCD1) или CTLA4. В некоторых вариантах осуществления один или более ингибиторов иммунных контрольных точек включают малые органические молекулы ингибитора PD-L1 (CD274), PD-1 (PDCD1) или CTLA4. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный ингибитор CD274 или PDCD1 выбран из группы, состоящей из GS-4224, GS-4416, INCB086550 и MAX10181. Дополнительные примеры ингибиторов PD-L1 малой молекулы включают описанные в публикации США №№ US2018305315 (Gilead Sciences), US2020017471 (Gilead Sciences) and US2019270727 (Gilead Sciences). В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный ингибитор CTLA4 включает BPI-002.

Ингибиторы Т-клеточного иммунорецептора с доменами Ig и ITIM (TIGIT)

[0254] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более ингибиторами иммунорецептора Т-клеток с доменами Ig и ITIM (TIGIT) (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 201633). Примеры антител к TIGIT, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают этилиимаб, BMS-986207, тираголумаб (также известный как MTIG-7192A; RG-6058; RO 7092284), AGEN1307, AGEN1327, AGEN1777, COM-902, IBI-939, AB154, MG1131 и EOS884448 (EOS-448).

Агонисты или активаторы членов суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF)

[0255] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более агонистами одного или более членов суперсемейства TNF-рецепторов (TNFRSF), например, агонистом одного или более из TNFRSF1A (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7132), TNFRSF1B (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7133), TNFRSF4 (OX40, CD134; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 7293), TNFRSF5 (CD40; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 958), TNFRSF6 (FAS, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 355), TNFRSF7 (CD27, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 939), TNFRSF8 (CD30, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 943), TNFRSF9 (4-1BB, CD137, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3604), TNFRSF10A (CD261, DR4, TRAILR1, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8797), TNFRSF10B (CD262, DR5, TRAILR2, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8795), TNFRSF10C (CD263, TRAILR3, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8794), TNFRSF10D (CD264, TRAILR4, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8793), TNFRSF11A (CD265, RANK, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8792), TNFRSF11B (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4982), TNFRSF12A (CD266, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 51330), TNFRSF13B (CD267,

идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 23495), TNFRSF13C (CD268, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 115650), TNFRSF16 (NGFR, CD271, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 4804), TNFRSF17 (BCMA, CD269, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 608), TNFRSF18 (GITR, CD357, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8784), TNFRSF19 (идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 55504), TNFRSF21 (CD358, DR6, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 27242), и TNFRSF25 (DR3, идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 8718).

[0256] Примеры антител к TNFRSF4 (OX40), которые можно комбинировать или вводить совместно, включают, без ограничения, MEDI6469, MEDI6383, MEDI0562 (таволиксизумаб), MOXR0916, PF-04518600, RG-7888, GSK-3174998, INCAGN1949, BMS-986178, GBR-8383, ABBV-368, и те, которые описаны в WO2016179517, WO2017096179, WO2017096182, WO2017096281 и WO2018089628.

[0257] Примеры антител к TNFRSF5 (CD40), которые можно комбинировать или вводить совместно, включают, без ограничения, RG7876, SEA-CD40, APX-005M и ABBV-428.

[0258] В некоторых вариантах осуществления комбинируют или совместно вводят антитело к TNFRSF7 (CD27) варлилумаб (CDX-1127).

[0259] Примеры антител к TNFRSF9 (4-1BB, CD137), которые можно комбинировать или вводить совместно, включают, без ограничения, урелумаб, утомилумаб (PF-05082566), AGEN-2373 и ADG-106.

[0260] Примеры антител к TNFRSF18 (GITR), которые можно комбинировать или вводить совместно, включают, без ограничения, MEDI1873, FPA-154, INCAGN-1876, TRX-518, BMS-986156, MK-1248, GWN-323 и антитела, описанные в WO2017096179, WO2017096276, WO2017096189 и WO2018089628. В некоторых вариантах осуществления совместно вводят антитело или его фрагмент, нацеленные на TNFRSF4 (OX40) и TNFRSF18 (GITR). Такие антитела описаны, например, в WO2017096179 и WO2018089628.

Ингибиторы индолеамин-пиррол-2,3-диоксигеназы (IDO1)

[0261] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с одним или более ингибиторами индолеамина 2,3-диоксигеназы 1 (IDO1; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 3620). Примеры ингибиторов IDO1, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают, без ограничений, BLV-0801, эпакадостат, ресминостат, F-001287, GBV-1012, GBV-1028, GDC-0919, индоксимод, NKTR-218, вакцину на основе NLG-919, PF-06840003, производные пиранонафтохинона (SN-35837), SBLK-200802, BMS-986205 и shIDO-ST, EOS-200271, KHK-2455, LY-3381916 и соединения, описанные в US20100015178 (Incyte), US2016137652 (Flexus Biosciences, Inc.), WO2014073738 (Flexus Biosciences, Inc.), и WO2015188085(Flexus Biosciences, Inc.).

Ингибиторы LAG-3 и TIM-3

[0262] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с антителом к TIM-3, таким как TSR-022, LY-3321367, MBG-453, INCAGN-2390. В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с антителом к LAG-3 (активация лимфоцитов), таким как релатлимаб (ONO-4482), LAG-525, MK-4280, REGN-3767, INCAGN2385.

Ингибиторы из белков семейства белков апоптоза (IAP)

[0263] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с ингибитором белка семейства ингибиторов белков апоптоза (IAP). Примеры ингибиторов IAP включают APG-1387.

Ингибиторы тирозинкиназы Брутона (BTK)

[0264] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с ингибитором тирозинкиназы Брутона (BTK, AGMX1, AT, ATK, BPK, IGHD3, IMD1, PSCTK1, XLA; идентификационный номер гена в базе данных NCBI: 695). Примеры ингибиторов BTK включают, без ограничения, (S)-6-амино-9-(1-(бут-2-иноил)пирролидин-3-ил)-7-(4-феноксифенил)-7H-пурин-8(9H)-он, ABBV-105, акалабрутиниб (ACP-196), AC-058, AC-0025, ARQ-531, BMS-986142, дазатиниб, ибрутиниб (PCI-32765, CRA-032765), GDC-0853, PRN-1008, SNS-062, BGB- 3111, CB988, HM71224, KBP-7536, M-2951 (евобрутиниб), M7583, тирабрутиниб (ONO-4059), ML-319, MSC-2364447, PRN-1008, RDX-022, RG-7845, спебрутиниб (CC- 292), TAK-020, TAS-5315, TP-0158, TP-4207, векабрутиниб (SNS-062), ARQ-531, SHR-1459, DTRMWXHS-12 и соединения, описанные в US20140330015 (Ono Pharmaceutical), US20130079327 (Ono Pharmaceutical), и US20130217880 (Ono Pharmaceutical).

Ингибиторы лизиндеметилазы (KDM)

[0265] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с ингибитором лизиндеметилазы (KDM). Примеры ингибиторов KDM5, которые можно комбинировать или совместно вводить, включают, соединения, описанные в WO2016057924 (Genentech/Constellation Pharmaceuticals), US20140275092 (Genentech/Constellation Pharmaceuticals), US20140371195 (Epitherapeutics), US20140371214 (Epitherapeutics), US20160102096

(Epitherapeutics), US20140194469 (Quanticel), US20140171432, US20140213591 (Quanticel), US20160039808 (Quanticel), US20140275084 (Quanticel) и WO2014164708 (Quanticel).

[0266] Примеры ингибиторов KDM1, которые можно комбинировать или вводить совместно, включают соединения, описанные в US9186337B2 (Oryzon Genomics), GSK-2879552, RG-6016 и ORY-2001.

Ингибиторы аргиназы

[0267] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с ингибитором аргиназы. Примеры ингибиторов аргиназы включают CB-1158, C-201 и ресминостат.

Привлекающие натуральные клетки-киллеры (NK) биспецифические и триспецифические активаторы

[0268] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с привлекающим NK-клетки биспецифическим активатором (BiKE) или привлекающим NK-клетки триспецифическим активатором (TriKE) (например, не имеющим Fc) или биспецифическим антителом (например, имеющим Fc) против NK-клеточного активирующего рецептора, например, CD16A, лектиновых рецепторов C-типа (CD94/NKG2C, NKG2D, NKG2E/H и NKG2F), рецепторов натуральной цитотоксичности (NKp30, NKp44 и NKp46), лектин-подобного рецептора C-типа клеток-киллеров (NKp65, NKp80), Fc-рецептора FcγR (который опосредует антителозависимую клеточную цитотоксичность), рецепторов семейства SLAM (например, 2B4, SLAM6 и SLAM7), иммуноглобулиноподобных рецепторов клеток-киллеров (KIR) (KIR-2DS и KIR-3DS), DNAM-1 и CD137 (41BB). Соответственно, биспецифические молекулы, связывающиеся с CD16, могут иметь или не иметь Fc. Иллюстративные привлекающие NK-клетки биспецифические активаторы, которые можно вводить совместно с мишенью CD16 и один или более антигенов, ассоциированных с ВГВ, как описано в настоящем документе. BiKE и TriKE описаны, например, в Felices, et al., Methods Mol Biol. (2016) 1441:333–346; Fang, et al., Semin Immunol. (2017) 31:37-54.

Терапии длительного действия

[0269] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с терапией длительного действия. Энтекавир длительного действия (подкожное депо), имплантаты триофовира длительного действия (TFD и TAF) или подкожное депо. Пример энтекавира длительного действия описан в Henry, *et al*., *Eur J Pharm Sci*. (2019) 136:104958.

Генная терапия и клеточная терапия

[0270] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с помощью схемы генной или клеточной терапии. Генная терапия и клеточная терапия включают, без ограничения, генетическую модификацию для подавления гена; генетические подходы для непосредственного уничтожения инфицированных клеток; инфузия иммунных клеток, предназначенная для замены большей части собственной иммунной системы пациента для усиления иммунного ответа на инфицированные клетки, или активации собственной иммунной системы пациента для уничтожения инфицированных клеток, или поиска и уничтожения инфицированных клеток; генетические подходы для модификации клеточной активности для дальнейшего изменения эндогенного иммунного ответа против инфекции.

Редакторы генов

[0271] Система редактирования генома может быть выбрана из группы, состоящей из: системы CRISPR/Cas9, системы нуклеаз с «цинковыми пальцами», системы TALEN, системы хоминг-эндонуклеаз и системы хоминг-мегануклеаз (например, системы ARCUS); например, удаление кзкДНК посредством целевого расщепления и изменение одного или более вирусных генов вируса гепатита B (ВГВ). Изменение (например, нокаут и/или нокдаун) гена *PreC, C, X, PreSI, PreS2, S, P* или *SP* ген относится к (1) уменьшению или устранению экспрессии гена*PreC, C, X, PreSI, PreS2, S, P* или *SP*, (2) перекрытию предкапсидо, капсидом, белком X, белком большой поверхности, белком средней поверхности, белком S (также известным как антиген HBs и HBsAg), белком полимеразы и/или функцией сплайсированного белка гепатита B (HBe, HBc, HBx, PreS1, PreS2, S, Pol и/или HBSP) или (3) уменьшению или устранению внутриклеточного, сывороточного и/или интрапаренхиматозного уровней белков HBe, HBc, HBx, LHB, MHB, SHB, Pol и/или HBSP. Нокдаун одного или более из генов PreC, C, X, PreSI, PreS2, S, P и/или SP осуществляют путем нацеливания на ген(-ы) внутри кзкДНК ВГВ и/или объединенной ДНК ВГВ. Дополнительные примеры систем редактирования генома включают, но не ограничиваются описанными в US2019284543 (Gilead Sciences) и US2019338263 (Gilead Sciences).

[0272] Примеры генной терапии, такой как нацеленная на печень генная терапия против ВГВ (с применением технологии ARCUS) или с применением технологии редактирования гена CRISPR/Cas9 или EBT-106 (нуклеазы CRISPR/CasX, доставляемой LNP).

Терапия CAR-T-клетками

[0273] Терапия CAR-T-клетками включает популяцию иммунных эффекторных клеток, сконструированных для экспрессии химерного антигенного рецептора (CAR), при этом CAR включает домен, связывающий антиген ВГВ. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен представляет собой домен, описанный в настоящем документе. В определенных вариантах осуществления антигенсвязывающий домен отличается от описанного в настоящем документе домена. В некоторых вариантах осуществления антиген представляет собой HBsAg (т. е. HbsAg-CART). Иммунная эффекторная клетка представляет собой Т-клетку или NK-клетку. В некоторых вариантах осуществления Т-клетка представляет собой CD4+ Т-клетку, CD8+ Т-

клетку, NK-клетку или их комбинацию. Клетки могут быть аутологичными или аллогенными. Пример CART, направленной на ВГВ, описан в Kruse, *et al., Cytotherapy*. (2018) 20(5):697-705.

Терапия TCR-T-клетками

[0274] Терапия TCR-T-клетками включает Т-клетки, экспрессирующие HBV-специфические рецепторы Т-клеток. TCR-T-клетки сконструированы для нацеливания на пептиды, производные от ВГВ, презентированные на поверхности инфицированных вирусом клеток. Пример TCR, направленной на ВГВ, описан в Wisskirchen, *et al., J Clin Invest*. (2019) 129(7):2932-2945.

[0275] Терапия TCR-T-клетками включает Т-клетки, экспрессирующие поверхностный антиген ВГВ (HBsAg)-специфический TCR, такой как IMC-I109 V.

[0276] Терапия TCR-T-клетками включает терапию TCR-T, направленную на лечение ВГВ, например LTCR-H2-1.

[0277] В различных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или вводят совместно с ингибитором полимеразы ДНК ВГВ, одним или двумя дополнительными терапевтическими агентами, выбранными из группы, состоящей из: иммуномодуляторов, модуляторов TLR, ингибиторов HBsAg, ингибиторов секреции или сборки HBsAg, терапевтических вакцин против ВГВ, антител к ВГВ, включая антитела к ВГВ, нацеленные на поверхностные антигены вируса гепатита В и биспецифические антитела и «антителоподобные» терапевтические белки (например, DARTs®, DUOBODIES®, BITES®, XmAbs®, TandAbs®, производные Fab или TCR-подобные антитела), ингибиторы циклофилина, стимуляторы гена 1, индуцируемого ретиноевой кислотой, стимуляторы RIG-I-подобного рецептора, ингибиторы PD-1, ингибиторы PD-L1, ингибиторы аргиназы, ингибиторы PI3K, ингибиторы IDO и стимуляторы NOD2, и один или два дополнительных терапевтических агентов, выбранных из группы, состоящей из: ингибиторов проникновения вируса ВГВ, ингибиторов NTCP, ингибиторов HBx, ингибиторов кзкДНК, антител ВГВ, нацеленных на поверхностные антигены вируса гепатита В, киРНК, агентов для генной терапии на основе миРНК, скшРНК, ингибиторов KDM5 или модуляторов нуклеопротеинов (модуляторов корового или капсидного белка ВГВ).

[0278] В другом конкретном варианте осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с по меньшей мере вторым дополнительным терапевтическим агентом, выбранным из группы, состоящей из: ингибиторов ДНК-полимеразы ВГВ, иммуномодуляторов, модуляторов TLR, ингибиторов HBsAg, терапевтических вакцин ВГВ, антител ВГВ, включая антитела ВГВ, нацеленные на поверхностные антигены вируса гепатита В, биспецифических антител и антителоподобных терапевтических белков (например, DARPin®, анти-pMHC TCR-подобные антитела, DART®, DUOBODY®, BITE®, XmAb®, TandAb®, производные Fab или TCR-подобные антитела), ингибиторов циклофилина, стимуляторов гена 1, индуцируемого

ретиноевой кислотой, стимуляторов RIG-I-подобного рецептора, ингибиторов PD-1, ингибиторов PD-L1, ингибиторов аргиназы, ингибиторов PI3K, ингибиторов IDO и стимуляторов NOD2.

[0279] В другом конкретном варианте осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с по меньшей мере вторым дополнительным терапевтическим агентом, выбранным из группы, состоящей из: ингибиторов ДНК-полимеразы ВГВ, ингибиторов проникновения вируса ВГВ, ингибиторов NTCP, ингибиторов HBx, ингибиторов кзкДНК, антител ВГВ, нацеленных на поверхностный антиген вируса гепатита В, киРНК, миРНК, скшРНК, ингибиторов KDM5 и модуляторов нуклеопротеинов (модуляторов корового или капсидного белка ВГВ).

[0280] В определенных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с соединениями, описанными в публикации США № 2010/0143301 (Gilead Sciences), публикации США № 2011/0098248 (Gilead Sciences), публикации США № 2009/0047249 (Gilead Sciences), публикации США № 8722054 (Gilead Sciences), публикации США № 2014/0045849 (Janssen), публикации США № 2014/0073642 (Janssen), WO2014/056953 (Janssen), WO2014/076221 (Janssen), WO2014/128189 (Janssen), публикации США № 2014/0350031 (Janssen), WO2014/023813 (Janssen), публикации США № 2008/0234251 (Array Biopharma), публикации США № 2008/0306050 (Array Biopharma), публикации США № 2010/0029585 (Ventirx Pharma), публикации США № 2011/0092485 (Ventirx Pharma), US2011/0118235 (Ventirx Pharma), публикации США № 2012/0082658 (Ventirx Pharma), публикации США № 2012/0219615 (Ventirx Pharma), публикации США № 2014/0066432 (Ventirx Pharma), публикации США № 2014/0088085 (Ventirx Pharma), публикации США № 2014/0275167 (Novira Therapeutics), публикации США № 2013/0251673 (Novira Therapeutics), публикации США № 8513184 (Gilead Sciences), публикации США № 2014/0030221 (Gilead Sciences), публикации США № 2013/0344030 (Gilead Sciences), публикации США № 2013/0344029 (Gilead Sciences), US20140275167 (Novira Therapeutics), US20130251673 (Novira Therapeutics). публикации США № 2014/0343032 (Roche), WO2014037480 (Roche), публикации США № 2013/0267517 (Roche), WO2014131847 (Janssen), WO2014033176 (Janssen), WO2014033170 (Janssen), WO2014033167 (Janssen), WO2015/059212 (Janssen), WO2015118057(Janssen), WO2015011281 (Janssen), WO2014184365 (Janssen), WO2014184350 (Janssen), WO2014161888 (Janssen), WO2013096744 (Novira), US20150225355 (Novira), US20140178337 (Novira), US20150315159 (Novira), US20150197533 (Novira), US20150274652 (Novira), US20150259324, (Novira), US20150132258 (Novira), US9181288 (Novira), WO2014184350 (Janssen), WO2013144129 (Roche), US20100015178 (Incyte), US2016137652 (Flexus Biosciences, Inc.), WO2014073738 (Flexus Biosciences, Inc.), WO2015188085(Flexus Biosciences, Inc.), публикации США №. 2014/0330015 (Ono Pharmaceutical), публикации США № 2013/0079327 (Ono Pharmaceutical), публикации США № 2013/0217880 (Ono pharmaceutical), WO2016057924 (Genentech/Constellation Pharmaceuticals), US20140275092 (Genentech/Constellation Pharmaceuticals), US20140371195

(Epitherapeutics) и US20140371214 (Epitherapeutics), US20160102096 (Epitherapeutics), US20140194469 (Quanticel), US20140171432, US20140213591 (Quanticel), US20160039808 (Quanticel), US20140275084 (Quanticel), WO2014164708 (Quanticel), US9186337B2 (Oryzon Genomics), и другими лекарственными средствами для лечения ВГВ, а также их комбинациями.

[0281] В определенных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с 5–30 мг тенофовира алафенамида фумарата, тенофовира алафенамида гемифумарата или тенофовира алафенамида. В определенных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с 5–10; 5–15; 5–20; 5–25; 25–30; 20–30; 15–30; или 10–30 мг тенофовира алафенамида фумарата, тенофовира алафенамида гемифумарата или тенофовира алафенамида. В определенных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с 10 мг тенофовира алафенамида фумарата, тенофовира алафенамида гемифумарата или тенофовира алафенамида. В определенных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с 25 мг тенофовира алафенамида фумарата, тенофовира алафенамида гемифумарата или тенофовира алафенамида. иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, можно комбинировать с агентами, предложенными в настоящем документе, в любой дозировке соединения (например, от 50 мг до 500 мг соединения) так же, как если бы каждая комбинация дозировок была конкретно и индивидуально указана.

[0282] В определенных вариантах осуществления иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, комбинируют или совместно вводят с 100–400 мг тенофовира дисопроксила фумарата, тенофовира дисопроксила гемифумарата или тенофовира дисопроксила. В некоторых вариантах осуществления агент, описанный в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль комбинируют с 100–150; 100–200, 100–250; 100–300; 100–350; 150–200; 150–250; 150–300; 150–350; 150–400; 200–250; 200–300; 200–350; 200–400; 250–350; 250–400; 350–400 или 300–400 мг тенофовира дисопроксила фумарата, тенофовира дисопроксила гемифумарата или тенофовира дисопроксила. В определенных вариантах осуществления агент, описанный в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль комбинируют с 300 мг тенофовира дисопроксила фумарата, тенофовира дисопроксила гемифумарата или тенофовира дисопроксила. В определенных вариантах осуществления агент, описанный в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль

комбинируют с 250 мг тенофовира дисопроксила фумарата, тенофовира дисопроксила гемифумарата или тенофовира дисопроксила. В определенных вариантах осуществления агент, описанный в настоящем документе, или его фармацевтически приемлемую соль комбинируют с 150 мг тенофовира дисопроксила фумарата, тенофовира дисопроксила гемифумарата или тенофовира дисопроксила. иммуногенные полипептиды, полинуклеотиды, кодирующие такие полипептиды, векторы, LNP и иммуногенные композиции, содержащие такие полипептиды или полинуклеотиды, как описано в настоящем документе, можно комбинировать с агентами, предложенными в настоящем документе, в любой дозировке соединения (например, от 50 мг до 500 мг соединения) так же, как если бы каждая комбинация дозировок была конкретно и индивидуально указана.

8. Наборы

[0283] Дополнительно предложен набор, содержащий одну или более единчиных доз одного или более из усеченного полипептида полимеразы ВГВ, одного или более из мутантного полипептида полимеразы ВГВ с делецией, одного или более из слитого белка капсид-sAg, одного или более полинуклеотидов, одного или более векторов или одной или более иммуногенных композиций, как описано в настоящем документе. В некоторых вариантах осуществления набор содержит одну или более единичных доз двух или более усеченных полипептидов полимеразы ВГВ, мутантных полипептидов полимеразы ВГВ с делецией, слитых белков капсид-sAg, полинуклеотидов, векторов или иммуногенных композиций, как описано в настоящем документе.

[0284] В различных вариантах осуществления при необходимости или при желании одна или более единичных доз могут находиться в одном контейнере или в двух или более отдельных контейнерах. В различных вариантах осуществления один или более контейнеров могут быть выбраны из группы, состоящей из флаконов, ампул и предварительно заполненных шприцев.

[0285] В некоторых вариантах осуществления один или более контейнеров содержат один или более полипептидов, один или более полинуклеотидов, один или более векторов или одну или более иммуногенных композиций в водном растворе. В некоторых вариантах осуществления один или более контейнеров содержат один или более полипептидов, один или более полинуклеотидов, один или более векторов или одну или более иммуногенных композиций в виде лиофилизированного препарата.

[0286] При необходимости или при желании одна или более единичных доз могут быть одинаковыми или разными. В некоторых вариантах осуществления набор содержит одну или более единичных доз одного или более вирусных векторов, способных экспрессировать иммуногенные полипептиды. В наборах, содержащих вирусные векторы, единичные дозы могут находиться в диапазоне от около 10^3 до около 10^{12} вирусных фокус-образующих единиц (ФОЕ) или бляшкообразующих единиц (БОЕ) или инфекционных единиц (ИЕ) или вирусных частиц (ВЧ), например, от около 10^4 до около 10^7 вирусных ФОЕ или БОЕ, *например* от около 10^3 до около 10^4, 10^5, 10, 10^7, 10^8, 10^9, 10^{10}, 10^{11} или 10^{12} вирусных ФОЕ, или БОЕ, или ИЕ, или ВЧ.

[0287] В различных вариантах осуществления набор содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих, или один или более векторов, способных к экспрессии, или иммуногенных композиций, содержащих два иммуногенных полипептида, причем иммуногенные

полипептиды содержат: (a) мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 5–14 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 5–14; и (b) слитый белок капсид-sAg ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 38–41.

[0288] В различных вариантах осуществления набор содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих, или один или более векторов, способных к экспрессии, или иммуногенную композицию, содержащую два иммуногенных полипептида, причем иммуногенные полипептиды содержат: (a) мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 13–14 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 13–14; и (b) слитый белок капсид-sAg ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 38–41.

[0289] В различных вариантах осуществления набор содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих, или один или более векторов, способных к экспрессии, или иммуногенную композицию, содержащую два иммуногенных полипептида, причем иммуногенные полипептиды содержат: (a) мутантный полипептид полимеразы ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 13 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 13; и (b) слитный белок капсид-sAg ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности SEQ ID NO: 41 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 41.

[0290] В отношении слитого полипептида капсид-sAg в наборе (например, экспрессируемого от вектора; в иммуногенной композиции), в некоторых вариантах осуществления капсидный полипептид содержит остаток серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, и остаток аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:65 или SEQ ID NO:66. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg содержит остаток изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления полипептид sAg содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 53, остатка изолейцина (I) в аминокислотном положении, соответствующем положению 68, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 125, остатка

пролина (P) в аминокислотном положении, соответствующем положению 127, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 161, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 200, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 210, и остатка лейцина (L) в аминокислотном положении, соответствующем положению 213, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:3 или SEQ ID NO:4. В некоторых вариантах осуществления слитый полипептид капсид-sAg содержит одно или более из остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 12, остатка аспарагина (N) в аминокислотном положении, соответствующем положению 67, остатка валина (V) в аминокислотном положении, соответствующем положению 74, остатка фенилаланина (F) в аминокислотном положении, соответствующем положению 97, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 249, остатка треонина (T) в аминокислотном положении, соответствующем положению 250, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 317, остатка серина (S) в аминокислотном положении, соответствующем положению 318, остатка аргинина (R) в аминокислотном положении, соответствующем положению 326, остатка тирозина (Y) в аминокислотном положении, соответствующем положению 338, остатка глицина (G) в аминокислотном положении, соответствующем положению 363, и остатка аланина (A) в аминокислотном положении, соответствующем положению 372, причем номера положения имеют ссылку на SEQ ID NO:41.

[0291] В некоторых вариантах осуществления набор содержит первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 27–32 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 и 92 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 27–32 и 89–94, например, SEQ ID NO: 29, 89, 90 и 92; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 33–37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична любой из SEQ ID NO: 33–37.

[0292] В некоторых вариантах осуществления набор содержит первый вирусный экспрессионный вектор и второй вирусный экспрессионный вектор, причем: (a) первый вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 29, 89, 90 или 92; и (b) второй вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 37.

[0293] В некоторых вариантах осуществления набор содержит: (a) одну или более единичных доз иммуногенной композиции, как описано выше и в настоящем документе, причем первый и второй вирусные экспрессионные векторы содержат репликационно-дефицитный или репликационно-дефектный маммаренавирус Кали (также известный как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)); и (b) одну или более единичных доз иммуногенной композиции, как описано выше и в настоящем документе, причем первый и второй вирусные экспрессионные векторы содержат репликационно-дефицитный или репликационно-дефектный маммаренавирус лимфоцитарного хориоменингита (LCMV).

[0294] В некоторых вариантах осуществления набор содержит: (a) одну или более единичных доз иммуногенной композиции, как описано выше и в настоящем документе, причем первый и второй вирусные экспрессионные векторы происходят из семейства аденовирусов; и (b) одну или более единичных доз иммуногенной композиции, как описано в настоящем документе и выше, причем первый и второй вирусные экспрессионные векторы происходят из семейства поксвирусов (например, вирус осповакцины, например, модифицированный вирус осповакцины Анкара (MVA)).

[0295] В некоторых вариантах осуществления набор содержит: (a) одну или более единичных доз иммуногенной композиции, как описано выше и в настоящем документе, причем первый и второй вирусные экспрессионные векторы происходят из семейства аренавирусов; и (b) одну или более единичных доз иммуногенной композиции, как описано выше и в настоящем документе, причем первый и второй вирусные экспрессионные векторы происходят из семейства аденовирусов.

[0296] В некоторых вариантах осуществления набор содержит: (a) одну или более единичных доз иммуногенной композиции, как описано выше и в настоящем документе, причем первый и второй вирусные экспрессионные векторы происходят из семейства аренавирусов; и (b) одну или более единичных доз иммуногенной композиции, как описано в настоящем документе и выше, причем первый и второй вирусные экспрессионные векторы происходят из семейства поксвирусов (например, вирус осповакцины, например, модифицированный вирус осповакцины Анкара (MVA)).

[0297] В некоторых вариантах осуществления набор содержит первый экспрессионный вектор аренавируса LCMV и второй экспрессионный вектор аренавируса LCMV, причем: (a) первый экспрессионный вектор аренавируса LCMV содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 29 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 29; и (b) второй экспрессионный вектор аренавируса LCMV содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 37.

[0298] В некоторых вариантах осуществления набор содержит первый экспрессионный вектор аренавируса Пичинде и второй экспрессионный вектор аренавируса Пичинде, причем: (a) первый экспрессионный вектор аренавируса Пичинде содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 90 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 90; и (b) второй экспрессионный вектор аренавируса Пичинде содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична SEQ ID NO: 37.

[0299] В некоторых вариантах осуществления наборы содержат одну или более единичных доз одного или более дополнительных терапевтических агентов.

[0300] Например, в некоторых вариантах осуществления набор содержит один или более агонистов или активаторов одного или более Toll-подобных рецепторов (TLR). В различных вариантах осуществления агонист или активатор TLR выбран из группы, состоящей из агониста TLR2, агониста TLR3, агониста TLR4, агониста TLR5, агониста TLR7, агониста TLR8 и агониста TLR9. В некоторых вариантах осуществления агонист TLR7 выбран из группы, состоящей из GS 9620 (везатолимода), R848 (резиквимода), DS-0509, LHC-165 и TMX-101 (имиквимода), и/или при этом агонист TLR8 выбран из группы, состоящей из GS-9688, R848 (резиквимода) и NKTR-262 (двойного агониста TLR7/TLR8).

[0301] В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или более агонистов рецептора интерлейкина рецептора интерлейкина, выбранного из IL-2, IL-7, IL-12 и IL-15. В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или более цитокинов, выбранных из группы, состоящей из IL-2, IL-7, IL-12, IL-15 и их вариантов.

[0302] В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или более врожденных активаторов иммунитета. В различных вариантах осуществления один или более врожденных активаторов иммуннитета содержат агонист рецептора, выбранный из группы, состоящей из fms-подобной тирозинкиназы 3 (FLT3), рецептора стимулятора генов интерферона (STING), DExD/H-бокс хеликазы 58 (DDX58; также известной как RIG-I), нуклеотидсвязывающего олигомеризационного домена, содержащего белок 2 (NOD2). В некоторых вариантах осуществления набор содержит одну или более единичных доз GS-3583 и/или GS-9992.

[0303] В некоторых вариантах осуществления наборы содержат один или более антагонистов или ингибиторов белка или рецептора ингибирующих иммунных контрольных точек и/или один или более активаторов или агонистов белка или рецептора стимулирующих иммунных контрольных точек. В различных вариантах осуществления один или более белков или рецепторов иммунных контрольных точек выбраны из группы, состоящей из следующего: CD27, CD70; CD40, CD40LG; CD47, CD48 (SLAMF2), содержащий трансмембранный и иммуноглобулиновый домен белок 2 (TMIGD2, CD28H), CD84 (LY9B, SLAMF5), CD96, CD160, MS4A1 (CD20), CD244 (SLAMF4); CD276 (B7H3); ингибитор 1 активации Т-клеток, содержащий вариабельный

иммуноглобулиноподобный домен (VTCN1, B7H4); V-set домен-содержащий иммунорегуляторный рецептор (VSIR, B7H5, VISTA); член 11 суперсемейства иммуноглобулинов (IGSF11, VSIG3); лиганд 1 рецептора цитотоксичности натуральных клеток-киллеров 3 (NCR3LG1, B7H6); HERV-H LTR-ассоциированный белок 2 (HHLA2, B7H7); индуцибельный костимулятор Т-клеток (ICOS, CD278); лиганд индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOSLG, B7H2); члена 4 суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF4, OX40); члена 4 суперсемейства TNF (TNFSF4, OX40L); TNFRSF8 (CD30), TNFSF8 (CD30L); TNFRSF10A (CD261, DR4, TRAILR1), TNFRSF9 (CD137), TNFSF9 (CD137L); TNFRSF10B (CD262, DR5, TRAILR2), TNFRSF10 (TRAIL); TNFRSF14 (HVEM, CD270), TNFSF14 (HVEML); CD272 (ассоциированный с B- и Т-лимфоцитами белок (BTLA)); TNFRSF17 (BCMA, CD269), TNFSF13B (BAFF); TNFRSF18 (GITR), TNFSF18 (GITRL); последовательность A, родственная полипептиду MHC класса I (MICA); последовательность B, родственная полипептиду MHC класса I (MICB); CD274 (CD274, PDL1, PD-L1); белок программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1, PD1, PD-1); ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA4, CD152); CD80 (B7-1), CD28; молекулы клеточной адгезии-2 нектин (NECTIN2, CD112); CD226 (DNAM-1); молекула клеточной адгезии рецептора полиовируса (PVR) (PVR, CD155); родственный PVR белок, содержащий иммуноглобулиновый домен, (PVRIG, CD112R); Т-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITIM (TIGIT); белок-4, содержащий домен иммуноглобулина Т-клеток и домен муцина (TIMD4; TIM4); клеточный рецептор 2 вируса гепатита A (HAVCR2, TIMD3, TIM3); галектин 9 (LGALS9); белок гена активации лимфоцитов 3 (LAG3, CD223); член 1 семейства сигнальных лимфоцит-активирующих молекул (SLAMF1, SLAM, CD150); антиген лимфоцита 9 (LY9, CD229, SLAMF3); член 6 семейства SLAM (SLAMF6, CD352); член 7 семейства SLAM (SLAMF7, CD319); Ul16-связывающий белок 1 (ULBP1); UL16-связывающий белок 2 (ULBP2); UL16-связывающий белок 3 (ULBP3); ранний транскрипт ретиноевой кислоты 1E (RAET1E; ULBP4); ранний транскрипт ретиноевой кислоты 1G (RAET1G; ULBP5); ранний транскрипт ретиноевой кислоты 1L (RAET1L; ULBP6); белок гена активации лимфоцитов 3 (CD223); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR, CD158E1); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C1 (KLRC1, NKG2A, CD159A); лектинподобный рецептор клеток-киллеров K1 (KLRK1, NKG2D, CD314); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C2 (KLRC2, CD159c, NKG2C); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C3 (KLRC3, NKG2E); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C4 (KLRC4, NKG2F); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR2DL1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 2 (KIR2DL2); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 3 (KIR2DL3); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR3DL1); лектинподобный рецептор клеток-киллеров D1 (KLRD1); и член 7 семейства SLAM (SLAMF7).

[0304] В некоторых вариантах осуществления наборы содержат один или более блокаторов или ингибиторов одного или более белков или рецепторов Т-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек. В различных вариантах осуществления блокаторы или ингибиторы одного или более белков или рецепторов Т-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек выбраны из

группы, состоящей из следующего: CD274 (CD274, PDL1, PD-L1); лиганд 2 белка программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1LG2, PD-L2, CD273); белок программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1, PD1, PD-1); ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами белок 4 (CTLA4, CD152); CD276 (B7H3); ингибитор 1 активации Т-клеток, содержащий вариабельный иммуноглобулиноподобный домен (VTCN1, B7H4); V-set домен-содержащий иммунорегуляторный рецептор (VSIR, B7H5, VISTA); член 11 суперсемейства иммуноглобулинов (IGSF11, VSIG3); TNFRSF14 (HVEM, CD270), TNFSF14 (HVEML); CD272 (ассоциированный с B- и Т-лимфоцитами белок (BTLA)); родственный PVR белок, содержащий иммуноглобулиновый домен, (PVRIG, CD112R); Т-клеточный иммунорецептор с доменами Ig и ITIM (TIGIT); белок гена активации лимфоцитов 3 (LAG3, CD223); клеточный рецептор 2 вируса гепатита A (HAVCR2, TIMD3, TIM3); галектин 9 (LGALS9); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR, CD158E1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR2DL1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 2 (KIR2DL2); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 3 (KIR2DL3); и иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR3DL1).

[0305] В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или более агонистов или активаторов одного или более белков или рецепторов Т-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек. В различных вариантах осуществления агонисты или активаторы одного или более белков или рецепторов Т-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек выбраны из группы, состоящей из CD27, CD70; CD40, CD40LG; индуцибельный костимулятор Т-клеток (ICOS, CD278); лиганд индуцибельного костимулятора Т-клеток (ICOSLG, B7H2); члена 4 суперсемейства рецепторов TNF (TNFRSF4, OX40); члена 4 суперсемейства TNF (TNFSF4, OX40L); TNFRSF9 (CD137), TNFSF9 (CD137L); TNFRSF18 (GITR), TNFSF18 (GITRL); CD80 (B7-1), CD28; молекулы клеточной адгезии-2 нектин (NECTIN2, CD112); CD226 (DNAM-1); молекулы клеточной адгезии рецептора полиовируса (PVR) (PVR, CD155). В некоторых вариантах осуществления набор содержит одну или более единичных доз AGEN-2373 и/или AGEN-1223.

[0306] В некоторых вариантах осуществления наборы содержат один или более блокаторов или ингибиторов одного или более белков или рецепторов NK-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек. В различных вариантах осуществления белки или рецепторы NK-клеточных ингибирующих иммунных контрольных точек выбраны из группы, состоящей из следующего: иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR, CD158E1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR2DL1); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 2 (KIR2DL2); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, два домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 3 (KIR2DL3); иммуноглобулиноподобный рецептор клеток-киллеров, три домена Ig и длинный цитоплазматический хвост 1 (KIR3DL1); лектинподобный рецептор клеток-киллеров C1 (KLRC1, NKG2A, CD159A); и лектинподобный рецептор клеток-киллеров D1 (KLRD1, CD94).

[0307] В некоторых вариантах осуществления наборы содержат один или более агонистов или активаторов одного или более белков или рецепторов NK-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек. В различных вариантах осуществления белки или рецепторы NK-клеточных стимулирующих иммунных контрольных точек выбраны из CD16, CD226 (DNAM-1); лектинподобный рецептор клеток-киллеров K1 (KLRK1, NKG2D, CD314); и член 7 семейства SLAM (SLAMF7).

[0308] В различных вариантах осуществления наборов один или более ингибиторов иммунных контрольных точек включают белковый ингибитор PD-L1 (CD274), PD-1 (PDCD1) или CTLA4. В некоторых вариантах осуществления белковый ингибитор CTLA4 выбран из группы, состоящей из ипилимумаба, тремелимумаба, BMS-986218, AGEN1181, AGEN1884, BMS-986249, MK-1308, REGN-4659, ADU-1604, CS-1002, BCD-145, APL-509, JS-007, BA-3071, ONC-392, AGEN-2041, JHL-1155, KN-044, CG-0161, ATOR-1144, PBI-5D3H5, FPT-155 (CTLA4/PD-L1/CD28), PF-06936308 (PD-1/CTLA4), MGD-019 (PD-1/CTLA4), KN-046 (PD-1/CTLA4), MEDI-5752 (CTLA4/PD-1), XmAb-20717 (PD-1/CTLA4) и AK-104 (CTLA4/PD-1). В некоторых вариантах осуществления белковый ингибитор PD-L1 (CD274) или PD-1 (PDCD1) выбран из группы, состоящей из зимберелимаба (AB122), пембролизумаба, ниволумаба, цемиплимаба, пидилизумаба, AMP-224, MEDI0680 (AMP-514), спартализумаба, атезолизумаба, авелумаба, ASC22, дурвалумаба, BMS-936559, CK-301, PF-06801591, BGB-A317 (тислелизумаб), GLS-010 (WBP-3055), AK-103 (HX-008), AK-105, CS-1003, HLX-10, MGA-012, BI-754091, AGEN-2034, JS-001 (торипалимаб), JNJ-63723283, генолимзумаба (CBT-501), LZM-009, BCD-100, LY-3300054, SHR-1201, SHR-1210 (камрелизумаб), Sym-021, ABBV-181, PD1-PIK, BAT-1306, (MSB0010718C), CX-072, CBT-502, TSR-042 (достарлимаб), MSB-2311, JTX-4014, BGB-A333, SHR-1316, CS-1001 (WBP-3155, KN-035, IBI-308 (синтилимаб), HLX-20, KL-A167, STI-A1014, STI-A1015 (IMC-001), BCD-135, FAZ-053, TQB-2450, MDX1105-01, FPT-155 (CTLA4/PD-L1/CD28), PF-06936308 (PD-1/CTLA4), MGD-013 (PD-1/LAG-3), FS-118 (LAG-3/PD-L1) MGD-019 (PD-1/CTLA4), KN-046 (PD-1/CTLA4), MEDI-5752 (CTLA4/PD-1), RO-7121661 (PD-1/TIM-3), XmAb-20717 (PD-1/CTLA4), AK-104 (CTLA4/PD-1), M7824 (домен PD-L1/TGFβ-EC), CA-170 (PD-L1/VISTA), CDX-527 (CD27/PD-L1), LY-3415244 (TIM3/PDL1) и INBRX-105 (4-1BB/PDL1). В некоторых вариантах осуществления один или более ингибиторов иммунных контрольных точек включают низкомолекулярный ингибитор CD274 (PDL1, PD-L1), белок программируемой клеточной гибели 1 (PDCD1, PD1, PD-1) или CTLA4. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный ингибитор CD274 или PDCD1 выбран из группы, состоящей из GS-4224, GS-4416, INCB086550 и MAX10181. В некоторых вариантах осуществления низкомолекулярный ингибитор CTLA4 включает BPI-002.

[0309] В различных вариантах осуществления набор содержит один или более противовирусных агентов. Иллюстративные противовирусные агенты, которые могут присутствовать в наборе, включают ламивудин (LAM), адефовира дипивоксил (ADV), энтекавир (ETV), телбивудин (LdT), тенофовира дизопроксил фумарат (TDF), тенофовира алафенамид (TAF или VEMLIDY®) и ледипасвир + софосбувир (HARVONI®). В некоторых вариантах осуществления набор содержит один или более терапевтических агентов, выбранных из группы, состоящей из ингибиторов антигена ВГВ (например, ингибиторов человеческого антигена ВГВ (HBcAg), ингибиторов поверхностного

антигена ВГВ (HBsAg), ингибиторов HBx, ингибиторов антигена ВГВ E), антиген-антител к ВГВ, ингибирующих нуклеиновых кислот, нацеленных на ВГВ (например, антисмыслового олигонуклеотида, короткой интерферирующей РНК (киРНК), ДНК-направленной интерференции РНК (ddRNAi), редакторов генов, нацеленных на ВГВ (например, CRISPR-Cas (например, Cas9, Cas12, Cascade, Cas13), нуклеаз с «цинковыми пальцами», хоминг-эндонуклеаз, хоминг-мегануклеаз (например, aRCUS), синтетических нуклеаз, TALEN), ингибиторов ковалентно замкнутой кольцевой ДНК (кзкДНК) и ингибиторов секреции или сборки HBsAg и ингибиторов проникновения вируса ВГВ.

[0310] При необходимости, может предоставляться связанные с таким контейнером(-ами) уведомление в форме, предписанной правительственным агентством, регулирующим производство, применение или продажу фармацевтических препаратов или биологических продуктов, которое отражает утвержденное агентством по производству, применение или продажу для введения человеку.

ПРИМЕРЫ

[0311] Следующие примеры представлены лишь для иллюстрации, но не для ограничения заявленного изобретения.

Пример 1

Идентификация последовательностей sAg ВГВ, которые индуцируют устойчивые ответы на перекрестные реакции Т-клеток генотипа

[0312] В этом примере идентифицированы почти консенсусные, встречающийся в природе последовательности sAg ВГВ в генотипах A, B, C и D, сгенерированные векторы аденовируса типа 5, кодирующие каждый антиген, и испытаны на интенсивность и перекрестную реактивность генотипа Т-клеток, индуцированных каждым из этих векторов у аутбредных мышей.

[0313] *Выбор близких к консенсусным, встречающихся в природе последовательностей sAg ВГВ.* При выборе конкретной аминокислотной последовательности sAg ВГВ, которую можно применять для терапевтической вакцинации, внимание уделялось последовательности sAg, которая была эффективно экспрессирована и обработана для презентации антигена, при этом также индуцировали Т-клеточные ответы, которые в широком смысле реагируют на диапазон генотипов ВГВ. Хотя консенсусные последовательности или мозаичные антигены могут быть разработаны для попытки улучшения реактивности генотипа Т-клеток, такие последовательности не встречаются в природе и подвержены риску неэффективной экспрессии или плохо обработаны в Т-клеточных эпитопах. Следовательно, были идентифицированы близкие к консенсусным, встречающиеся в природе последовательности sAg ВГВ из генотипов (GT) A, B, C и D. С помощью базы данных последовательностей sAg из 14207 пациентов, инфицированных этими генотипами ВГВ, были сконструированы консенсусные последовательности для каждого генотипа, затем была идентифицирована встречающаяся в природе последовательность sAg, ближайшая к консенсусу, для

каждого генотипа. Встречающиеся в природе, близкие к консенсусным последовательности sAg для генотипов A, B, C и D ВГВ представлены в таблице 1 в виде SEQ ID NO: 1–4 соответственно.

Таблица 1: Встречающиеся в природе, близкие к консенсусным полипептидные последовательности sAg		
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Полипептидная последовательность**
1	A	MENITSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTPVCLGQNSQSPTSNHSPTSCPPICPGY
2	B	MESTTSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGAPTCPGQNLQSPTSNHSPTSCPPICPGY
		LLDYQGMLPVCPLIPGSSTTSTGPCRTCTTPAQGTSMFPSCCCTKPTDGNCTCIPIPSSWAFAKYLWEWAS
3	C	MESTTSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGAPTCPGQNSQSPTSNHSPTSCPPICPGY
4	D	MENITSGFLGPLLVLQAGFFLLTRILTIPQSLDSWWTSLNFLGGTTVCLGQNSQSPTSNHSPTSCPPICPGY

Способы

[0314] Для оценки иммуногенности каждого антигена и оценки перекрестной реактивности генотипа индуцированных Т-клеток в широком диапазоне эпитопов *in vivo* для вакцинации применяли аутбредных мышей из Jackson Laboratories. Аутбредные мыши были получены посредством случайных перекрестных спариваний 160 линий перекрестных рекомбинантных инбредных мышей, и колония поддерживается непрерывными случайными спариваниями, которые предотвращают скрещивание между братьями и смесями. Аутбредные родительские линии были разработаны путем скрещивания восьми уникальных и генетически разнообразных штаммов мыши (A/J, C57BL/6J, 129S1/SvImJ, NOD/ShiLtJ, NZO/HlLtJ, CAST/EiJ, PWK/PhJ и WSB/EiJ). Таким образом, у аутбредных мышей наблюдается разнообразие селекции эпитопа и величины Т-клеточных ответов, присутствующих в высоко разнообразной генетической популяции.

Результаты

[0315] Все четыре встречающихся в природе, близких к консенсусным последовательности sAg ВГВ были устойчиво иммуногенными у аутбредных мышей (Фиг. 1). Индуцированные Т-клетки реагировали на пептиды GT-A, B, C и D sAg ВГВ приблизительно одинаково, демонстрируя превосходную перекрестную реактивность генотипа Т-клеточного ответа. Геометрическое среднее значение ответов было наибольшим для GT-C и GT-D sAg.

Пример 2

Идентификация последовательностей капсида ВГВ и Pol, которые индуцируют устойчивые ответы на перекрестные реакции Т-клеток генотипа

[0316] В этом примере были идентифицированы близкие к консенсусным, встречающиеся в природе последовательности капсида ВГВ и полимеразы ВГВ (Pol) в генотипах A, B, C и D, сгенерированные векторы экспрессии аденовируса 5, кодирующие антигены Pol или слитые белки

капсид-Pol, и испытаны на интенсивность и перекрестную реактивность генотипа Т-клеток, индуцированных у инбредных и аутбредных животных.

[0317] *Выбор бзизких к консенсусным, встречающихся в природе последовательностей капсид и Pol ВГВ*. При выборе конкретной аминокислотной последовательности антигенов капсида и Pol ВГВ, которую можно применять для терапевтической вакцинации, внимание уделялось последовательностям капсида и Pol, которые были эффективно экспрессированы и обработаны для презентации антигена, при этом также индуцировали Т-клеточные ответы, которые в широком смысле реагируют на диапазон генотипов ВГВ. Хотя консенсусные последовательности или мозаичные антигены могут быть разработаны для попытки улучшения реактивности генотипа Т-клеток, такие последовательности не встречаются в природе и подвержены риску неэффективной экспрессии или плохо обработаны в Т-клеточных эпитопах. Следовательно, были идентифицированы близкие к консенсусным, встречающиеся в природе последовательностях капсида и Pol ВГВ из генотипов A, B, C и D. С помощью базы данных последовательностей ядра из 5528 индивидуумов, инфицированных генотипами A-D ВГВ, и последовательностей Pol из 4713 пациентов, инфицированных A-D ВГВ, были сконструированы консенсусные последовательности для капсида и Pol для каждого генотипа, затем были идентифицированывстречающиеся в природе последовательности капсида и Pol, наиболее близкие к консенсусным, для каждого генотипа.

[0318] Затем были модифицированы последовательности GT-A, B, C и D Pol для улучшения характеристик антигена. Ферментативная активность полимераз может индуцировать токсичность при сверхэкспрессировании, поэтому ферментативная активность доменов обратной транскриптазы (RT) и РНазы H (RNH) удалялась мутациями в каталитических доменах. Мотив YMDD в RT был мутирован в YMHD, а мотив AELL в RNH был мутирован в AHLL (Radziwill, *et al., j Virol*. (1990) 64(2):613-20). Полученные последовательности Pol называются Pol^{мут}. Последовательности Pol^{мут} для генотипов A, B, C и D ВГВ представлены в таблице 2 в виде SEQ ID NO: 52–55 соответственно.

Таблица 2 — Полипептидная последовательность Pol^{мут}

SEQ ID NO:	Генотип ВГВ	Полипептидная последовательность — Мотивы, содержащие инактивирующие мутации в Pol, подчеркнуты (YMDD, мутировавший в YMHD, AELL, мутировавший в AHLL)
52	A	MPLSYQHFRKLLLLDDETEAGPLEEELPRLADEDLNRRVAEDLNLGNLNVSIPWTH KVGNFTGLYSSTVPIFNPEWQTPSFPKIHLHEDIANRCQQFVGPLTVNEKRRLRLIMP ARFYPNSTKYLPLDKGIKPYYPDHVVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTRSASF CGSPYSWEQELHHGRLVIKTSQRHGDEPFCSQPSGILSRSSVGPCIRSQFKQSRLGLQ PHQGPLATSQSGRSGSIRARVHSPTRRCFGVEPSGSGHIGHSASSSSSCLHQSAVRKA AYSHLSTSKRQSSSGHAVEFHSFPPSSARSQSQGPVFSCWWLQFRNTQPCSKYCLSH LVNLLEDWGPCDEHGEHHIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTAESRLVVDFSQFSRG ITRVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHIPLHPAAMPHLLVGSSGLS RYVARLSSNSRIHNNQHGTLQNLHDSCSRQLYVSLMLLYKTYGRKLHLYSHPIILGF RKIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVRRAFPHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHLESLYTA VTNFLLSLGIHLNPNKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTLPQDHIVQKIKHCFRKLPINR PIDWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQAKQAFTFSPTYKAFLSKQYLN LYPVARQRPGLCQVFADATPTGWGLAIGHQRMRGTFVAPLPIHTAHLLAACFARSR SGAKLIGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCTANWILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRLG LYRPLLRLPYRPTTGRTSLYAVSPSVPSHLPVRVHFASPLHVAWRPP

Таблица 2 — Полипептидная последовательность Pol^{мут}		
SEQ ID NO:	**Генотип ВГВ**	**Полипептидная последовательность — Мотивы, содержащие инактивирующие мутации в Pol, подчеркнуты (YMDD, мутировавший в YMHD, AELL, мутировавший в AHLL)**
53	B	MPLSYQHFRKLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNLGNLNVSIPWTHKV GNFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSFPHIHLQEDIINRCQQYVGPLTVNEKRRLKLIMPAR FYPNLTKYLPLDKGIKPYYPEHVVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRESTRSASFCGS PYSWEQDLQHGRLVFQTSKRHGDKSFCPQSPGILPRSSVGPCIQNQLRKSRLGPQPA QGQLAGRQQGGSGSIRARVHPSPWGTVGVEPSGSGHIHNCASNSSSCLHQSAVRKA AYSHISTSKGHSSSGHAVELHHFPPSSSRSQSQGPVLSCWWLQFRNSEPCSEYCLCHI VNLIEDWGPCTEHGEHRIRTPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDFSQFSRGN TRVSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMPHLLVGSSGLSR YVARLSSNSRIINNQHRTMQNLHDSCSRNLYVSLMLLYKTYGRKLHLYSHPIILGFR KIPMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVRRAFPHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHLESLYAA VTNFLLSLGIHLNPHKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTLPQEHIVQKIKMCFRKLPVN RPIDWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQAKQAFTFSPTYKAFLSKQYL HLYPVARQRPGLCQVFADATPTGWGLAIGHQRMRGAFVSPLPIHTAHLLAACFARS RSGAKLIGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRL GLYRPLLRLLYRPTTGRTSLYADSPSVPSHLPDRVHFASPLHVAWRPP
54	C	MPLSYQHFRKLLLLDDEAGPLEEELPRLADEDLNRRVAEDLNLGNLNVSIPWTHKV GNFTGLYSSTVPVFNPEWQTPSFPHIHLQEDIINRCQQYVGPLTVNEKRRLKLIMPAR FYPNLTKYLPLDKGIKPYYPEHTVNHYFKTRHYLHTLWKAGILYKRETTRSASFCGS PYSWEQELQHGRLVFQTSTRHGDESFCSQSSGILSRSPVGPCIRSQLKQSRLGLQPQQ GSLARSKSGRSGSIRARVHPTTRQSFGVEPSGSGHIDNSASSASSCLHQSAVRKTAYS HLSTSKRQSSSGHAVELHNFPPSSARSQSEGPLLSCWWLQFRNSKPCSDYCLSHIVN LLEDWGPCTEHGEHNIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTTESRLVVDFSQFSRGSTH VSWPKFAVPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMPHLLVGSSGLSRY VARLSSTSRNINYQHGAMQDLHDSCSRNLYVSLLLLYKTFGRKLHLYSHPIILGFRKI PMGVGLSPFLLAQFTSAICSVVRRAFPHCLAFSYM
		HDVVLGAKSVQHLESLFTAVTNFLLSLGIHLNPNKTKRWGYSLNFMGYVIGSWGTL PQEHIVLKIKQCFRKLPVNRPIDWKVCQRIVGLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQA KQAFTFSPTYKAFLCKQYLNLYPVARQRSGLCQVFADATPTGWGLAVGHQRMRGT FVSPLPIHTAHLLAACFARSRSGAKLIGTDNSVVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGT SFVYVPSALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLPFRPTTGRTSLYAVSPSVPSHLPVRVHFA SPLHVAWRPP
55	D	MPLSYQHFRRLLLLDDEAGPLEEELPRLADEGLNRRVAEDLNLGNLNVSIPWTHKV GNFTGLYSSTVPVFNPHWKTPSFPNIHLHQDIIKKCEQFVGPLTVNEKRRLQLIMPAR FYPNVTKYLPLDKGIKPYYPEHLVNHYFQTRHYLHTLWKAGILYKRETTHSASFCG SPYSWEQELQHGAESFHQQSSGILSRPPVGSSLQSKHRKSRLGLQSQQGHLARRQQG RGWSIRAGIHPTARRPFGVEPSGSGHTANLASKSASCLYQSAVRKAAYPVVSTFKKH SSSGHAVELHNLPPNSARSQSERPVFPCWWLQFRNSKPCSDYCLSHIVNLLEDWGPC AEHGEHHIRIPRTPARVTGGVFLVDKNPHNTAESRLVVDFSQFSRGNYRVSWPKFA VPNLQSLTNLLSSNLSWLSLDVSAAFYHLPLHPAAMPHLLVGSSGLSRYVARLSSNS RIFNYQHGTMQNLHDSCSRNLYVSLMLLYQTFGRKLHLYSHPIILGFRKIPMGVGLS PFLLAQFTSAICSVVRRAFPHCLAFSYMHDVVLGAKSVQHLESLFTAVTNFLLSLGIH LNPNKTKRWGYSLHFMGYVIGCYGSLPQDHIIQKIKECFRKLPVNRPIDWKVCQRIV GLLGFAAPFTQCGYPALMPLYACIQSKQAFTFSPTYKAFLCKQYLNLYPVARQRPGL CQVFADATPTGWGLVMGHQRMRGTFKAPLPIHTAHLLAACFARSRSGANILGTDNS VVLSRKYTSFPWLLGCAANWILRGTSFVYVPSALNPADDPSRGRLGLYRPLLRLPFR PTTGRTSLYADSPSVPSHLPDRVHFASPLHVAWRPP

[0319] Затем последовательности Pol^{мут} дополнительно модифицировали для удаления аминокислотных областей, которые являются низкоконсервативными среди штаммов ВГВ и генотипов, для получения последовательностей Pol различной длины для размещения вирусных векторов с различными ограничениями на кодируемый размер антигена и создания слитых белков

капсид-Pol для кодирования двух антигенов с единственной открытой рамкой считывания. Pol состоит из четырех функциональных доменов, конечного белка (TP), спейсера, RT и RNH. Из этих трех, TP, RT и RNH являются высококонсервативными среди штаммов ВГВ и генотипов, и поэтому, вероятно, могут индуцировать перекрестно-реакционноспособные в рамках штамма и генотипа Т-клетки, в то время как домен спейсера имеет высокую вариабельность. Были созданы последовательности GT-A, B, C и D Pol с делециями в области спейсера. В одном наборе последовательностей, обозначенном $Pol^{\Delta 1}$, делеция была основана на ранее сообщенном мутанте делеции, который сохраняет ферментативную функцию *in vitro*, указывая на то, что делеция не нарушает экспрессию, структуру и складывание остального белка (Radziwill, *et al., J Virol.* (1990) 64(2):613-20). Во втором наборе векторов, обозначенном $Pol^{\Delta 3}$, вся низкоконсервативная область была идентифицирована путем выравнивания последовательностей и удалена. Слитые белки капсид-Pol генерировали путем слияния близких к консенсусным последовательностей капсида с последовательностями $Pol^{мут}$, $ол^{\Delta 1}$ и $Pol^{\Delta 3}$ для GT-A, B, C и D. Наконец, для размещения вирусных векторов с меньшими ограничениями упаковок были сконструированы более короткие варианты каждой последовательности инактивированной близкой к консенсусной формы Pol, обозначенной как Pol^{300}. Варианты Pol^{300} имеют большие N-концевые делеции, в которых удалены вся TP и большая часть домена спейсера, но сохраняются домены RT и РНазы (Lanford *et al., J Virol.* (1999);73(3):1885-93). Перечень последовательностей содержащих Pol антигенов, протестированных в векторах аденовируса или аренавируса, представлен в таблице 3 и на Фиг. 2. Последовательности аминокислот, удаленных из каждой конструкции Pol с делецией, представлены в SEQ ID NO: 42–51.

Таблица 3. Последовательности содержащих Pol антигенов	
Полипептидные SEQ ID NO:	**Полипептид**
5–8 для генотипа A–D соответственно	$Pol^{\Delta 1}$
9–12 для генотипа A–D соответственно	$Pol^{\Delta 3}$
13–14 для генотипа B и D соответственно	Pol^{300}
15–18 для генотипа A–D соответственно	Капсид-$Pol^{мут}$
19–22 для генотипа A–D соответственно	Капсид-$Pol^{\Delta 1}$
23–26 для генотипа A–D соответственно	Капсид-$Pol^{\Delta 3}$

Способы

[0320] иммуногенность каждого GT-A, B, C и D капсид-Pol слитой конструкции первоначально тестировали у мышей C57BL/6 для индукции ответов Т-клеток, реакционноспособных с пептидными пулами GT-D капсида и Pol, для идентификации варианта в каждом генотипе, индуцированном наибольшим иммуногенным ответом (Фиг. 3). Во всех генотипах был обнаружен устойчивый ответ Pol, но ответы капсида были более слабыми или отсутствующими. Слабый или отсутствующий ответ капсида, вероятно, приводил к тому, что, как известно, мыши C57BL/6 отвечают только на один пептид из капсида GT-D ВГВ, а именно MGLKFRQL (Chiale, *et al.*, Antiviral Res. 2019 Aug;168:156-167). Ответы на этот пептид у мышей C57BL/6 часто являются слабыми или отсутствуют, и пептид имеет альтернативную последовательность в капсидных последовательностях GT-A, B и C MGLKIRQL.

Результаты

[0321] Все антигенные генотипы продемонстрировали небольшое изменение иммуногенности между капсид-Pol^{мут} и капсид-Pol$^{\Delta 1}$. Антиген GT-A имел повышенный ответ на капсид-Pol$^{\Delta 3}$ по сравнению с капсид-Pol^{мут} и капсид-Pol$^{\Delta 1}$, в то время как все GT-B, C и D продемонстрировали сниженную иммуногенность с капсид-Pol$^{\Delta 3}$.

[0322] Т-клеточные ответы в инбредных мышиных штаммах не являются идеальными для сравнения иммуногенности антигена по разным генотипам, поскольку ответы могут характеризоваться одним или несколькими эпитопами, которые могут варьироваться в последовательности среди антигенов. Для лучшего сравнения иммуногенности антигенов капсид-Pol в генотипах иммуногенность тестировали у аутбредных мышей для получения ответов в широком диапазоне эпитопов. Аутбредных мышей иммунизировали с помощью GT-A капсид-Pol$^{\Delta 3}$ или GT-B, C или D капсид-Pol$^{\Delta 1}$, и Т-клеточные ответы оценивали в отношении ответа IFN-γ ELISPOT с применением пептидных пулов GT-A и GT-D (Фиг. 4). GT-B капсид-Pol$^{\Delta 1}$ дал в целом наилучшие ответы на Pol, причем в равной степени имеются устойчивые ответы ELISPOT на пептидные пулы GT-A и GT-D (Фиг. 4A). Ответы Pol на GT-B капсид-Pol$^{\Delta 1}$ были статистически значимо выше, чем ответы на GT-A капсид-Pol$^{\Delta 3}$ с применением пептидов GT-D и на GT-C капсид-Pol$^{\Delta 1}$ с применением обоих пептидных генотипов. Среднее геометрическое ответов Pol ELISPOT на GT-D капсид-Pol$^{\Delta 1}$ было численно ниже по сравнению с GT-B капсид-Pol$^{\Delta 1}$, но различие не было статистически значимым. Ответы на капсид были четко обнаружены у аутбредных мышей для всех четырех генотипов антигена (Фиг. 4B). Схема ответов капсида аналогична ответам Pol с GT-B капсид-Pol$^{\Delta 1}$, давая в целом наилучшие результаты, хотя для капсида сравнение между генотипами антигена достигало статистической значимости.

Пример 3

Идентификация меньших иммуногенных антигенов Pol

[0323] Различные вирусные векторы имеют разные пределы для максимального размера кодируемых антигенов.

Способы

[0324] Чтобы идентифицировать дополнительные варианты Pol, которые меньше по размеру, и, таким образом, могут применяться в более широком диапазоне векторных систем, была оценена иммуногенность вариантов Pol, экспрессируемых без слияния с капсидом. Мышей C57BL/6 иммунизировали вектором типа аденовируса 5, кодирующим GT-D Pol$^{\Delta 1}$, Pol$^{\Delta 3}$ и Pol^{300} и GT-B Pol^{300} и по сравнению с контрольным вектором, кодирующим полноразмерную немодифицированную GT-D полимеразу (GT-D Pol^{Ctrl}) и имитацию вакцинации фосфатно-солевым буферным раствором (PBS) в качестве отрицательного контроля. Ответы IFN-γ ELISPOT измеряли через 14 суток после иммунизации пептидных пулов GT-D Pol (Фиг. 5).

Результаты

[0325] Все протестированные конструкции Pol антигена были иммуногенными без статистически значимых различий между группами.

Пример 4

Эффективность вакцинации с близкими к консенсусным антигенами в комбинации с антителом к PD-1 в аденоассоциированном вирусе (AAV)-HBV

[0326] Была применена модель аденоассоциированного вируса (AAV)-HBV (Dion, *et al., J Virol*. (2013) 87(10):5554-63; и Yang, *et al., Cell Mol Immunol*. (2014) 11(1):71-8) для определения того, могут ли описанные в настоящем документе конструкции близких к консенсусным антигенов иметь противовирусные эффекты в модели хронической инфекции ВГВ.

Способы

[0327] В этой модели мышей C57BL/6 трансдуцировали с помощью векторов AAV, кодирующим геном GT-D ВГВ длиной 1,2x, что приводило к стойкой продукции белка ВГВ и вирионов в гепатоцитах, сопровождающейся антигенемией и виремией в сыворотке. Гетерологичные вирусные векторы цикла примирование/усиление, состоящие из первичного аденовируса (Ad) и усиливающего буфера поксвируса, продемонстрировали сильные Т-клеточные ответы у людей (*см.*, например, Barnes, *et al., Sci Transl Med*. (2012) 4(115):115ra1; Ewer, *et al., N Engl J Med*. (2016) 374(17):1635-46; Ewer, *et al. Nat Commun*. (2013) 4:2836; Green, *et al., Sci Transl Med*. (2015) 7(300):300ra126; Swadling, *et al., Sci Transl Med*. (2014) 6(261):261ra153), поэтому были созданы векторы осповакцины на основе штамма Западного резерва (NCBI:xid696871), экспрессирующего GT-C sAg и GT-B капсид-Pol$^{\Delta 1}$. Мышей AAV-HBV вакцинировали с помощью первичного Ad5 и стимулирующего вектора осповакцины, кодирующих GT-C sAg и GT-B капсид-Pol$^{\Delta 1}$ или нерелевантных контрольных антигенов бета-галактозидазы и зеленого флуоресцентного белка. Мышам дополнительно вводили моноклональное антитело к PD-1 или антитело изотипического контроля после усиливающей вакцинации. Схема этого исследования эффективности AAV-HBV показана на Фиг. 6, а экспериментальные группы показаны в таблице 4. Контрольная группа получала вакцину ВГВ, но без AAV-HBV, для определения, были ли ответы на вакцину снижены в присутствии устойчивого ВГВ.

Таблица 4

Исследуемые группы в исследовании эффективности AAV-HBV

Группа	N	AAV-HBV	Примирующая	Усиливающая	Антитело
1	12	Y	Ad-β-gal	Vac-GFP	Контрольный изотип
2	12	Y	Ad-sAg GT-C Ad-капсид-pol$^{\Delta 1}$ GT-B	Vac-sAg GT-C Vac-капсид-pol$^{\Delta 1}$ GT-B	Контрольный изотип
3	12	Y	Ad-β-gal	Vac-GFP	анти-PD-1
4	12	Y	Ad-sAg GT-C Ad-капсид-pol$^{\Delta 1}$ GT-B	Vac-sAg GT-C Vac-капсид-pol$^{\Delta 1}$ GT-B	анти-PD-1
5	12	N	Ad-sAg GT-C Ad-капсид-pol$^{\Delta 1}$ GT-B	Vac-sAg GT-C Vac-капсид-pol$^{\Delta 1}$ GT-B	Нет

Ad: Вектор аденовируса 5. Vac: вектор осповакцины. β-gal: бета-галактозидаза. GFP: зеленый флуоресцентный белок.

Результаты

[0328] На Фиг. 7 показаны ответы IFN-γ ELISPOT в каждой группе. Следует отметить, что ответы оценивали с применением пептидных пулов GT-D, соответствующих штамму ВГВ в векторе AAV-HBV, поэтому Т-клеточные ответы обнаруживают только при взаимодействии с вирусом, присутствующим у мышей AAV-HBV. Ответы на капсид тестировали, но ни один из них не был обнаружен в любой группе, что согласуется с низкой иммуногенностью капсида у мышей C57BL/6 (Chiale, *et al*., *выше*). Устойчивые ответы Pol ELISPOT были обнаружены во всех группах, получавших примирование Ad и усиление векторами осповакцины, кодирующими антигены ВГВ. Величина Pol ELISPOT была схожей у мышей AAV-HBV и у контрольных мышей, которые не получали AAV-HBV, что указывает на то, что AAV-HBV не приводит к толерантности Т-клеток к Pol. Напротив, ответы ELISPOT на sAg были значительно снижены у мышей AAV-HBV по сравнению с контрольными мышами, что свидетельствует о том, что AAV-HBV индуцирует толерантность Т-клеток к sAg. Тем не менее, у мышей, которые получали AAV-HBV и примирование аденовирусом и усиление осповакциной, 2–3 мышами на группу было продемонстрировано, что ответы на sAg ELISPOT были выше тех, которые обнаружены у контрольных мышей, вакцинированных контролем. Величины ответа ELISPOT не были изменены путем введения антигена к PD-1.

[0329] Чтобы оценить любые противовирусные эффекты Т-клеток ВГВ, индуцированных вакцинацией, был измерен антиген сыворотки (HBeAg). HBeAg в сыворотке является лучшим маркером опосредованной Т-клеткой противовирусной эффективности, чем HBsAg в сыворотке, поскольку последний может быть снижен путем действия антител к HBsAg, индуцированных вакцинацией. Ни вакцина ВГВ сама по себе, ни антитело к PD-1 не вызывали какое-либо снижение HBeAg в сыворотке по сравнению с мышами, получавшими контрольную вакцину и антитело изотипического контроля. Однако комбинация вакцины против ВГВ и антитела к PD-1 приводила к потере обнаруживаемого HBeAg в сыворотке у 4 из 12 мышей (Фиг. 8). Эти данные демонстрируют, что вакцинация с помощью вирусных векторов, кодирующих описанные в настоящем изобретении улучшенные антигенные последовательности, способствует выведению ВГВ в рамках стратегии комбинированной терапии.

Пример 5

иммуногенность антигенов Pol в аренавирусных векторах

[0330] Были дополнительно улучшены конструкции антигена к ВГВ по настоящему изобретению для применения в аренавирусных векторах. В отличие от векторов аденовируса и большинства других вирусных векторных систем, аренавирусные векторы могут быть многократно введены без индукции нейтрализующих антител к вектору. Кроме того, аренавирусные векторы могут быть получены в нескольких вариантах, отличающихся в отношении исходного вируса, применяемого для получения вектора, например, репликационно-некомпетентного с геномом из двух сегментов (Flatz, *et al., Nat Med*. (2010) 16(3):339-45) или репликационно-аттенуированного с (трехсегментированным) геномом из трех сегментов (Kallert, *et al., Nat Commun*. (2017) 8:15327) (Фиг. 9). Определенные антигены ВГВ экспрессировали в трехсегментированных репликационно-аттенуированных или двухсегментированных репликационно-дефектных аренавирусных платформах с основной цепью вектора маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) или

маммаренавируса Кали (LCMV) (также известного как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде (PICV)). Применяемые репликационно-дефектные аренавирусные векторы описаны в WO 2009/083210. Применяемые репликационно-аттенуированные аренавирусные векторы описаны в WO 2016075250 (LCMV) и WO 2017/198726 (Пичинде).

[0331] Аренавирусные векторы могут принимать антигены приблизительно 500–800 аминокислот в открытой рамке считывания. Таким образом, были протестированы GT-D и GT-B $Pol^{\Delta 1}$ (SEQ ID NO: 6 и 8), $Pol^{\Delta 3}$ (SEQ ID NO: 10 и 12) и Pol^{300} (SEQ ID NO: 13 и 14) на иммуногенность в репликационно-некомпетентных векторах LCMV. Мышей C57BL/6 внутривенно иммунизировали с применением 10^6 фокус-образующих единиц (ФОЕ) репликационно-некомпетентных векторов LCMV, и ответы IFN-γ ELISPOT измеряли на 7-е сутки после иммунизации. Все антигены GT-B и GT-D Pol^{300} индуцировали устойчивые Т-клеточные ответы, в то время как GT-D $Pol^{\Delta 1}$ и $Pol^{\Delta 3}$ вызывали снижение ответов ELISPOT по сравнению с другими конструкциями антигена (Фиг. 10).

Пример 6

Идентификация генетически стабильных репликационно-некомпетентных рецепторов LCMV, кодирующих иммуногенные антигены Pol

[0332] Стабильность различных иммуногенных трансгенов Pol в репликационно-некомпетентных векторах LCMV (VV1) оценивали с помощью полимерной цепной ответы (ПЦР) после последовательного пассирования вектора, содержащего надосадочную жидкость. Генетическая стабильность была определена основной полосой, показывающей правильный размер полноразмерного трансгена (TG). Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6

Сравнительная таблица для оценки генетической стабильности трансгенов Pol

Генотип	Вектор	Стабильная вставка TG до
GT-B	VV1*-$Pol^{\Delta 1}$	P1
GT-B	VV1-$Pol^{\Delta 3}$	P1
GT-B	VV1-Pol^{300}	P5
GT-D	VV1-$Pol^{\Delta 1}$	P1
GT-D	VV1-$Pol^{\Delta 3}$	P1
GT-D	VV1-Pol^{300}	P2

*VV1 обозначает репликационно-некомпетентные векторы LCMV.
«P#» означает число пассажей (например, P1 равно 1 пассажу).

Пример 7

иммуногенность слитых белков капсид-sAg в репликационно-некомпетентных векторах LCMV

[0333] После идентификации стабильных иммуногенных векторов аренавируса, кодирующих Pol ВГВ, была дополнительно исследована серия слитых белков капсид-sAg на иммуногенность в репликационно-некомпетентных векторах LCMV. Слияния капсид-sAg получали путем слияния близкого к консенсусному капсида GT-B и GT-C sAg или капсида GT-D и GT-D sAg с капсидом на N-конце и sAg на C-конце. Ожидается, что прямые слияния будут вызывать Т-клеточные ответы, но могут не индуцировать антитела к sAg, поскольку слитый белок не секретирует sAg. Таким образом, были протестированы дополнительные конструкции антигена с капсидом и sAg, разделенными линкером GSG, а затем с трансляционным участком пропуска 2A, полученным из свиного тешовируса-1 (P2A) (Kim, *et al., PLoS ONE*. (2011) 6: e18556). Эта ориентация даст 21-аминокислотное расширение на C-конце капсида, обеспечивая при этом нормальную секрецию sAg для выявления ответов антител. Идентификационные номера последовательностей для аминокислотных последовательностей антигенов, протестированных в аренавирусных векторах и нуклеотидных последовательностях, применяемых для кодирования антигенов в векторах аренавируса, представлены в таблице 7.

Таблица 7

Последовательности антигенов векторов и генов, кодирующих антиген, применяемые в векторах LCMV

Полинуклеотид SEQ ID NO:	Полипептид SEQ ID NO:	Полипептид
27	6	GT-B $Pol^{\Delta 1}$
28	10	GT-B $Pol^{\Delta 3}$
29	13	GT-B Pol^{300}
30	8	GT-D $Pol^{\Delta 1}$
31	12	GT-D $Pol^{\Delta 3}$
32	14	GT-D Pol^{300}
33	38	GT-B/C капсид-sAg
34	39	GT-B/C капсид-P2A-sAg
35	40	GT-D капсид-sAg
36	41	GT-D капсид-P2A-sAg
37	41	GT-D iCore-P2A-sAg

[0334] Репликационно-некомпетентные векторы LCMV, кодирующие варианты капсид-sAg, тестировали на иммуногенность путем иммунизации мышей C57BL/6 (Фиг. 11). Общее содержание ВГВ-специфичных ответов IFN-γ ELISPOT было неотличимым для всех тестируемых векторов, и включение участка P2A не влияло на ответы ELISPOT для антигенов GT-B/C или GT-D. Ответы и на капсид, и на sAg наблюдали для всех протестированных векторов. Обнаружение ответов капсида

было заметным, поскольку ответы на основе Т-клеток, как правило, были слабыми и сложными для обнаружения в этом мышином штамме (Chiale, *et al.*, *выше*). Аналогичные результаты наблюдались у мышей Balb/c, иммунизированных теми же векторами.

[0335] Ответы на антитело развиваются более медленно, чем Т-клеточные ответы после вакцинации репликационно-некомпетентным вектором LCMV, поэтому дополнительный набор мышей C57BL/6 был иммунизирован, а ответы на антитело измеряли на 17-е сутки после иммунизации (Фиг. 12). Как и ожидалось, прямые слияния капсид-sAg не вызывали ответов на антитело sAg. Среди конструкций, содержащих P2A, только вектор GT-D капсид-P2A-sAg постоянно индуцировал антитела к sAg, тогда как антитела к sAg наблюдали только у одной из пяти мышей, иммунизированных GT-B/C капсид-P2A-sAg. Этот результат был неожиданным, поскольку вестерн-блоты демонстрировали эффективное разделение капсида и sAg как в векторах P2A-sAg GT-D, так и в GT-B/C. Чтобы подтвердить, что различие в ответах на антитела к sAg не было артефактом выбранного штамма мыши, тот же эксперимент был проведен с мышами Balb/c. Результаты у мышей Balb/c были аналогичны результатам у мышей C57BL/6: антитела к sAg были обнаружены у 4 из 5 мышей Balb/C, иммунизированных с помощью GT-D капсид-P2A-sAg, но только 1 из 5 мышей иммунизировали с помощью GT-B/C капсид-P2A-sAg (Фиг. 12).

Пример 8

Идентификация генетически стабильных репликационно-некомпетентных рецепторов LCMV, кодирующих иммуногенные слитые белки капсид-sAg

[0336] Стабильность различных иммуногенных слитых трансгенов капсид-sAg в репликационно-некомпетентных векторах LCMV (VV1) оценивали с помощью ПЦР после последовательного пассирования вектора, содержащего надосадочную жидкость. Генетическая стабильность была определена основной полосой, показывающей правильный размер полноразмерного трансгена (TG). Результаты представлены в таблице 8.

Таблица 8

Сравнительная таблица для оценки генетической стабильности трансгенов капсид-sAg

Генотип	Вектор	Стабильная вставка TG до
GT-B/C	VV1-капсид-sAg	P6
GT-B/C	VV1-капсид-P2A-sAg	P7
GT-D	VV1-капсид-sAg	P4
GT-D	VV1-капсид-P2A-sAg	P2
GT-D	VV1-iCore-P2A-sAg	P6

*VV1 обозначает репликационно-некомпетентные векторы LCMV.
«P#» означает число пассажей (например, P1 равно 1 пассажу).

[0337] GT-D капсид-P2A sAg индуцировали устойчивые Т-клеточные ответы и самые высокие ответы на антитела к sAg тестируемых слитых конструкций капсид-sAg, но не имели благоприятной генетической стабильности в этом анализе. Однако, модифицированный трансген GT-D iCore-P2A-sAg (полинуклеотид SEQ ID NO:37, кодирующий полипептид SEQ ID NO:41) продемонстрировал улучшенную генетическую стабильность в репликационно-некомпетентном векторе LCMV (таблица 8).

[0338] Чтобы подтвердить, что модифицированный трансген не нарушает иммуногенности Т-клеток GT-D iCore-P2A-sAg, мышей C57BL/6 иммунизировали с применением репликационно-некомпетентных векторов LCMV с конструкциями GT-D капсид-P2A-sAg и GT-D iCore-P2A-sAg, или для имитации иммунизации, и Т-клеточные ответы измеряли через 7 суток с помощью IFN-γ ELISPOT (Фиг. 13). Ответы sAg ELISPOT были значительно выше при GT-D iCore-P2A-sAg, а ответы капсида ELISPOT также были более высокими. Таким образом, модифицированный трансген GT-D iCore-P2A-sAg приводил как к улучшенной генетической стабильности, так и к улучшенной иммуногенности.

Пример 9

иммуногенность репликационно-некомпетентных векторов LCMV у аутбредных мышей

[0339] иммуногенность репликационно-некомпетентных векторов LCMV (VV1), кодирующих различные антигены ВГВ, оценивали у аутбредных мышей. Эти мыши имеют более разнообразные аллели MHC, чем инбредные мыши C57BL/6, поэтому лучше подходят для оценки перекрестной реактивности генотипа Т-клеточных ответов, индуцированных вакцинацией.

Способы

[0340] Аутбредных мышей дважды иммунизировали на 0-е сутки и на 28-е сутки с помощью репликационно-некомпетентных векторов LCMV, как указано в таблице 9. Специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы измеряли на 42-е сутки с помощью IFN-γ ELISPOT с применением спленоцитов.

Таблица 9

Исследуемые группы в исследовании иммуногенности

Группа	N	Примирующий вектор — сутки 0	Усиливающий вектор — сутки 28	День отбора	Доза/ вектор
1	8	Имитация	Имитация	42	-
2	8	VV1-GT-B/C капсид-P2A-sAg	VV1-GT-B/C капсид-P2A-sAg	42	10^6 ФОЕ
3	8	VV1-GT-D iCore-P2A-sAg	VV1-GT-D iCore-P2A-sAg	42	10^6 ФОЕ
4	8	VV1-GT-B $Pol^{\Delta 3}$	VV1-GT-B $Pol^{\Delta 3}$	42	10^6 ФОЕ
5	8	VV1-GT-B Pol^{300}	VV1-GT-B Pol^{300}	42	10^6 ФОЕ

Результаты

[0341] Репликационно-некомпетентные векторы LCMV, кодирующие GT-B/C капсид-P2A-sAg и GT-D iCore-P2A-sAg, индуцировали сравнимые Т-клеточные ответы, специфичные для их соответствующего антигена капсида (Фиг. 14A). Вектор, кодирующий GT-D iCore-P2A-sAg, индуцировал более высокую частоту Т-клеток, специфичных для его соответствующего sAg антигена, по сравнению с вектором, кодирующим GT-B/C капсид-P2A-sAg (Фиг. 14A). Вектор, кодирующий GT-B Pol^{300}, индуцировал Т-клеточный ответ, специфичный к антигенам Pol, численно превосходящий вектор, кодирующий GT-B $Pol^{\Delta 3}$ (Фиг. 14B). Таким образом, векторы, кодирующие GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol^{300}, являются более иммуногенными, чем векторы, кодирующие GT-B/C капсид-P2A-sAg и GT-B $Pol^{\Delta 3}$ у аутбредных мышей.

[0342] В дополнение к индукции ответов Т-клеток, специфичных к их распознанным антигенам (т. е. антигены GT-D капсид, GT-D sAg, GT-B Pol), векторы GT-D iCore-sAg и GT-B Pol^{300} также способны генерировать ответы Т-клеток, специфичные к антигенам, полученным из различных вирусных генотипов ВГВ (т. е. антигены GT-B капсид, GT-B sAg, GT-D Pol) (Фиг. 15A и 15B). Таким образом, векторы, кодирующие GT-D iCore-sAg и GT-B Pol^{300}, продуцируют Т-клетки, которые перекрестно реагируют для различных генотипов ВГВ.

Пример 10

иммуногенность репликационно-некомпетентных векторов LCMV, вводимых в качестве одного вектора или совместно составленных, у мышей C57BL/6

[0343] Репликационно-некомпетентные векторы LCMV, кодирующие GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300, иммуногенны у мышей. Затем сравнивали иммуногенность обоих векторов при доставке либо в виде отдельных векторов, либо в виде совместно составленной смеси у мышей C57BL/6.

Способы

[0344] Мышей C57BL/6 дважды иммунизировали на 0-е сутки и на 21-е сутки с помощью репликационно-некомпетентных векторов LCMV, как указано в таблице 10. Специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы измеряли на 28-е сутки с помощью IFN-γ ELISPOT с применением спленоцитов.

Таблица 10

Исследовательские группы в исследовании иммуногенности

Группа	N	Формат вектора	Примирующий вектор — сутки 0	Усиливающий вектор — сутки 21	День отбора	Доза/ вектор
1	5	-	Имитация	Имитация	28	10^6 ФОЕ
2	5	Один вектор	VV1-GT-D iCore_P2A_sAg	VV1-GT-D iCore_P2A_sAg	28	10^6 ФОЕ
3	5	Один вектор	VV1-GT-B Pol^{300}	VV1-GT-B Pol^{300}	28	10^6 ФОЕ
4	5	Совместно составленный	VV1-GT-D iCore_P2A_sAg + VV1-GT-B Pol^{300}	VV1-GT-D iCore_P2A_sAg + VV1-GT-B Pol^{300}	28	10^6 ФОЕ

Результаты

[0345] В соответствии с данными, описанными выше, векторы, кодирующие GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol^{300}, индуцировали ответы Т-клеток, специфичные для sAg, капсида и Pol, при введении в виде одних векторов (Фиг. 16A–16C). Введение тех же векторов в виде совместно составленной смеси индуцировало сопоставимые ответы Т-клеток (Фиг. 16A–16C). Таким образом, комбинация векторов LCMV, кодирующих GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol^{300}, не мешает их иммуногенности у мышей C57BL/6.

Пример 11

иммуногенность репликационно-некомпетентных векторов LCMV у яванских макак.

[0346] Была оценена иммуногенность репликационно-некомпетентных векторов LCMV (VV1) GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol^{300} у яванских макак. Также тестировали Ad5 и векторы осповакцины, кодирующие антигены капсида, sAg и Pol^{300}.

Способы

[0347] Яванских макак иммунизировали с применением различных путей, различных доз и различных графиков иммунизации, как указано в таблице 11. Специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы измеряли с помощью PBMC каждые 2 недели посредством IFN-γ ELISPOT. Внутриклеточный окрашивание цитокинов также проводили на Т-клетках CD4+ и CD8+ на 14-й неделе с помощью проточной цитометрии. Ответы на антитела к sAg количественно определяли каждые 4 недели с помощью ELISA.

Таблица 11

Исследовательские группы в исследовании иммуногенности

Группа	**N**	**Вакцина**	**Доза**	**Путь**	**Схема иммунизации (неделя)**
1	5	VV1-GT-D iCore-P2A-sAg + VV1-GT-B Pol^{300}	$5x10^6$ ФОЕ/вектор	в/м	Каждые 4 недели: 0, 4, 8, 12, 16, 20
2	5		10^8 ФОЕ/вектор	в/м	Каждые 4 недели: 0, 4, 8, 12, 16, 20
3	5		$5x10^6$ ФОЕ/вектор	в/м	Каждые 8 недель: 0, 8, 16, 24
4	5		10^8 ФОЕ/вектор	в/м	Каждые 8 недель: 0, 8, 16, 24
5	5		10^8 ФОЕ/вектор	в/в	Каждые 8 недель: 0, 8, 16, 24
6	5	1. Ad5-GT-D капсид-sAg + Ad5-GT-B Pol^{300} (сутки 0 и 5)	10^{11} ВЧ/вектор	в/м	0 (Ad5), 4 (Ad5), 8 (осповакцина), 12 (осповакцина)

		2. Осповакцина GT-D капсид-sAg + осповакцина GT-B Pol^{300} (сутки 8 и 12)	10^8 БОЕ/вектор		

Результаты

[0348] Общее содержание специфичных к ВГВ Т-клеточных ответов (определенное как сумма капсида, sAg и полимераза-специфических ответов, представленных на Фиг. 18A–18F – 20A–20F) на векторы VV1 GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol^{300} было наибольшим при внутримышечном введении (в/м) и каждые 4 недели (группы 1 и 2) (Фиг. 17A–B). Векторы Ad5 и осповакцины, кодирующие те же антигены, также индуцировали сравнимые Т-клеточные ответы. ВГВ-специфичные иммунные ответы были обнаружены после первой дозы векторов VV1 GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol^{300}, и дозы от двух до четырех индуцированных прогрессирующих повышений величины ВГВ-специфичного ELISPOT. Пятая и шестая дозы не увеличили дополнительно ответы, что указывает на то, что пиковый ответ на векторы по настоящему изобретению был достигнут после четвертой дозы. Средний геометрический ответ к 14-й неделе составлял 1206-SFU/10^6 PBMC у животных, которым вводили полную дозу человека (10^8 ФОЕ, группа 2), и приблизительно в 2 раза ниже при более низкой дозе 5x10^6 ФОЕ (группа 1), указывая на способность к ответу на дозу.

[0349] Чтобы количественно оценить вклад Т-клеток CD4+ и CD8+ в общий Т-клеточный ответ, PBMC животных из групп 1, 2 и 6 анализировали путем внутриклеточного окрашивания цитокинов (ICS) на 14-й неделе исследования, когда Т-клеточные ответы были наиболее высокими. Обе группы 1 и 2 имели повышенные уровни Т-клеток IFN-γ+ CD8+ в ответ на стимуляцию с помощью пептидов ВГВ. Частота коррекции фона этих клеток находилась в диапазоне от 0,8% до 1,9% в группе 1 и от 0,2% до 4% в группе 2 (Фиг. 21A). Напротив, Т-клетки IFN-γ+ CD4+, специфичные к ВГВ, обнаруживались, но составляли менее 0,1% от общего количества Т-клеток CD4+ (Фиг. 21B). Таким образом, Т-клеточный ответ, индуцированный векторами по настоящему изобретению у приматов, отличных от человека, преимущественно состоит из Т-клеток CD8+.

[0350] Антитела к HBsAg также были индуцированы путем введения векторов по настоящему изобретению. Ответы на антиген к sAg увеличивались с уровнем дозы и с повторным введением векторов (Фиг. 22).

Пример 12

иммуногенность репликационно-некомпетентных векторов LCMV в комбинации с иммуномодуляторами у мышей C57BL/6

[0351] Была оценена иммуногенность репликационно-некомпетентных векторов LCMV (VV1) GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300 отдельно или в комбинации с различными иммуномодуляторами (анти-PD-1, анти-CTLA-4 и анти-CD137 и лиганд FLT3) в мышиной модели AAV-HBV.

Способы

[0352] Мышам AAV-HBV C57BL/6 вводили 3 дозы VV1-GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300 векторов на 0-е сутки, 21-е сутки и 42-е сутки. Мышам также вводили солевой раствор, антимышиное ингибиторное антитело PD-1, антимышиное ингибиторное антитело CTLA-4, антимышиное стимулирующее антитело CD137 и мышиный FLT3-L, как указано в таблице 12 и на Фиг. 23. Контрольная группа мышей получала только вакцину против ВГВ, но без AAV-HBV, чтобы определить, как повлияла иммуногенность вакцины против ВГВ в контексте хронического ВГВ. Специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы измеряли на 105-е сутки после первой вакцинации с помощью IFN-γ ELISPOT с применением спленоцитов. Данные выражали после вычитания фонового сигнала в контрольных лунках без пептидов. Уровни HBeAg в сыворотке крови измеряли на -11-е сутки и на 105-е сутки с помощью ELISA.

Таблица 12

Исследуемые группы в исследовании иммуногенности AAV-HBV

Группа	**N**	**AAV-HBV**	**Вакцина против ВГВ**	**иммуномодулятор**	**Молекула и доза**
1	11	Да	VV1-GT-D iCore-P2A-sAg + VV1-GT-B Pol^{300}	Носитель	Солевой раствор
2	12	Да		анти-PD-1	Клон RMP 1-14 8 мг/кг/дозу
3	12	Да		α-CTLA4	Клон 9D9 10 мг/кг/дозу
4	12	Да		анти-CD137	Клон mAb8 2,5 мг/кг/дозу
5	12	Да		FLT3L	Мышиный FLT3L-Fc 1 мг/кг/дозу
6	5	Нет		Носитель	Солевой раствор

Результаты

[0353] Устойчивые ответы в IFN-γ ELISPOT наблюдали для всех 3 антигенов ВГВ у мышей в отсутствие стойкого ВГВ (Фиг. 24). Ответы IFN-γ ELISPOT, полученные у мышей AAV-HBV, которые получали только вакцину ВГВ, были снижены, но все еще присутствовали, что свидетельствует о том, что VV1 GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300 были иммуногенными даже в контексте иммуной системы, получившей толеризацию к ВГВ. Комбинированное введение VV1 GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300 с анти-PD-1, анти-CTLA-4 или анти-CD137 дополнительно улучшало ВГВ-специфичные ответов в IFN-γ ELISPOT на капсид и sAg, в то время как комбинация VV1 GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300 с FLT3-L давала наивысшую величину ELISPOT для всех 3 антигенов ВГВ.

[0354] Кроме того, введение VV1 GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300 снижало уровни HBeAg в сыворотке у тех мышей AAV-HBV, как измерено на контрольные-11-е сутки и 105-е сутки (таблица 13). Важно отметить, что комбинированное введение VV1 GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300 векторов с антителами к PD-1, CTLA-4, CD137 или FTL3-L дополнительно снижало уровни

HBeAg в сыворотке (таблица 13). Таким образом, векторы VV1 GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300 демонстрируют противовирусную эффективность в мышиной модели AAV-HBV, которая может быть повышена в комбинации с некоторыми иммуномодуляторами.

Таблица 13

Контрольная таблица уровней HBeAg в сыворотке у мышей AAV-HBV

Группа	Уровень HBeAg в сыворотке (среднее геометрическое, нг/мл)		Животные с HBeAg в сыворотке < 100 нг/мл на 105-е сутки
	-11-е сутки	105-е сутки	
Вакцина против ВГВ + солевой раствор	868	528	0/11
Вакцины против ВГВ + α-PD-1	879	337	3/12
Вакцины против ВГВ + α-CTLA4	661	341	2/12
Вакцины против ВГВ + α-CD137	1069	500	1/12
Вакцины против ВГВ + FLT3L-Fc	773	315	3/12

Пример 13

Идентификация для репликационно-некомпетентных векторов Пичинде (PICV), кодирующих иммуногенные нуклеотид-оптимизированные антигены ВГВ

[0355] Были созданы репликационно-некомпетентные векторы PICV (VV2), кодирующие антиген GT-D капсид-P2A-sAg (SEQ ID NO: 41) и антиген GT-B Pol^{300} (SEQ ID NO: 13), первоначально с применением тех же нуклеотидных последовательностей, которые были идентифицированы как стабильные и иммуногенные в репликационно-некомпетентных векторах LCMV (VV1). Стабильность трансгена iCore-P2A-sAg в векторах VV2 (SEQ ID NO: 37) оценивали с помощью ПЦР после последовательного пассирования вектора, содержащего супернатант, и обнаружили, что они являются достаточно стабильными для производства (таблица 13). Генетическая стабильность была определена основной полосой, показывающей правильный размер полноразмерного трансгена (TG).

[0356] Напротив, когда тот же трансген GT-B Pol^{300}, применяемый в векторах VV1 (SEQ ID NO: 29), применяли в векторах VV2, трансген быстро становился нестабильным во время последовательного пассажа (таблица 14). Для идентификации векторов VV2 с достаточной генетической стабильностью для производства были созданы три дополнительных вектора VV2, кодирующих один и тот же антиген GT-B Pol^{300} с применением различных последовательностей нуклеотидов, обозначенных как VV2-Pol300_IDT_CpGdel (SEQ ID NO: 94), Pol^{300} ori (SEQ ID NO: 89) и Pol^{300} dint (SEQ ID NO: 90), Pol300 huCo low GC (SEQ ID NO: 91) и Pol^{300} oridel CpG (SEQ ID NO: 92). Каждый вектор оценивали на стабильность трансгена с помощью ПЦР после последовательного пассирования вектора, содержащего супернатант, с генетической стабильностью, определяемой основной полосой, демонстрирующей правильный размер полноразмерного трансгена (TG). Результаты представлены в таблице 14. Неожиданно, основные различия в стабильности трансгенов Pol^{300} в векторах VV2 были очевидны между разными нуклеотидными последовательностями,

несмотря на кодирование идентичного полипептидного антигена, с полинуклеотидными последовательностями Pol^{300} dint, Pol^{300} ori и Pol^{300} oridel CpG, демонстрирующими наибольшую стабильность, например, по меньшей мере через пять пассажей.

Таблица 14

Сравнительная таблица для оценки генетической стабильности трансгенов VV2-капсид-P2A-sAg и Pol^{300}

Генотип	Нуклеиновая кислота SEQ ID NO:	Вектор	Стабильная вставка TG до
GT-D	37	VV2-iCore-P2A-sAg	P5
GT-B	29	VV2-Pol^{300}	P1
GT-B	94	VV2-Pol300_IDT_CpGdel	P3
GT-B	91	VV2-Pol^{300} huCo lowGC	P4
GT-B	89	VV2-Pol^{300} ori	P5
GT-B	92	VV2-Pol^{300} oridel CpG	P5
GT-B	90	VV2-Pol^{300} dint	P5

*VV2 обозначает репликационно-некомпетентные векторы PICV.
«P#» означает число пассажей (например, P1 равно 1 пассажу).

[0357] Далее для оценки потенциальных различий в иммуногенности между векторами, несущими трансгены Pol^{300} dint и Pol^{300} ori, мышей C57BL/6 иммунизировали два раза на 0-е сутки и на 21-е сутки с репликационно-некомпетентными векторами PICV (VV2), кодирующими GT-B Pol^{300} ori или GT-B Pol^{300} dint. Затем были измерены специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы из спленоцитов с помощью IFN-γ ELISPOT с применением пептидных пулов Pol. Неожиданно, V2-GT-B Pol^{300} dint индуцировал гораздо более сильный ответ Т-клеток, чем VV2-GT-B Pol^{300} ori, несмотря на кодирующие идентичные аминокислотные последовательности (Фиг. 25). Таким образом, VV2-GT-B Pol^{300} dint является более иммуногенным, чем VV2-GT-B Pol^{300} ori у мышей C57BL/6.

Пример 14

иммуногенность репликационно-некомпетентных векторов аренавирусов LCMV и PICV с применением гомологичных или гетерологичных циклов иммунизации примирование/усиление у мышей C57BL/6

[0358] Была оценена иммуногенность репликационно-некомпетентных векторов LCMV (VV1) и векторов PICV (VV2), кодирующих GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol^{300} с применением гомологичного цикла иммунизации примирование/усиление (вектор VV1, с последующим вектором VV1) или гетерологичного цикла иммунизации примирование/усиление (вектор VV2, с последующим вектором VV1) у мышей C57BL/6.

Способы

[0359] Мышей C57BL/6 дважды иммунизировали репликационно-некомпетентными векторами LCMV и PICV, кодирующими GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol^{300}, как указано в таблице

15. Специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы измеряли на 28-е сутки с помощью IFN-γ ELISPOT с применением спленоцитов. Ответы на антитела к sAg количественно определяли на 28-е сутки с помощью ELISA.

Таблица 15

Исследовательские группы в исследовании иммуногенности

Группа	N	Цикл иммунизации	Примирующий вектор – сутки 0	Усиливающий вектор — сутки 21	День отбора	Доза/ вектор
1	5	-	Имитация	Имитация	28	10^6 ФОЕ
2	5	Гомологичный примирование/ усиление	VV1-GT-D iCore-P2A-sAg	VV1-GT-D iCore-P2A-sAg	28	10^6 ФОЕ
3	5	Гетерологичный примирование/ усиление	VV2-GT-D iCore-P2A-sAg	VV1-GT-D iCore-P2A-sAg	28	10^6 ФОЕ
4	5	Гомологичный примирование/ усиление	VV1-GT-B Pol^{300}	VV1-GT-B Pol^{300}	28	10^6 ФОЕ
5	5	Гетерологичный примирование/ усиление	VV2-GT-B Pol^{300} dint	VV1-GT-B Pol^{300}	28	10^6 ФОЕ

Результаты

[0360] Введение репликационно-некомпетентного вектора LCMV (VV1), кодирующего GT-D iCore-P2A-sAg или кодирующего GT-B Pol^{300} с применением гомологичного цикла примирование/усиление (VV1/VV1) индуцировали устойчивые Т-клеточные ответы у мышей C57BL/6 (Фиг. 26A–26C). Введение репликационно-некомпетентного вектора PICV (VV2) с последующим введением VV1 (гетерологичный цикл примирование/усиление VV2/VV1) дало более высокие уровни sAg-специфичного Т-клеточного ответа (Фиг. 26A) и аналогичные ответы капсид- и Pol-специфичных Т-клеток (Фиг. 26B–26C) по сравнению с циклом VV1/VV1. Кроме того, хотя введение репликационно-некомпетентного вектора LCMV с применением гомологичного цикла примирование/усиление (VV1/VV1) непостоянно индуцировало антитела к sAg при низких уровнях, иммунизация с применением гетерологичного цикла примирование/усиление (VV2/VV1) неожиданно привела к устойчивой и постоянной индукции антител к sAg у всех животных и приблизительно в 1000 раз больше среднего титра антитела к sAg (Фиг. 27).

Пример 15

иммуногенность репликационно-аттенуированных векторов аренавирусов LCMV и PICV с применением гомологичных или гетерологичных циклов иммунизации примирование/усиление у мышей C57BL/6

[0361] Помимо репликационно-некомпетентных векторов аренавируса LCMV (VV1) и PICV (VV2), репликационно-компетентные, но аттенуированные векторы LCMV (TT1) и PICV (TT2), кодирующие антигены ВГВ, также могут быть получены с помощью методов генной инженерии. В отличие от векторов VV1 и VV2, векторы TT1 и TT2 содержат три геномных сегмента, которые позволяют геномному пространству вставить два антигена ВГВ (слитый белок GT-D капсид-P2A-sAg и белок GT-B Pol^{300}) в тот же вектор. Поскольку каждый антиген может быть вставлен в два разных геномных сегмента, векторы, покрывающие различные комбинации вставки в обоих аренавирусных векторах, были получены следующим образом: i) GT-D капсид-P2A-sAg, вставляли в сегмент 1 и GT-B Pol^{300} вставляли в сегмент 2 в основную цепь LCMV (TT1-GT-D капсид-P2A-sAg/GT-B Pol^{300}), ii) GT-D капсид-P2A-sAg вставляли в сегмент 1 и GT-B Pol^{300} вставляли в сегмент 2 в основную цепь PICV (TT2-GT-D капсид-P2A-sAg/GT-B Pol^{300}), iii) капсид-P2A-sAg GT-D вставляли в сегмент 2 и GT-B Pol^{300} вставляли в сегмент 1 в основную цепь LCMV (TT1-GT-B Pol^{300}/GT-D капсид-P2A-sAg) и iv) GT-D капсид-P2A-sAg вставляли в сегмент 2 и GT-B Pol^{300} вставляли в сегмент 1 в основную цепь PICV (TT2-GT-B Pol^{300}/GT-D капсид-P2A-sAg). Затем оценивали иммуногенность этих 4 векторов с применением гомологичных или гетерологичных циклов иммунизации примирование/усиление у мышей C57BL/6.

Способы

[0362] Мышей C57BL/6 дважды иммунизировали репликационно-аттенуированными векторами LCMV и PICV, кодирующими GT-D капсид-P2A-sAg и GT-B Pol^{300}, как указано в таблице 16. Специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы измеряли на 28-е сутки с помощью IFN-γ ELISPOT с применением спленоцитов.

Таблица 16

Исследовательские группы в исследовании иммуногенности

Группа	**N**	**Примирующий вектор — сутки 0**	**Усиливающий вектор – сутки 21**	**День отбора**	**Доза/вектор (RCV/ФОЕ)**
1	5	Имитация	Имитация	28	–
2	5	TT1-GT-D капсид-P2A-sAg/GT-B Pol^{300}	TT1-GT-D капсид-P2A-sAg/GT-B Pol^{300}	28	$5x10^4$
3	5	TT2-GT-D капсид-P2A-sAg/GT-B Pol^{300}	TT2-GT-D капсид-P2A-sAg/GT-B Pol^{300}	28	$5x10^4$
4	5	TT2-GT-D капсид-P2A-sAg/GT-B Pol^{300}	TT1-GT-D капсид-P2A-sAg/GT-B Pol^{300}	28	$5x10^4$
5	5	TT1-GT-B Pol^{300}/GT-D капсид-P2A-sAg	TT1-GT-B Pol^{300}/GT-D капсид-P2A-sAg	28	$5x10^4$
6	5	TT2-GT-B Pol^{300}/GT-D капсид-P2A-sAg	TT2-GT-B Pol^{300}/GT-D капсид-P2A-sAg	28	$5x10^4$
7	5	TT2-GT-B Pol^{300}/GT-D капсид-P2A-sAg	TT1-GT-B Pol^{300}/GT-D капсид-P2A-sAg	28	$5x10^4$

Результаты

[0363] Введение всех репликационно-компетентных векторов приводило к устойчивым Т-клеточным ответам, специфичным для 3 антигенов ВГВ sAg, капсид и Pol (Фиг. 28A–28C). Таким образом, векторы TT1 и TT2, экспрессирующие антигены ВГВ, являются сильно иммуногенными у мышей C57BL/6.

Пример 16

иммуногенность репликационно-некомпетентных векторов аренавирусов LCMV и PICV с применением гомологичных или гетерологичных циклов иммунизации примирование/усиление у яванских макак

[0364] Мы оценили иммуногенность репликационно-некомпетентных векторов LCMV (VV1) и викторов PICV (VV2), кодирующих GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300 с применением гомологичного цикла иммунизации примирование/усиление (вектор VV1, с последующим вектором VV1) или гетерологичного цикла иммунизации примирование/усиление (вектор VV2, с последующим вектором VV1) у яванских макак.

Способы

[0365] Яванских макак (n=5) иммунизировали векторами VV2 ($5x10^6$ ФОЕ/вектор) на 0-й неделе и затем иммунизировали векторами VV1 ($5x10^6$ ФОЕ/вектор) на 4-й неделе, и специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы измеряли с помощью PBMC посредством IFN-γ ELISPOT на 6-й неделе. Данные сравнивали с ELISPOT от 10 яванских макак, иммунизированных только векторами VV1 ($5x10^6$ ФОЕ/вектор) на 0-й неделе и 4-й неделе (гомологичный цикл примирование/усиление).

Результаты

[0366] Введение репликационно-некомпетентных векторов LCMV (VV1), кодирующих GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300 с применением гомологичного цикла примирование/усиление (VV1/VV1), индуцировало специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы у 5 из 10 яванских макак (Фиг. 29). Напротив, введение репликационно-некомпетентного вектора PICV (VV2) с последующим добавлением VV1 (гетерологичный цикл примирование/усиление VV2/VV1) дало статистически более высокие специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы у всех 5 животных по сравнению с гомологичным циклом примирование/усиление VV1/VV1 (Фиг. 29).

Пример 17

иммуногенность репликационно-некомпетентных векторов аренавирусов LCMV и PICV с применением гомологичных или гетерологичных циклов иммунизации примирование/усиление с 1-недельными интервалами дозирования у яванских макак

[0367] Мы оценили иммуногенность репликационно-некомпетентных векторов LCMV (VV1) и векторов PICV (VV2), кодирующих GT-D iCore-P2A-sAg и GT-B Pol300 с применением гомологичного цикла иммунизации примирование/усиление (вектор VV1, с последующим вектором VV1) или гетерологичного цикла иммунизации примирование/усиление (вектор VV2, с последующим вектором VV1), вводимых с 1-недельным интервалом дозирования, у яванских макак.

Способы

[0368] Яванских макак иммунизировали, как описано в таблице 17. Специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы измеряли с помощью PBMC с помощью IFN-γ ELISPOT на 4-й неделе.

Таблица 17

Исследовательские группы в исследовании иммуногенности

Группа	N	Примирующая вакцина	Усиливающая вакцина	Доза/ вектор	Схема иммунизации (неделя)	Анализ ELISPOT
1	5	VV1	VV1	10^8 ФОЕ	0 (VV1) 1 (VV1) 2 (VV1) 3 (VV1)	4-я неделя
2	5	VV2	VV1	10^8 ФОЕ	0 (VV2) 1 (VV1) 2 (VV2) 3 (VV1)	4-я неделя

Результаты

[0369] Введение репликационно-некомпетентного вектора PICV (VV2) с последующим добавлением VV1 (гетерологичный цикл примирование/усиление VV2/VV1) дало более высокие специфичные к ВГВ Т-клеточные ответы по сравнению с вакцинацией одним вектором VV1 (Фиг. 30).

[0370] Понятно, что примеры и варианты осуществления, описанные в настоящем документе, предназначены только для иллюстративных целей и что различные модификации или изменения в их свете будут предложены специалистам в данной области техники и должны быть включены в сущность и сферу применения данной заявки и объема прилагаемой формулы изобретения. Все публикации, патентные и патентные заявки, цитируемые в настоящем документе, в полном объеме и во всех целях включены посредством ссылки в настоящее описание.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Слитый белок, содержащий последовательно от N-конца к С-концу капсидный полипептид ВГВ и полипептид небольшого поверхностного антигена (sAg), причем указанный слитый белок имеет длину не более чем 450 аминокислот, не содержит полипептид ВГВ pre-S1 и/или полипептид ВГВ pre-S2, и причем:

a) капсидный полипептид принадлежит генотипу B или C ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу C ВГВ, при этом указанный слитый белок содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 38-39, или аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности любой из SEQ ID NO: 38-39; или

b) капсидный полипептид принадлежит генотипу D ВГВ, а полипептид sAg принадлежит генотипу D ВГВ, причем указанный слитой белок содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 40-41, или аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности любой из SEQ ID NO: 40-41.

2. Полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg по п. 1.

3. Полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий последовательно от N-конца к С-концу капсидный полипептид ВГВ и полипептид небольшого поверхностного антигена (sAg), причем указанный капсидный полипептид принадлежит генотипу B или C ВГВ, и полипептид sAg принадлежит генотипу C ВГВ, причем указанный слитый белок имеет длину не более чем 450 аминокислот, и при этом указанный полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты согласно любой из SEQ ID NO: 33 и 34, или последовательности нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности любой из SEQ ID NO: 33 и 34.

4. Полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий последовательно от N-конца к С-концу капсидный полипептид ВГВ и полипептид небольшого поверхностного антигена (sAg), причем указанный капсидный полипептид принадлежит генотипу D ВГВ, и полипептид sAg принадлежит генотипу D ВГВ, причем указанный слитый белок имеет длину не более чем 450 аминокислот, и при этом указанный полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты согласно

любой из SEQ ID NO: 35, 36 и 37, или последовательности нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности любой из SEQ ID NO: 35, 36 и 37.

5. Полинуклеотид по любому из пп. 2-4, причём указанный полинуклеотид содержит кДНК, мРНК, самоамплифицирующуюся РНК (SAM), самореплицирующуюся РНК или самоамплификцирующуюся РНК репликона (RepRNA).

6. Вектор, содержащий один или более полинуклеотидов по любому из пп. 2-5.

7. Вектор по п. 6, причём указанный вектор представляет собой вирусный вектор.

8. Вектор по любому из пп. 6-7, причём указанный вирусный вектор представляет собой вектор аренавируса, выбранный из маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), маммаренавируса Кали (также известного как маммаренавирус Пичинде или аренавирус Пичинде), вируса Гуанарито (GTOV), вируса Хунин (JUNV), вируса Ласса (LASV), вируса Луйо (LUJV), вируса Мачупо (MACV), вируса Сабиа (SABV) и вируса Уайтуотера Арройо (WWAV).

9. Вектор по п. 8, причём указанный вирусный вектор представляет собой вектор аренавируса, выбранный из маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) или маммаренавируса Кали.

10. Вектор по любому из пп. 6-9, причём указанный вирусный вектор является репликационно-дефектным, репликационно-дефицитным, репликационно-аттенуированным или репликационно-компетентным.

11. Вектор по любому из пп. 6-10, причём указанный вирусный вектор представляет собой репликационно-дефектный аренавирус, имеющий геном из двух сегментов.

12. Вектор аренавируса, содержащий полинуклеотид, кодирующий слитый полипептид капсид-sAg ВГВ, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41 или аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41, и при этом полипептид sAg не содержит полипептид pre-S1 ВГВ и/или полипептид pre-S2 ВГВ.

13. Вектор аренавируса по п. 12, причём указанный полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 33–37, или последовательности нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности любой из SEQ ID NO: 33–37.

14. Вектор аренавируса по любому из пп. 12-13, причём указанный вектор аренавируса является репликационно-дефектным, репликационно-дефицитным или репликационно-некомпетентным.

15. Клетка-хозяин, содержащая один или более полинуклеотидов по любому из пп. 2-5, или один или более векторов по любому из пп. 6-14.

16. Иммуногенная композиция, содержащая один или более слитых белков капсид-sAg по п. 1, один или более полинуклеотидов по любому из пп. 2-5 или один или более векторов по любому из пп. 6-14; и фармацевтически приемлемый носитель.

17. Иммуногенная композиция по п. 16, содержащая вирусный экспрессионный вектор, причем:

указанный вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий последовательно от N-конца к С-концу капсидный полипептид ВГВ и полипептид небольшого поверхностного антигена (sAg), причем указанный слитый белок имеет длину не более чем 450 аминокислот, и причем:

i) капсидный полипептид принадлежит генотипу B или C ВГВ, и полипептид sAg принадлежит генотипу C ВГВ, при этом указанный слитый белок содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 38-39, или аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности любой из SEQ ID NO: 38-39; или

ii) капсидный полипептид принадлежит генотипу D ВГВ, и полипептид sAg принадлежит генотипу D ВГВ, причем указанный слитой белок содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно любой из SEQ ID NO: 40-41, или аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности любой из SEQ ID NO: 40-41.

18. Иммуногенная композиция по любому из пп. 16-17, содержащая вирусный экспрессионный вектор, причем:

указанный вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 33–37 или последовательности нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности любой из SEQ ID NO: 33–37.

19. Иммуногенная композиция по любому из пп. 16-18, в которой указанный вирусный экспрессионный вектор происходит из семейства аренавирусов.

20. Иммуногенная композиция по п. 19, в которой указанный вирусный экспрессионный вектор происходит из вектора аренавируса, выбранного из маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV) или маммаренавируса Кали.

21. Иммуногенная композиция по любому из пп. 16-20, в которой указанный вирусный экспрессионный вектор является репликационно-дефектным или репликационно-дефицитным.

22. Иммуногенная композиция, содержащая экспрессионный вектор аренавируса LCMV, причем:

указанный экспрессионный вектор аренавируса LCMV содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий последовательно от N-конца к С-концу капсидный полипептид генотипа D ВГВ и полипептид небольшого поверхностного антигена (sAg) ВГВ генотипа D, причем указанный слитый белок имеет длину не более чем 450 аминокислот, и причем указанный полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности SEQ ID NO: 37.

23. Иммуногенная композиция, содержащая экспрессионный вектор аренавируса Пичинде, причем:

указанный экспрессионный вектор аренавируса Пичинде содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий

последовательно от N-конца к С-концу капсидный полипептид ВГВ генотипа D и полипептид небольшого поверхностного антигена (sAg) ВГВ генотипа D, причем указанный слитый белок имеет длину не более чем 450 аминокислот, и причем указанный полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности SEQ ID NO: 37.

24. Иммуногенная композиция по любому из пп. 16-23, составленная в виде водного раствора или суспензии.

25. Иммуногенная композиция по любому из пп. 16-23, где указанная композиция является лиофилизированной.

26. Набор, содержащий одну или более однократных доз одного или более из векторов аренавируса по любому из пп. 12-14 или одной или более иммуногенных композиций по любому из пп. 16-25.

27. Набор по п. 26, содержащий вирусный экспрессионный вектор, причем:

указанный вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 33–37 или последовательности нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности любой из SEQ ID NO: 33–37.

28. Набор, содержащий экспрессионный вектор аренавируса LCMV, причем:

указанный экспрессионный вектор аренавируса LCMV содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий последовательно от N-конца к С-концу капсидный полипептид ВГВ генотипа D и полипептид небольшого поверхностного антигена (sAg) ВГВ генотипа D, причем указанный слитый белок имеет длину не более чем 450 аминокислот, и причем указанный полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты

SEQ ID NO: 37 или последовательности нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности SEQ ID NO: 37.

29. Набор по п. 28, дополнительно экспрессионный вектор аренавируса Пичинде, причем:

указанный экспрессионный вектор аренавируса Пичинде содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий последовательно от N-конца к С-концу капсидный полипептид ВГВ генотипа D и полипептид небольшого поверхностного антигена (sAg) ВГВ генотипа D, причем указанный слитый белок имеет длину не более чем 450 аминокислот, и причем указанный полинуклеотид содержит или состоит из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности SEQ ID NO: 37.

30. Способ лечения или профилактики вируса гепатита В человека (ВГВ) у субъекта, нуждающегося в этом, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества одной или более иммуногенных композиций по любому из пп. 16-25.

31. Способ по п. 30, согласно которому одна или более иммуногенных композиций содержат вирусный экспрессионный вектор, причем:

указанный вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, кодирующий слитый белок капсид-sAg, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41 или аминокислотной последовательности, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности любой из SEQ ID NO: 38–41.

32. Способ по любому из пп. 30-31, согласно которому одна или более иммуногенных композиций содержат вирусный экспрессионный вектор, причем:

указанный вирусный экспрессионный вектор содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты любой из SEQ ID NO: 33–37 или последовательности

нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности любой из SEQ ID NO: 33–37.

33. Способ по любому из пп. 30-32, согласно которому одна или более иммуногенных композиций содержат экспрессионный вектор аренавируса LCMV, причем:

указанный экспрессионный вектор аренавируса LCMV содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности SEQ ID NO: 37.

34. Способ по любому из пп. 30-33, согласно которому указанная одна или более иммуногенных композиций содержат экспрессионный вектор аренавируса Пичинде, причем:

указанный экспрессионный вектор аренавируса Пичинде содержит полинуклеотид, содержащий или состоящий из последовательности нуклеиновой кислоты SEQ ID NO: 37 или последовательности нуклеиновой кислоты, которая по меньшей мере на 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична полноразмерной последовательности SEQ ID NO: 37.

35. Способ по любому из пп. 30-34, согласно которому композицию вводят способом, выбранным из внутривенного, внутримышечного, внутридермального, подкожного и мукозального (например, трансбуккального, интраназального, интраректального, интравагинального).

36. Способ по любому из пп. 30-35, включающий введение от около 10^3 до около 10^{12} вирусных фокус-образующих единиц (ФОЕ), или бляшкообразующих единиц (БОЕ), или инфекционных единиц (ИЕ), или вирусных частиц (ВЧ), например, от около 10^4 до около 10^7 вирусных ФОЕ, или БОЕ, или ИЕ, или ВЧ, *например* от около 10^3 до около 10^4, 10^5, 10^6, 10^7, 10^8, 10^9, 10^{10}, 10^{11} или 10^{12} вирусных ФОЕ, или БОЕ, или ИЕ, или ВЧ на введение.

37. Способ по любому из пп. 30-36, включающий введение внутривенно или внутримышечно от около 10^6 до около 10^8 вирусных ФОЕ, или БОЕ, или ИЕ, или ВЧ на введение каждые две недели (Q2W) или ежемесячно (Q4W).

38. Способ по любому из пп. 30-37, включающий цикл примирование/усиление, включающий введение примирующей композиции в первый момент времени и введение одной или более усиливающих композиций в один или более последующих моментов времени.

39. Способ по п. 38, согласно которому цикл примирование/стимулирование включает:

a) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде;

b) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV);

c) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде, и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV); или

d) примирование с помощью примирующей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и усиление с помощью усиливающей композиции, содержащей один или более репликационно-дефицитных вирусных экспрессионных векторов маммаренавируса Пичинде.

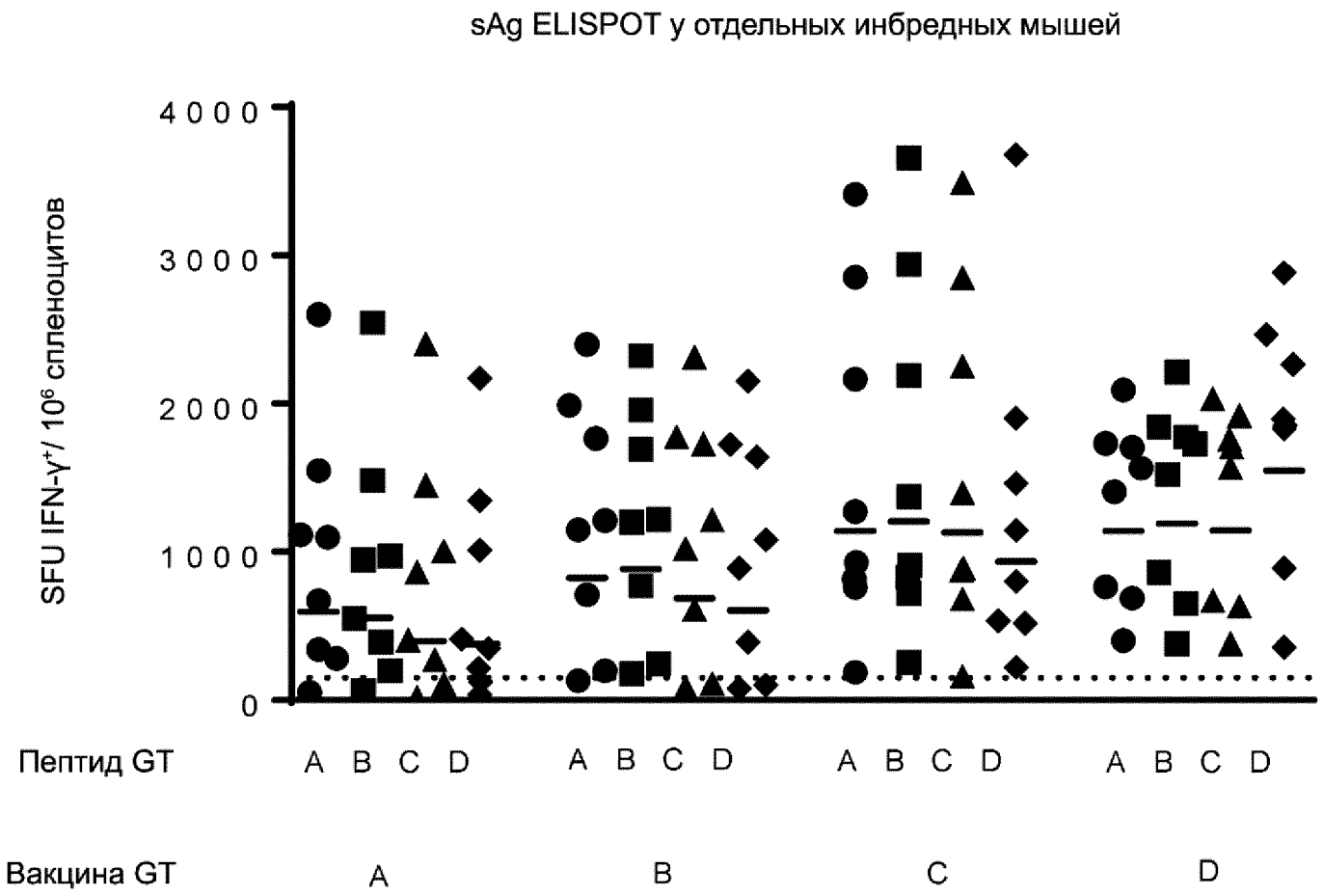
40. Способ по любому из пп. 38-39, согласно которому примирующая композиция и усиливающая композиция содержат иммуногенную композицию по любому из пп. 16-25.

41. Способ по любому из пп. 30-40, дополнительно включающий введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов, например, двух, трех, четырех или более дополнительных терапевтических агентов.

42. Способ по п. 41, включающий введение агониста рецептора, выбранного из группы, состоящей из fms-подобной тирозинкиназы 3 (FLT3), рецептора стимулятора генов интерферона (STING), DExD/H-бокс хеликазы 58 (DDX58; также известной как RIG-I), и нуклеотидсвязывающего олигомеризационного домена, содержащего белок 2 (NOD2).

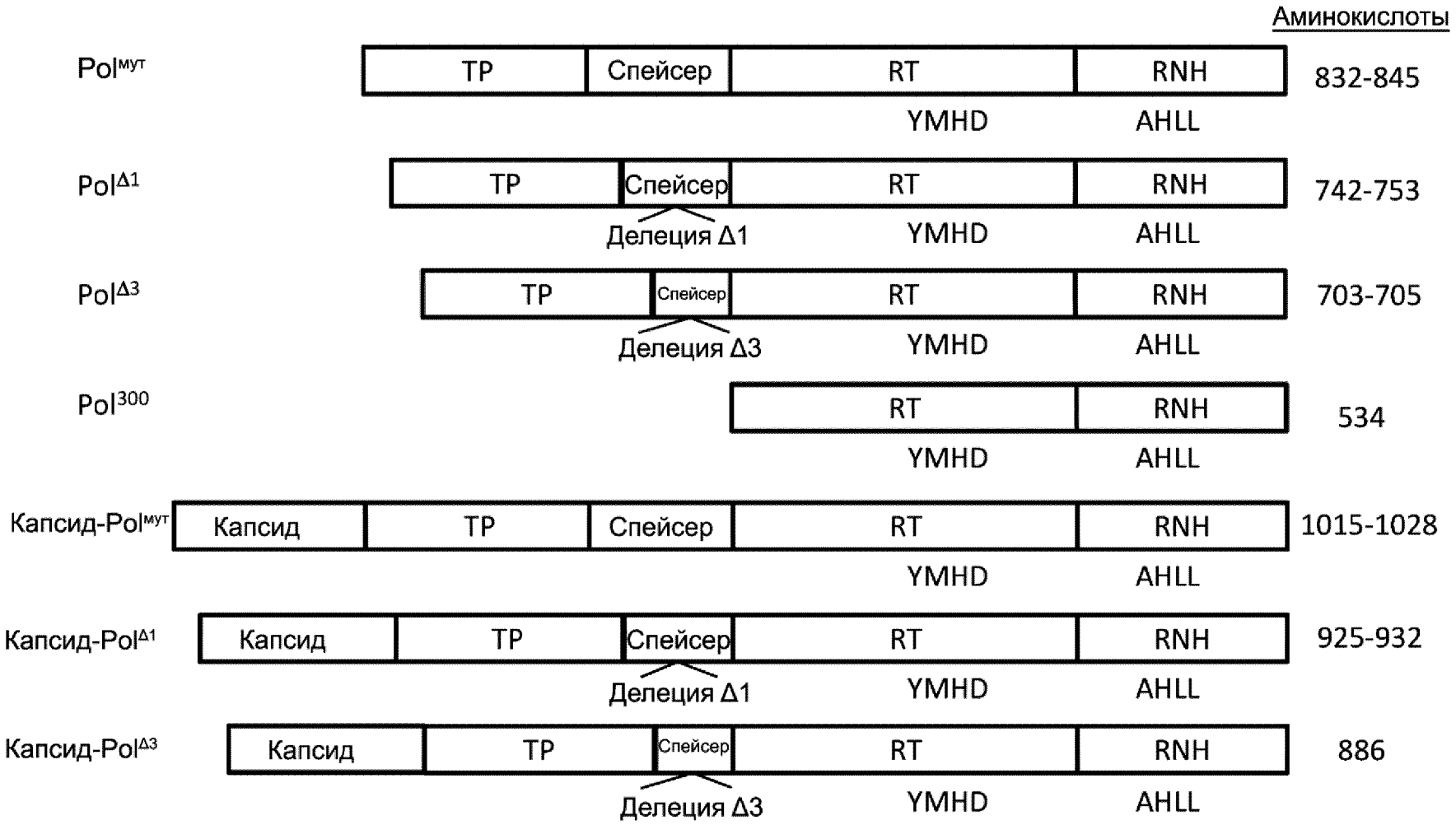
43. Способ по п. 42, включающий введение одного или более ингибиторов иммунных контрольных точек, выбранных из антитела-ингибитора PD-L1 (CD274), PD-1 (PDCD1) и CTLA4.

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

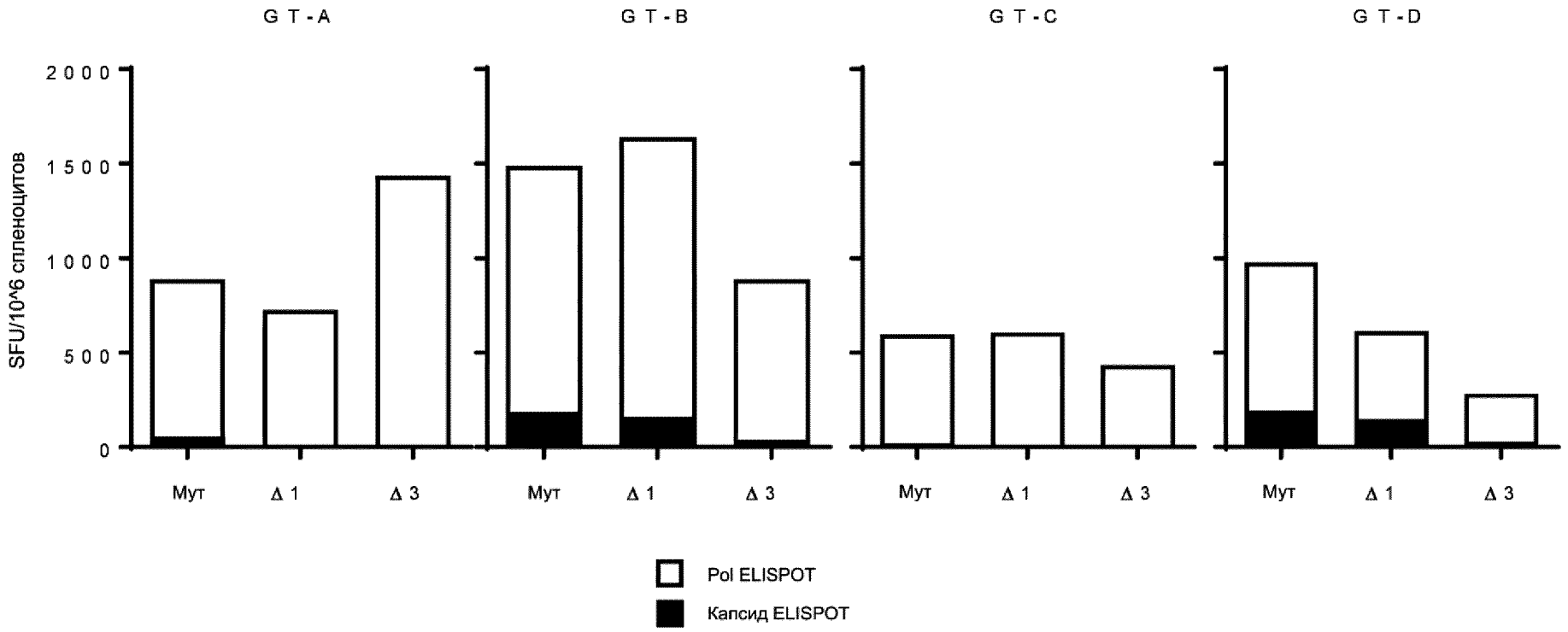


Фиг. 1

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)



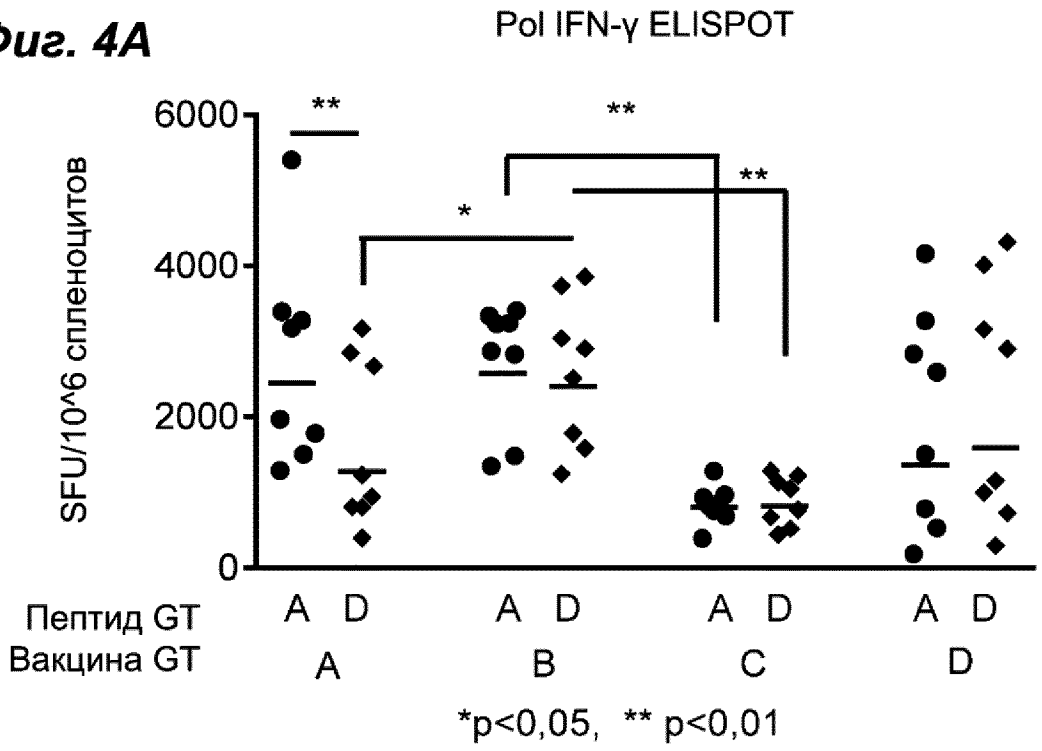
Фиг. 2



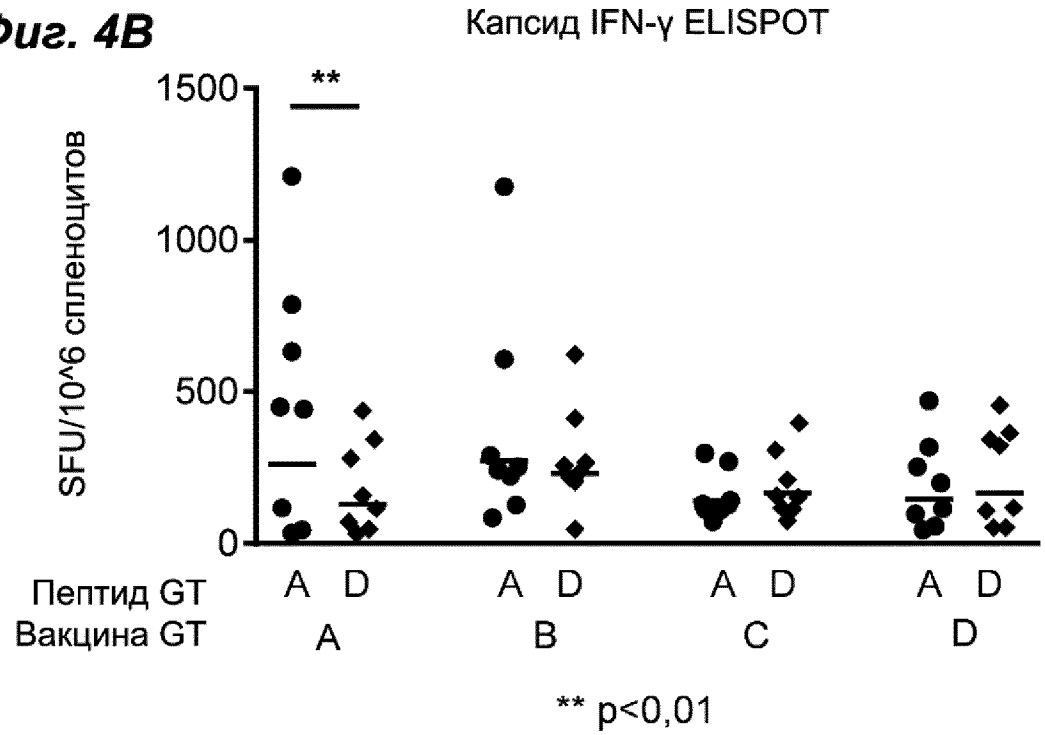
Фиг. 3

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

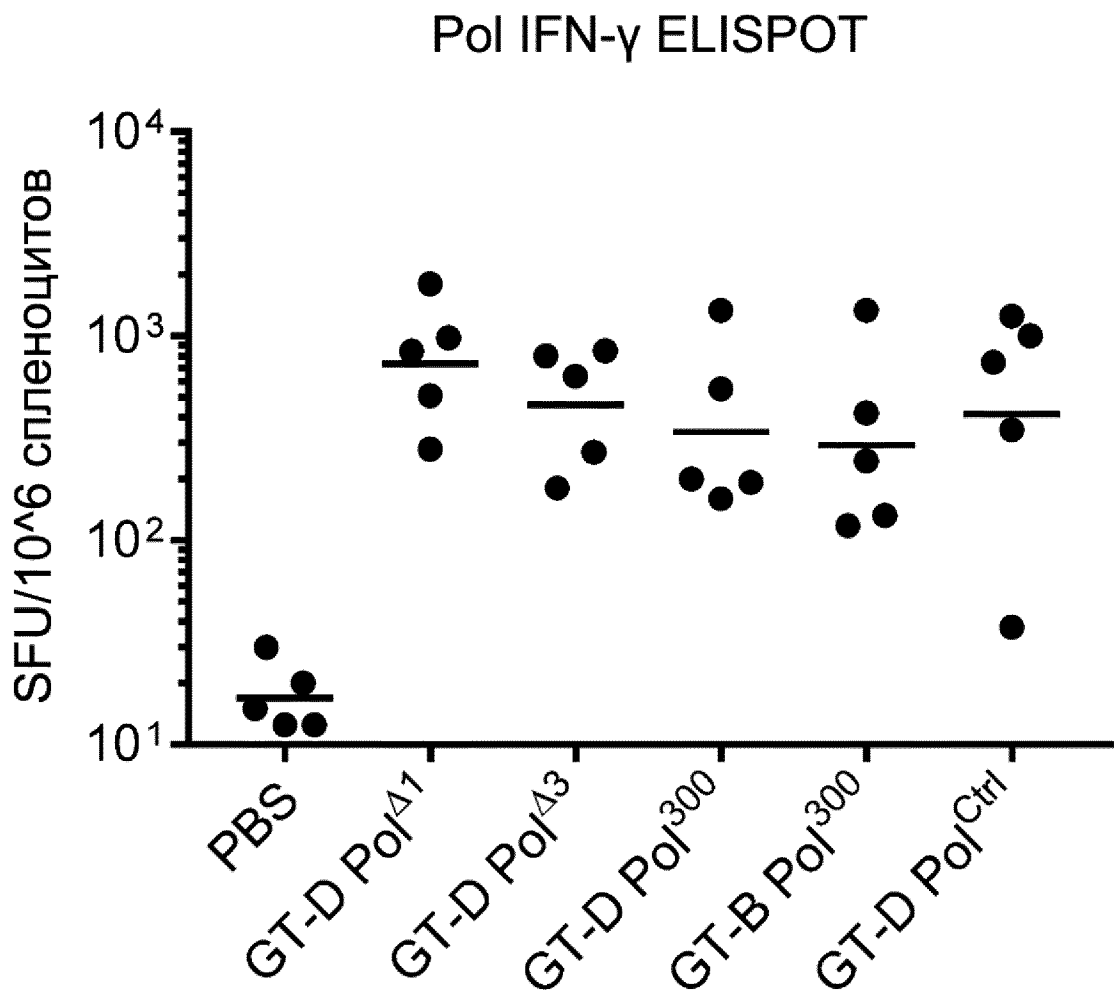
Фиг. 4A



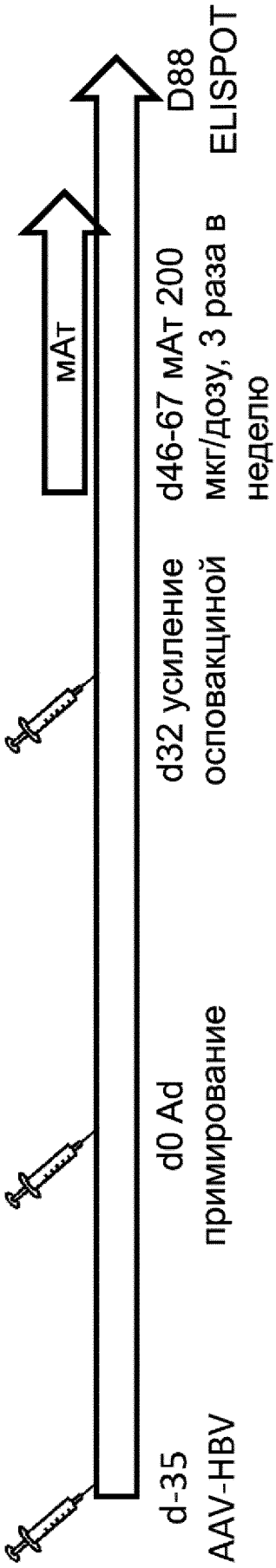
Фиг. 4B



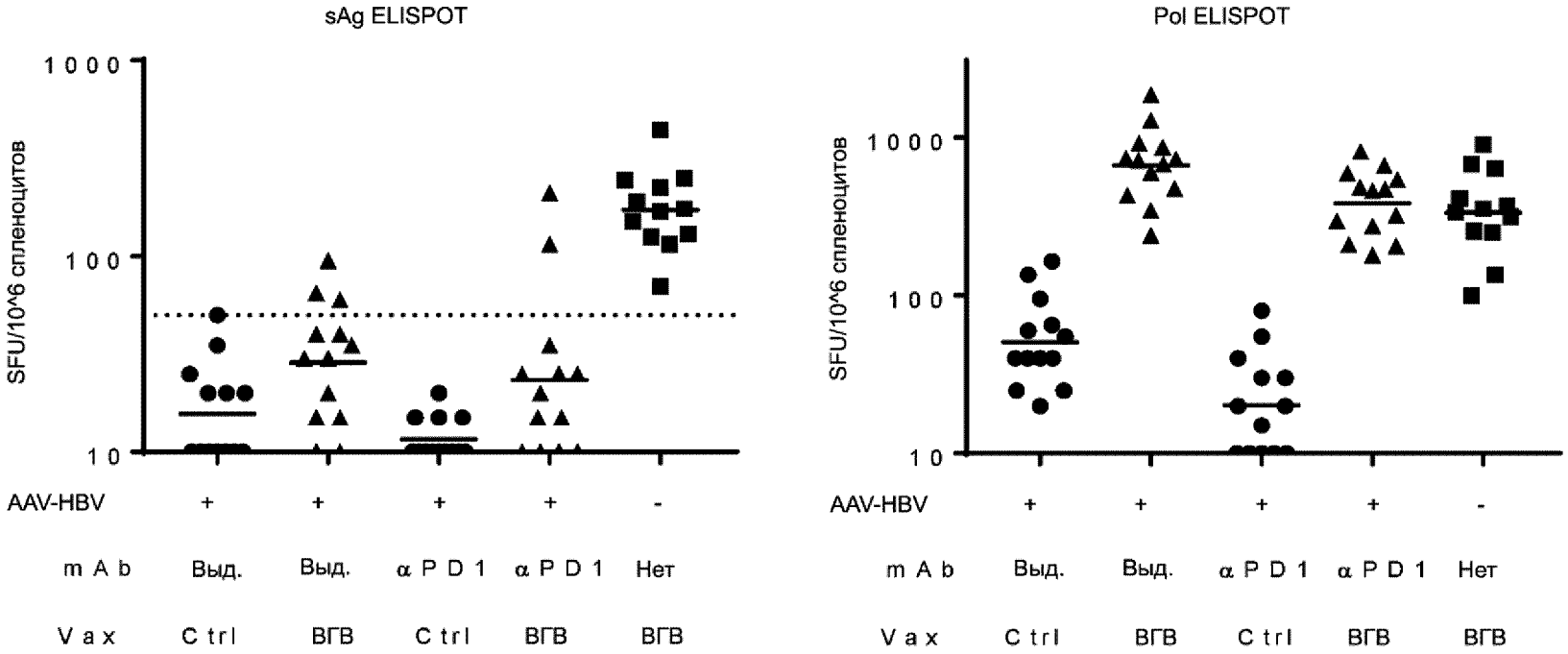
Фиг. 4A-4B


Pol IFN-γ ELISPOT
SFU/10^6 спленоцитов
10^4
10^3
10^2
10^1
PBS
GT-D Pol^Δ1
GT-D Pol^Δ3
GT-D Pol^300
GT-B Pol^300
GT-D Pol^Ctrl

Фиг. 5

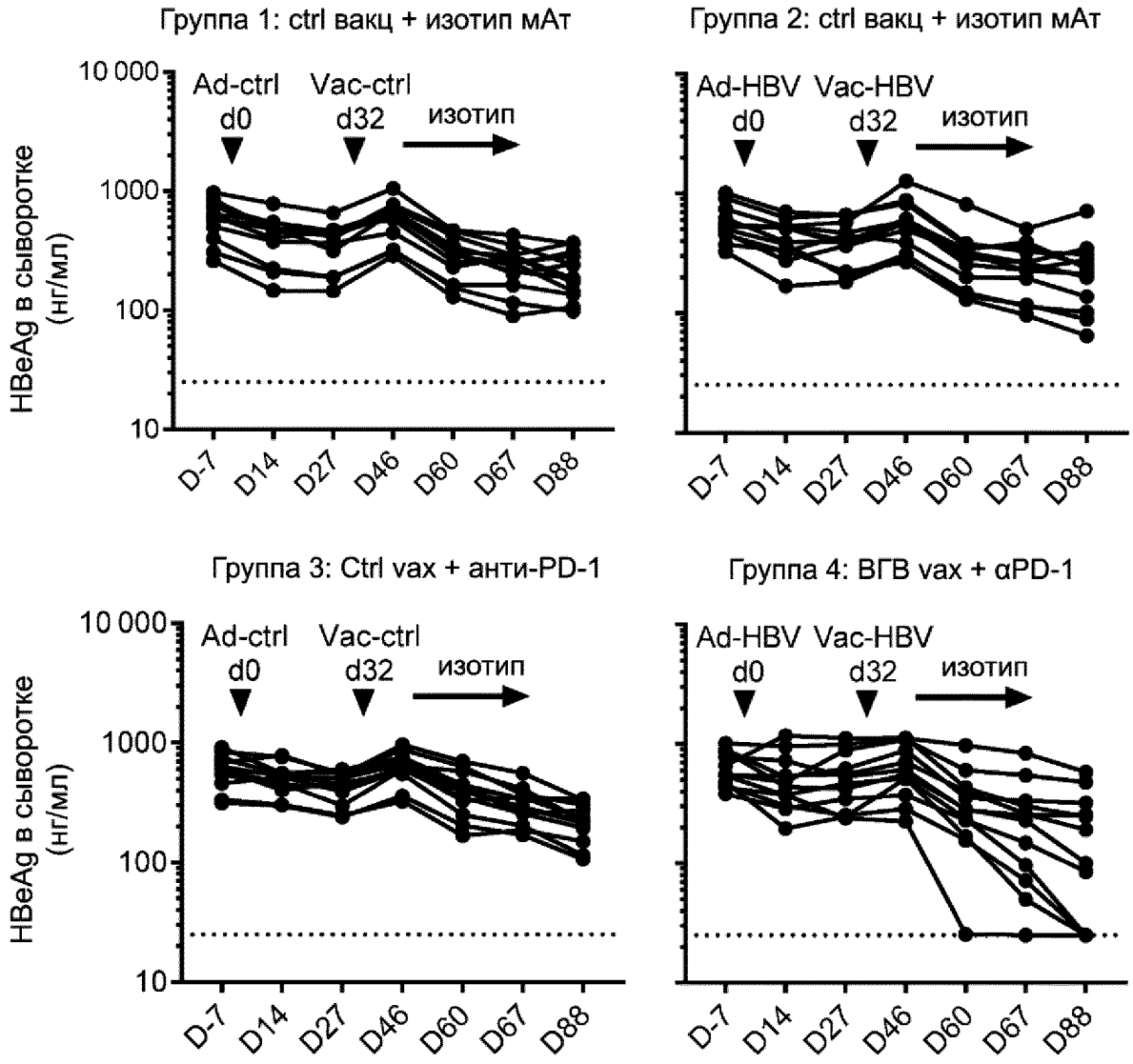

d-35
AAV-HBV
d0 Ad
примирование
d32 усиление
осповакциной
d46-67 мАт 200
мкг/дозу, 3 раза в
неделю
D88
ELISPOT
мАт

Фиг. 6



Фиг. 7

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

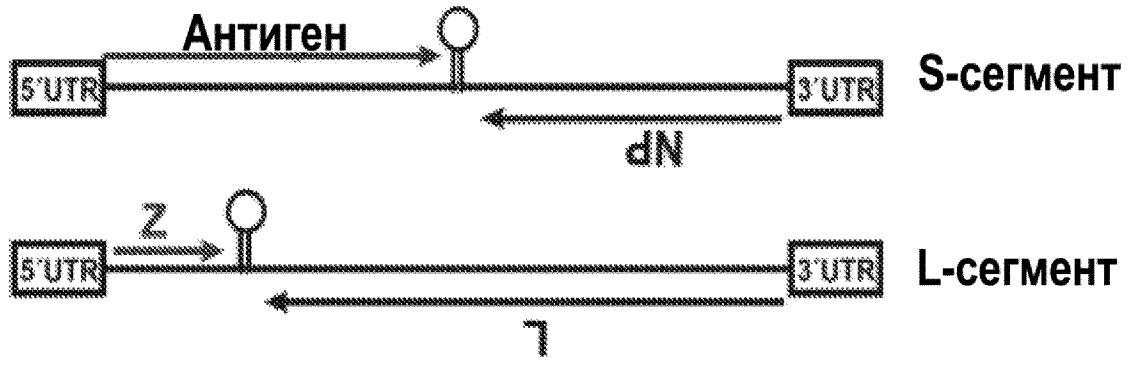

Группа 1: ctrl вакц + изотип мАт
Группа 2: ctrl вакц + изотип мАт
Группа 3: Ctrl vax + анти-PD-1
Группа 4: ВГВ vax + αPD-1
HBeAg в сыворотке (нг/мл)
10 000
1000
100
10
Ad-ctrl
Vac-ctrl
Ad-HBV
Vac-HBV
d0
d32
изотип
D-7
D14
D27
D46
D60
D67
D88

Фиг. 8

WWAV (AV0310135)
NAAV (AVD1240007)
SKTV (AVD1000080)
CATV (AVA0400135)
CATV (AVA0400212)
BCNV (AVA0070039)
TAMV (W10777)
LATV (MARU10924)
OLVV (3229-1)
PIRV (VAV-488)
ALLV (CLHP2472)
PICV (MozambiqueCoAn4783)
PICV
FLEV (BeAn293022)
PARV (12056)
SABV (SPH114202)
CHPV (810419)
GTOV (CVH-900101)
GTOV (NH-96561)
AMAV (BeAn70563)
CPXV (BeAn119303)
TCRV
JUNV (CbaN4454)
JUNV (XJ13)
JUNV (MC2)
MACV (9530537)
MACV (MARU222688)
MACV (Mallele)
MACV (Chicava)
MACV (Carvallo)
A/rec
B
C
A
NW
LUJV
OW
LCMV (ARM53b)
LCMV (WE)
LCMV (Marsello12)
DANV (0710-2078)
LCMV (M1)
IPPYV (DakAn8188d)
MOPV (AN20410)
MOPV (Monzabique)
MOBV (ACAR3080MRC5P2)
LASV (LP)
LASV (803213)
LASV (NL)
LASV (Josiah)
LASV (Z148)
LASV (AV)
LASV (Weller)
0,05
Вирус Пичинде (PICV)
Вирус лимфоцитарного хориоменингита (LCMV)

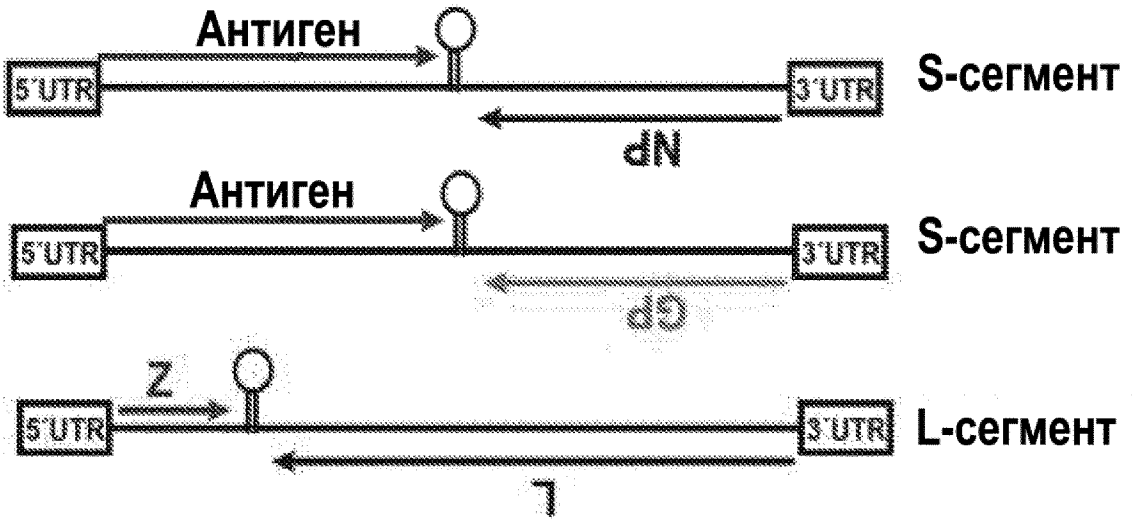
Фиг. 9A

Фиг. 9B

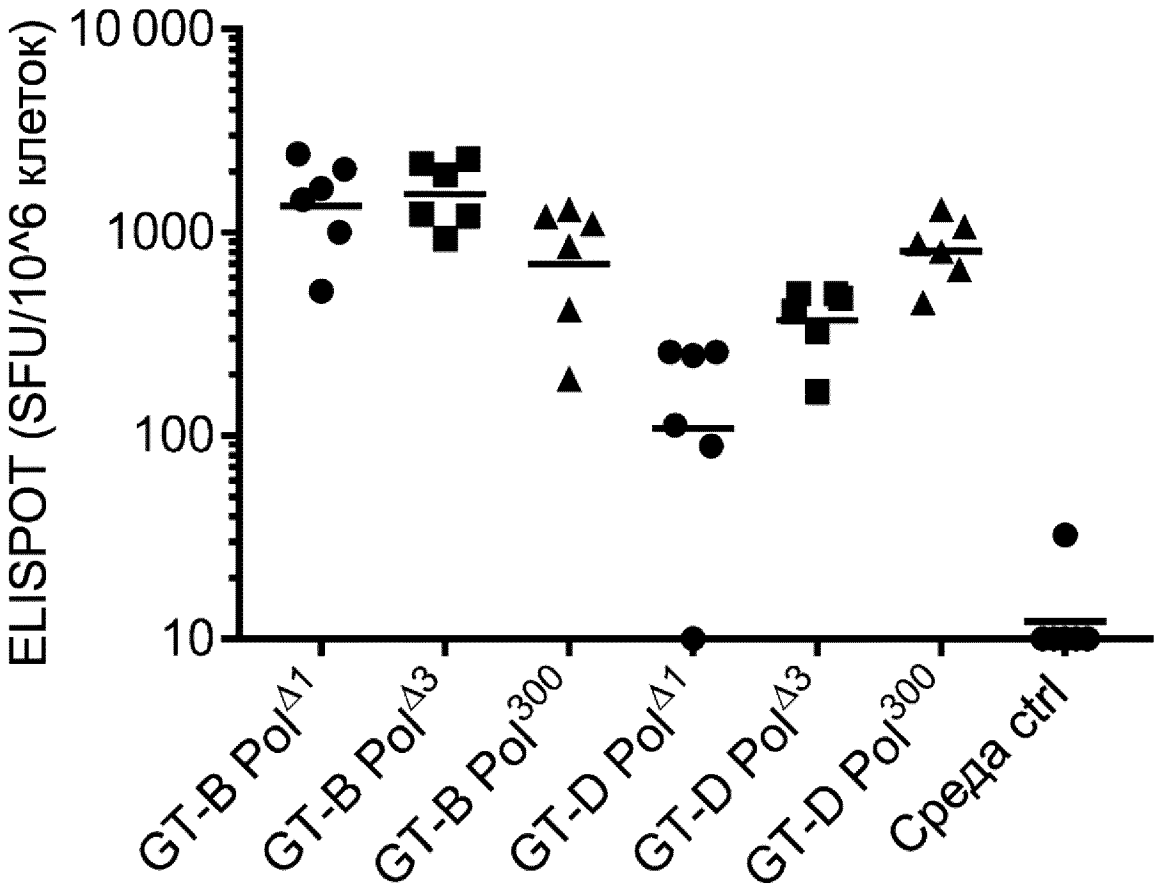


+ вирусный GP доставляется *в транс*

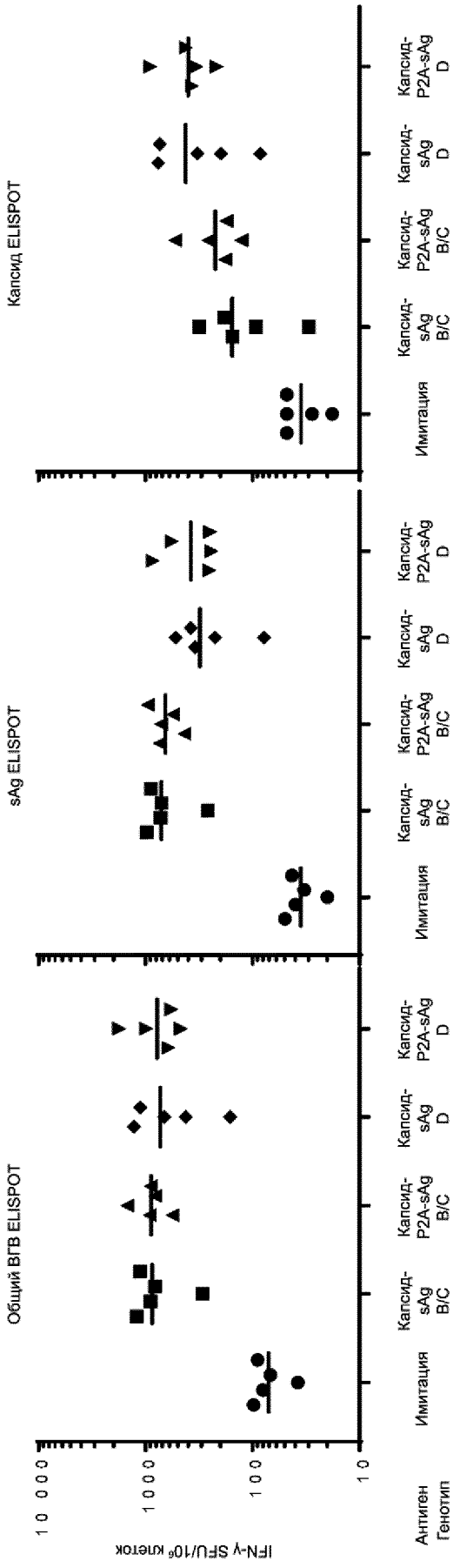
Фиг. 9C



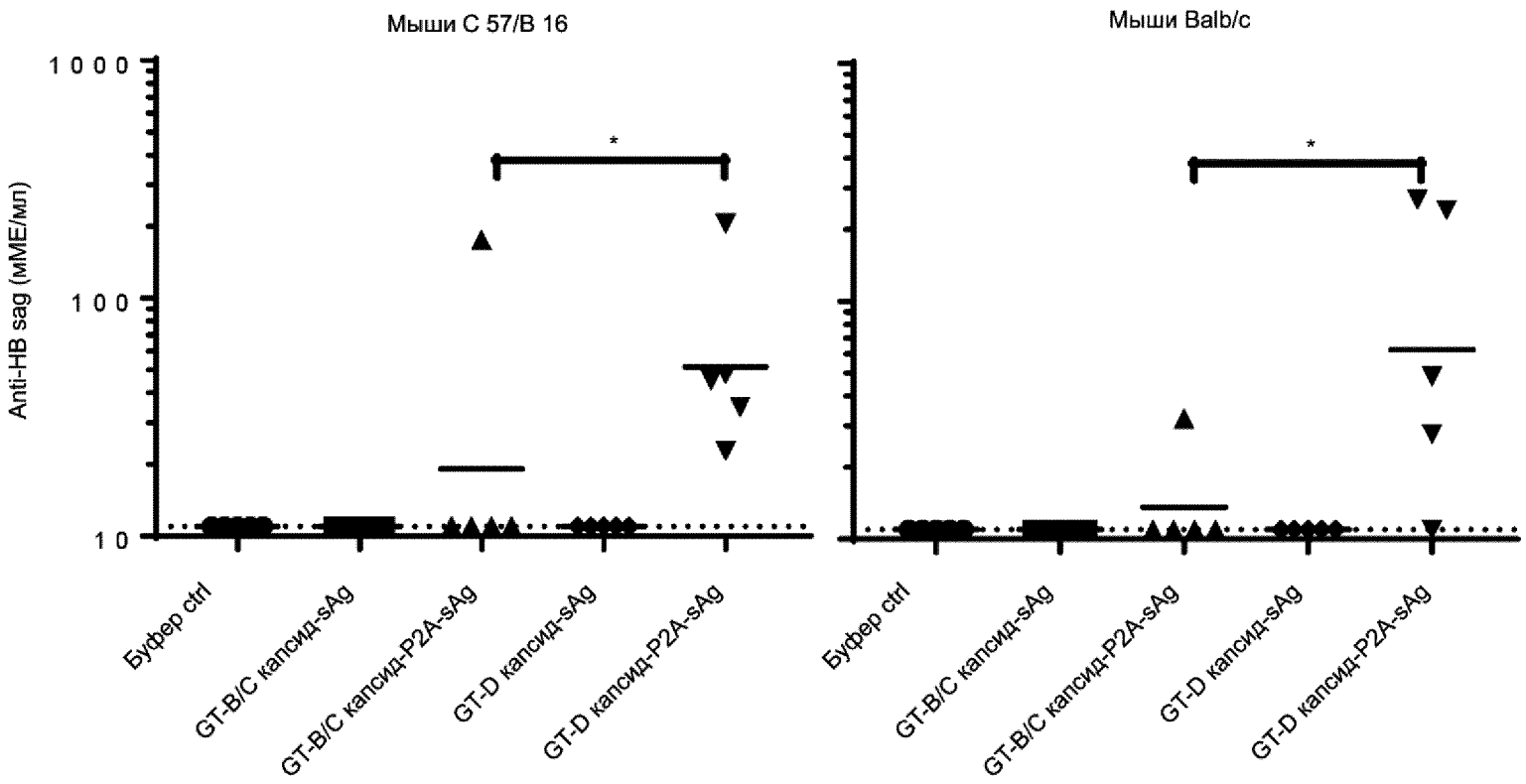
Фиг. 9B-9C


ELISPOT (SFU/10^6 клеток)
10 000
1000
100
10
GT-B Pol$^{\Delta 1}$
GT-B Pol$^{\Delta 3}$
GT-B Pol^{300}
GT-D Pol$^{\Delta 1}$
GT-D Pol$^{\Delta 3}$
GT-D Pol^{300}
Среда ctrl

Фиг. 10

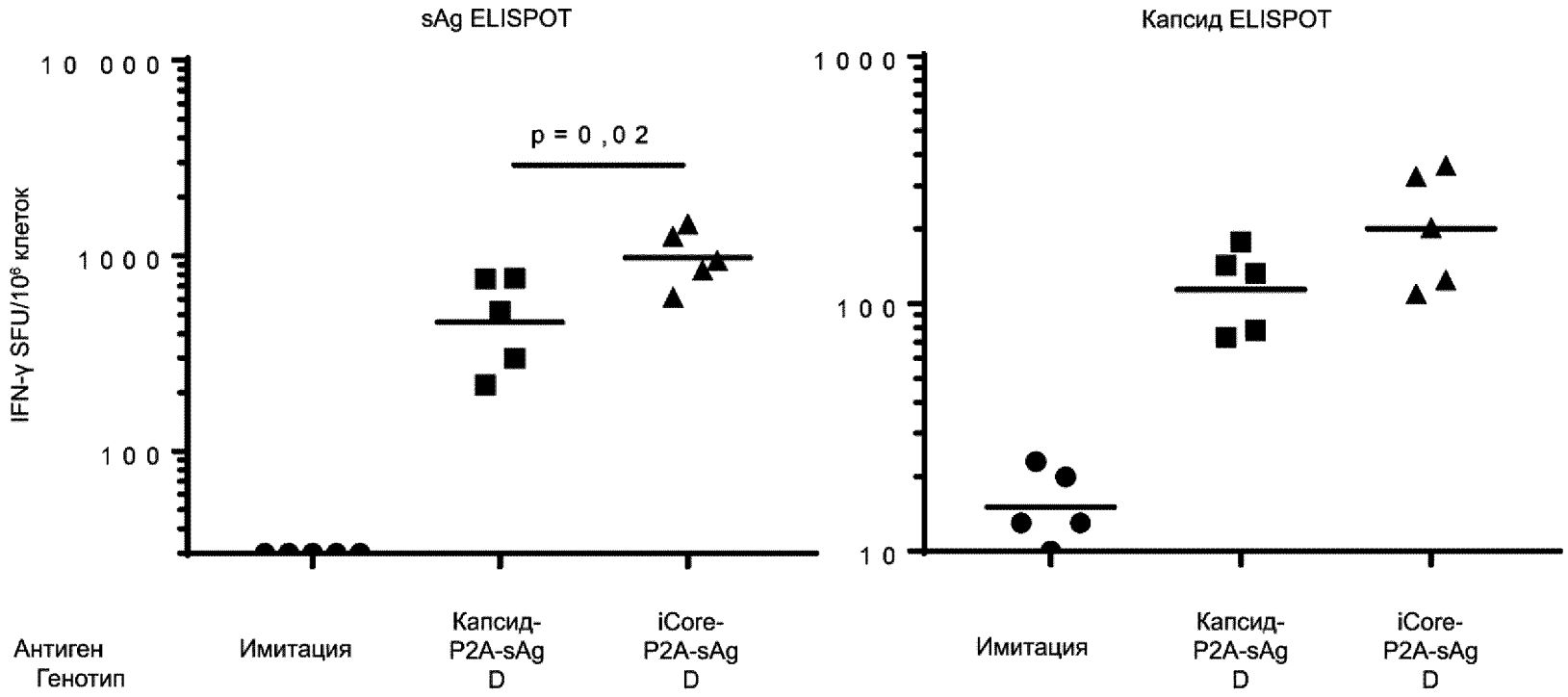

Общий ВГВ ELISPOT
sAg ELISPOT
Капсид ELISPOT
IFN-γ SFU/10⁶ клеток
10 000
1000
100
10
Антиген
Генотип
Имитация
Капсид-sAg B/C
Капсид-P2A-sAg B/C
Капсид-sAg D
Капсид-P2A-sAg D

Фиг. 11



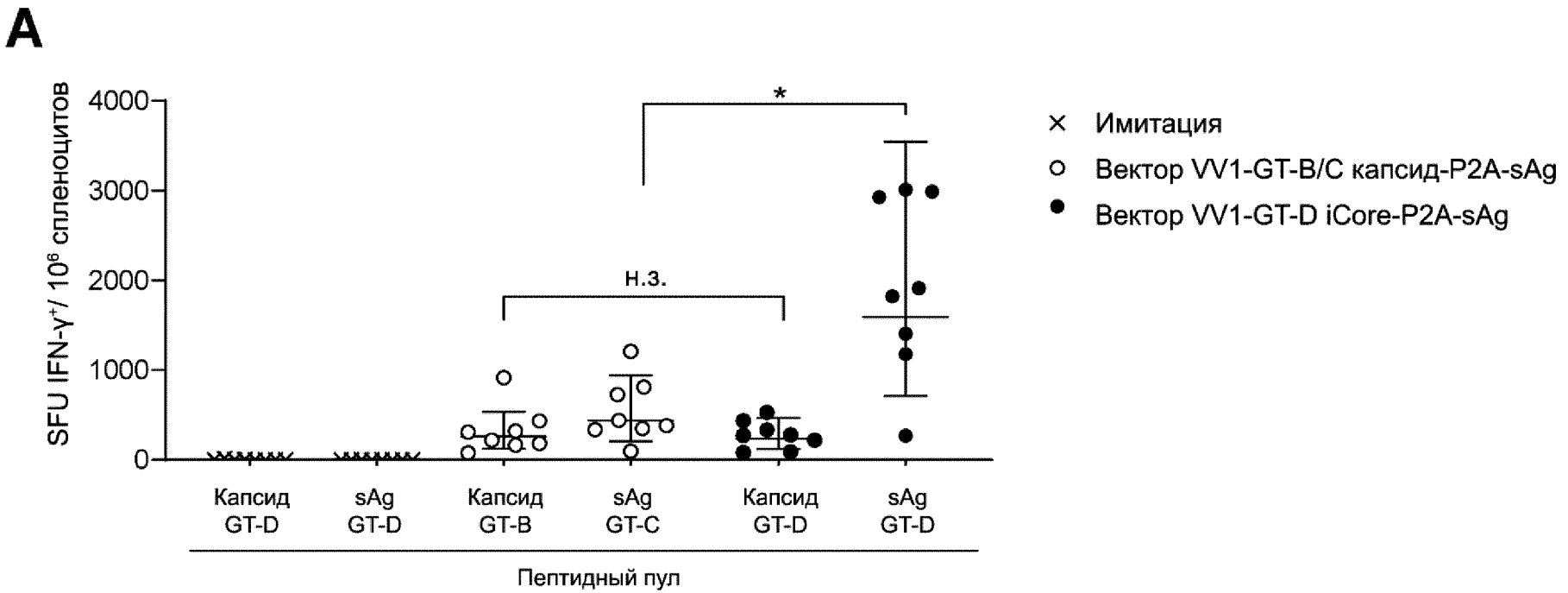
Фиг. 12

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)



Фиг. 13

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

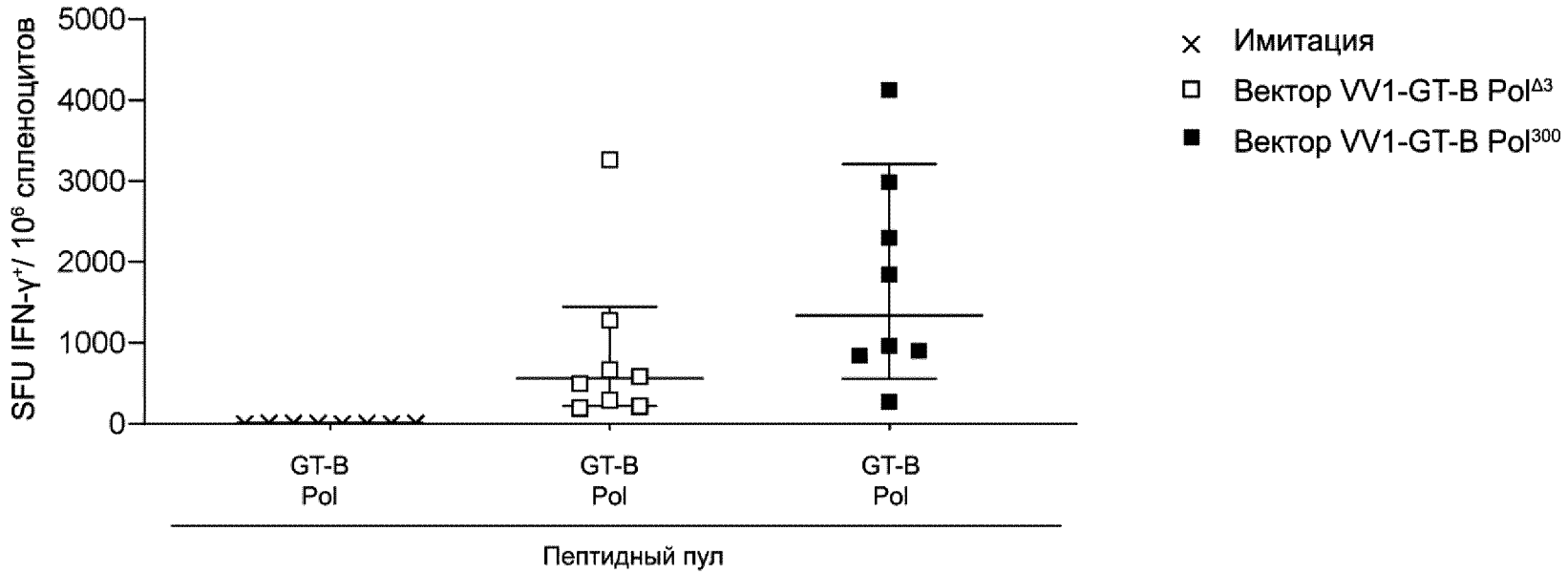


Фиг. 14A

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

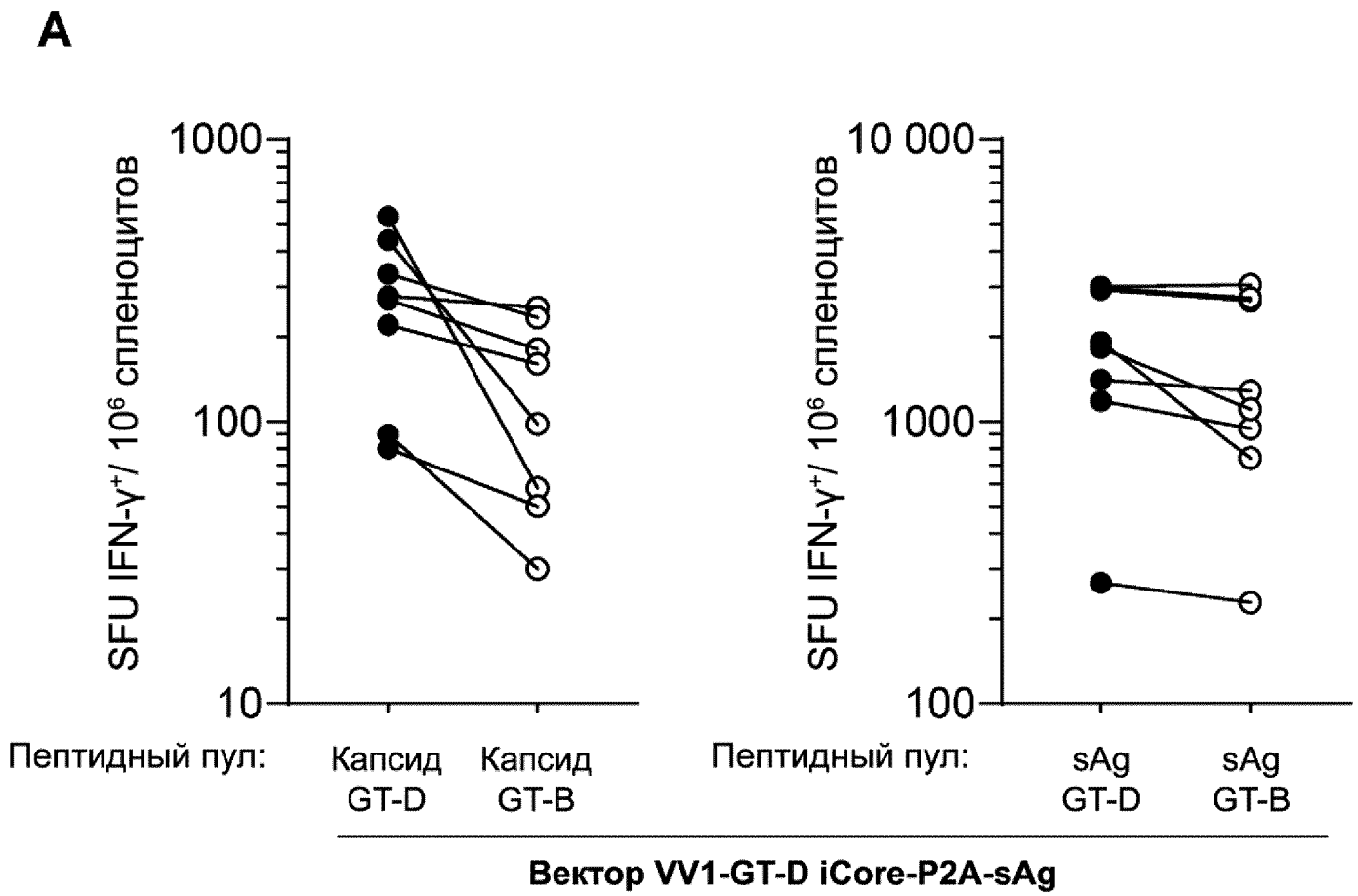
ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

B

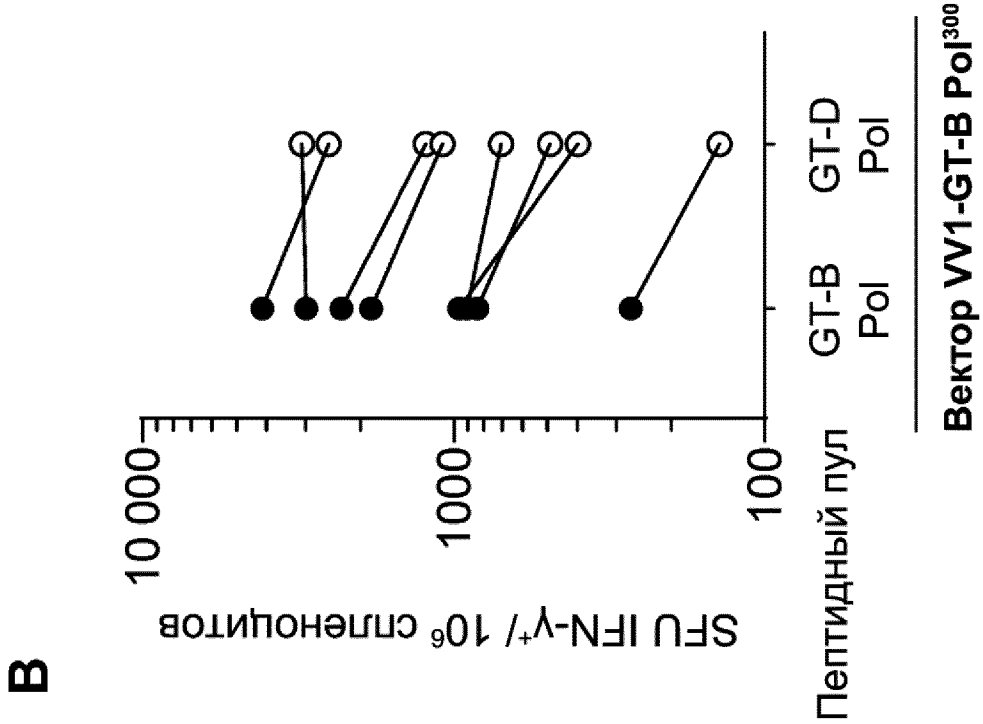


Фиг. 14B

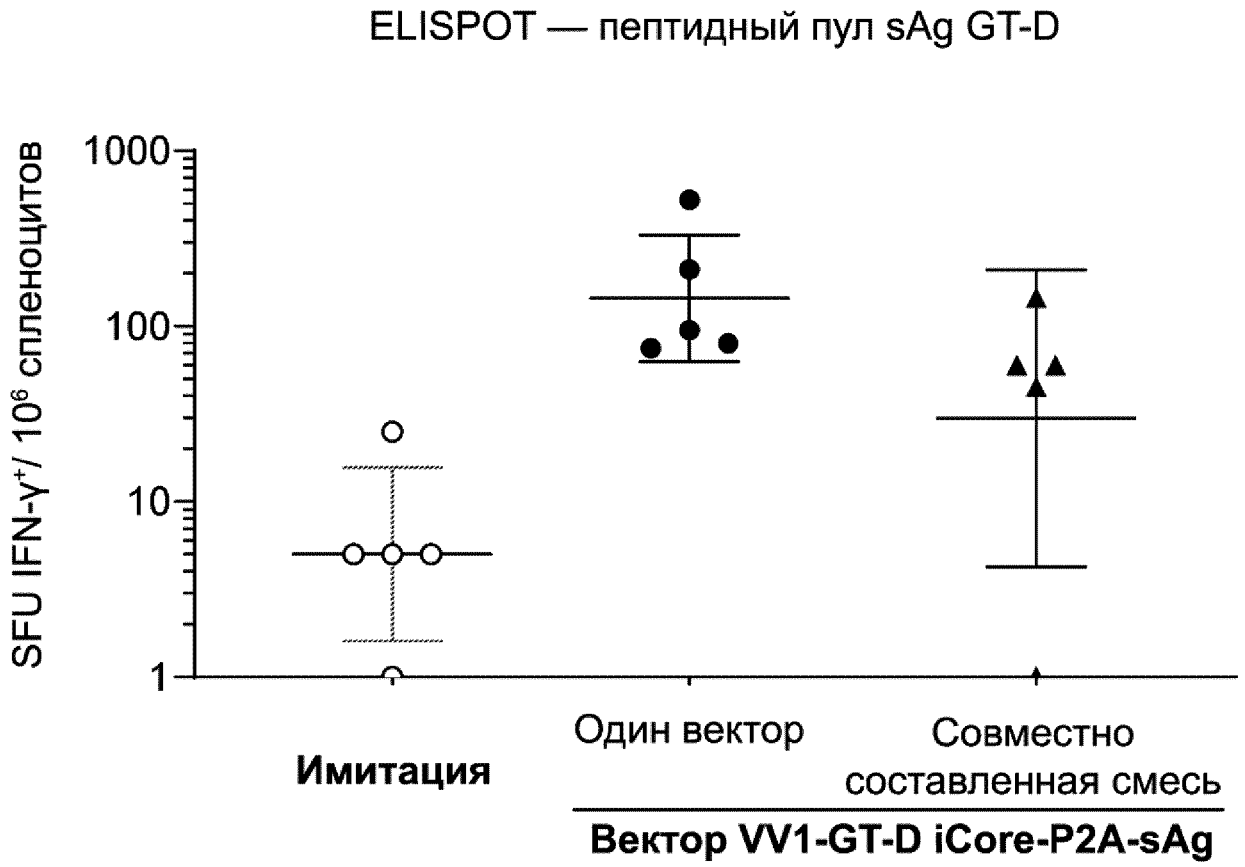
ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)



Фиг. 15A

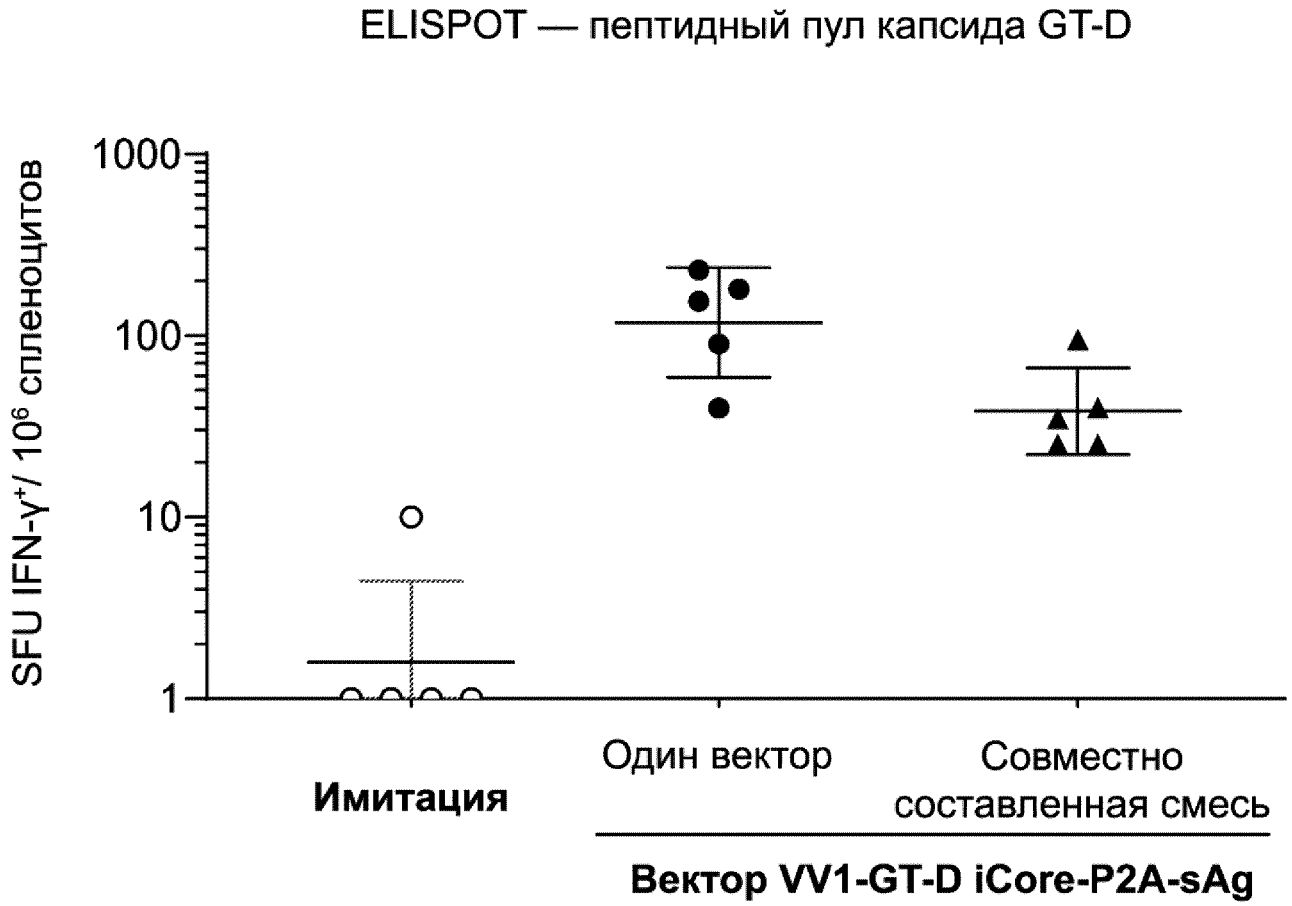

B
SFU IFN-γ+/ 10^6 спленоцитов
10 000
1000
100
Пептидный пул
GT-B Pol
GT-D Pol
Вектор VV1-GT-B Pol300

Фиг. 15B



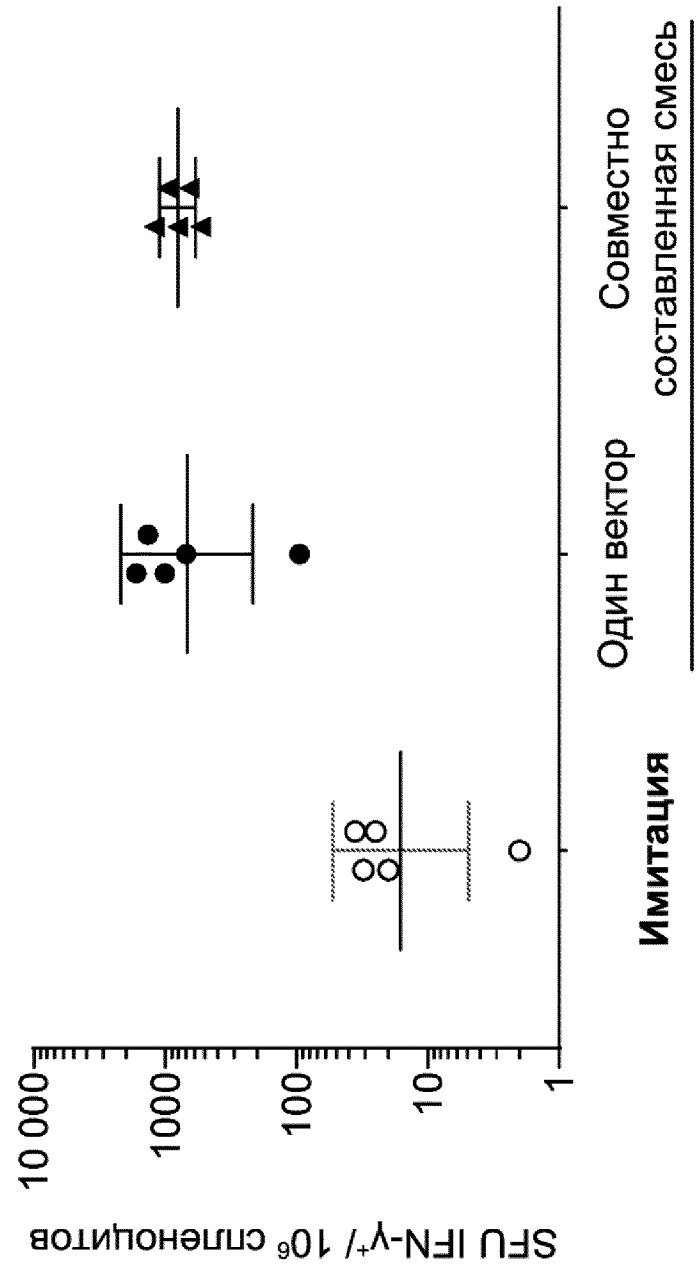
Фиг. 16A

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)



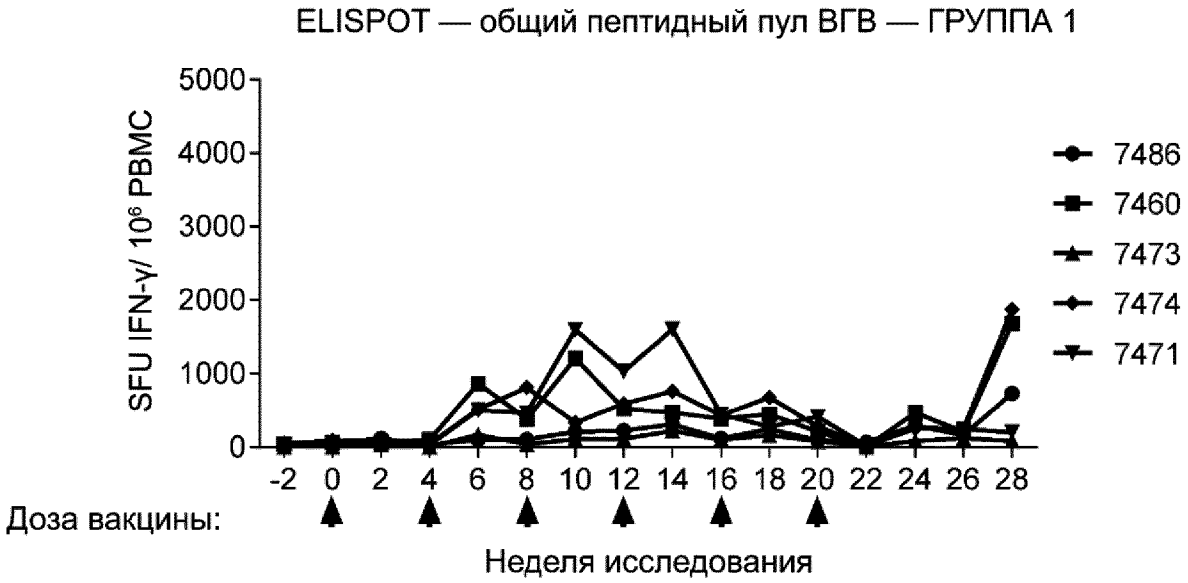
Фиг. 16B

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

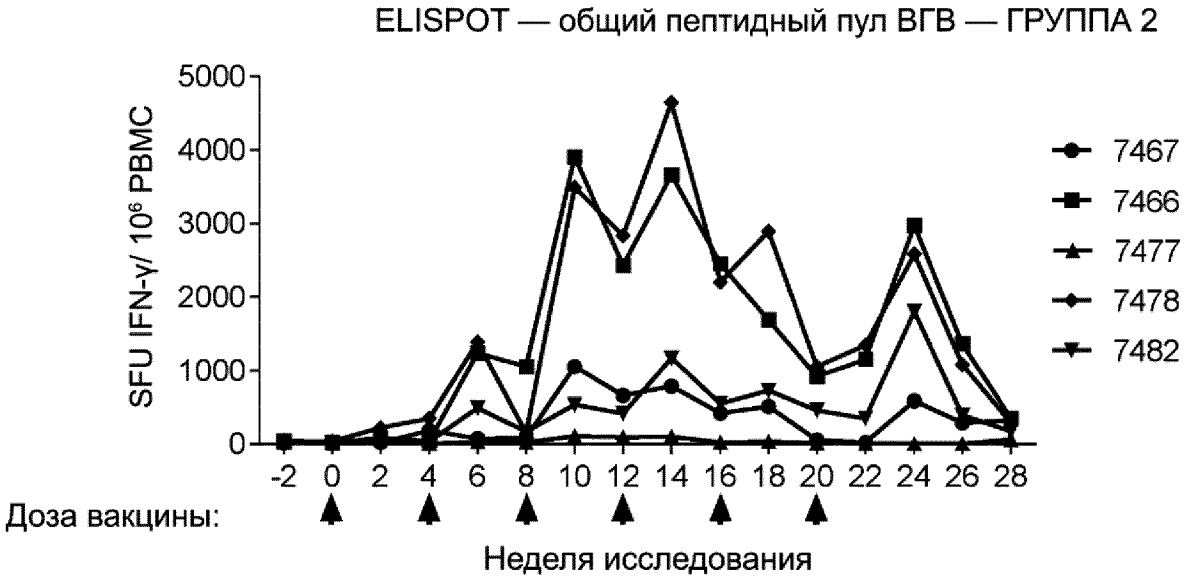

ELISPOT — пептидный пул GT-B Pol
SFU IFN-γ+/ 10^6 спленоцитов
10 000
1000
100
10
1
Имитация
Один вектор
Совместно составленная смесь
Вектор VV1-GT-B Pol300

Фиг. 16C

Фиг. 17A

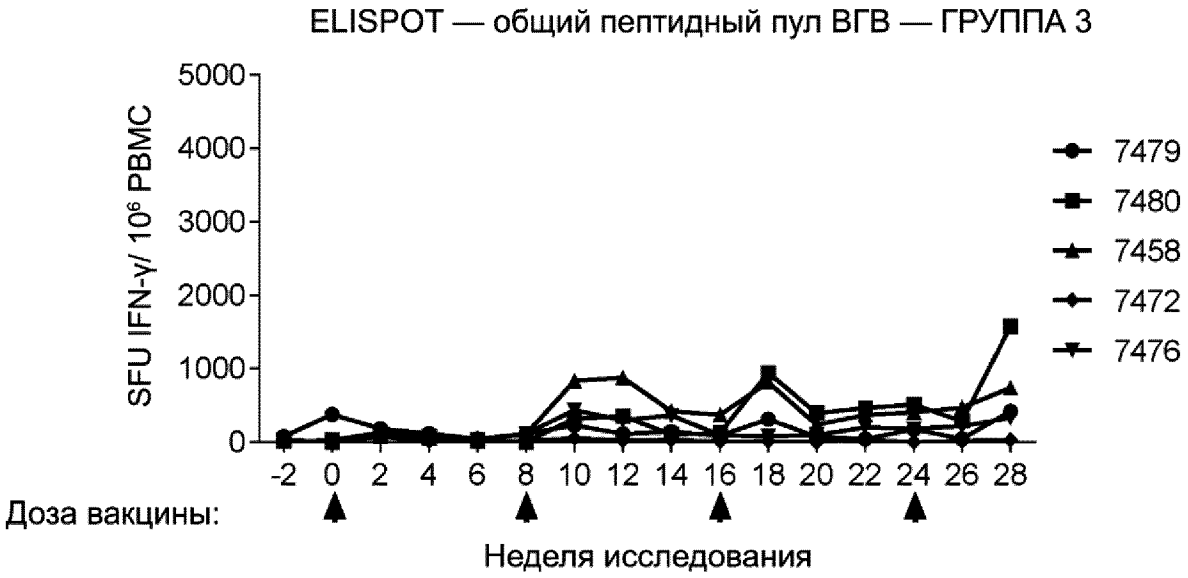


Фиг. 17B

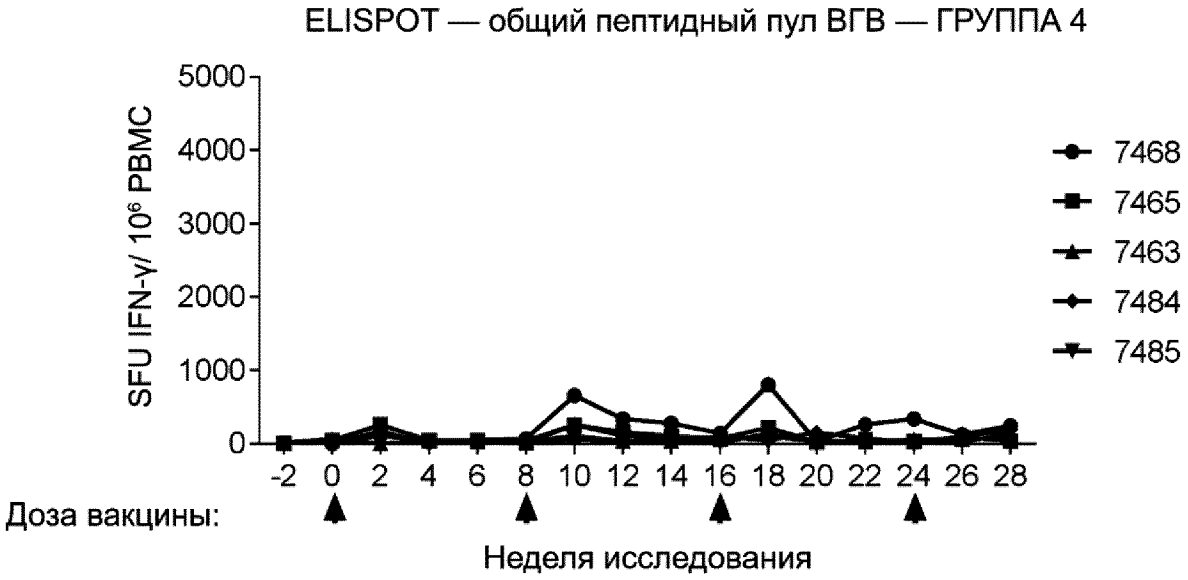


Фиг. 17A-B

Фиг. 17C

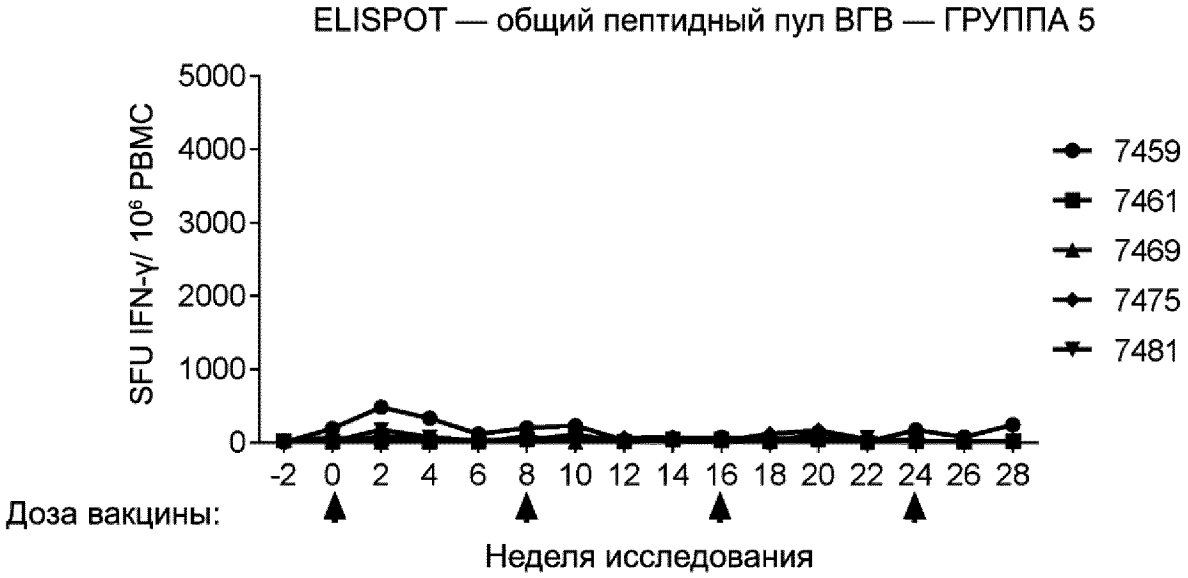


Фиг. 17D

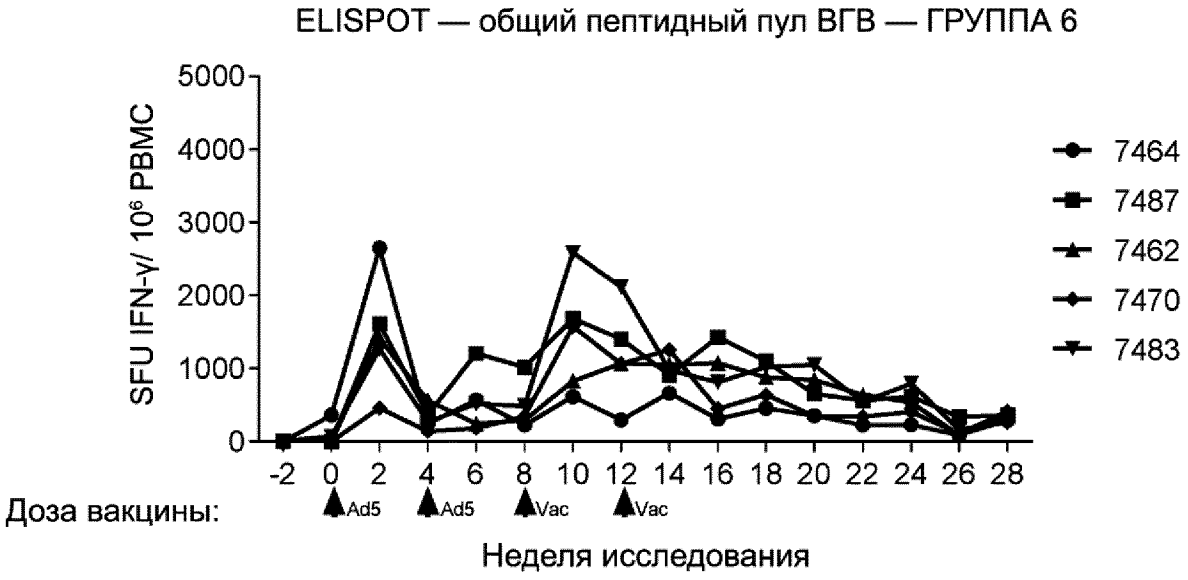


Фиг. 17C-D

Фиг. 17E



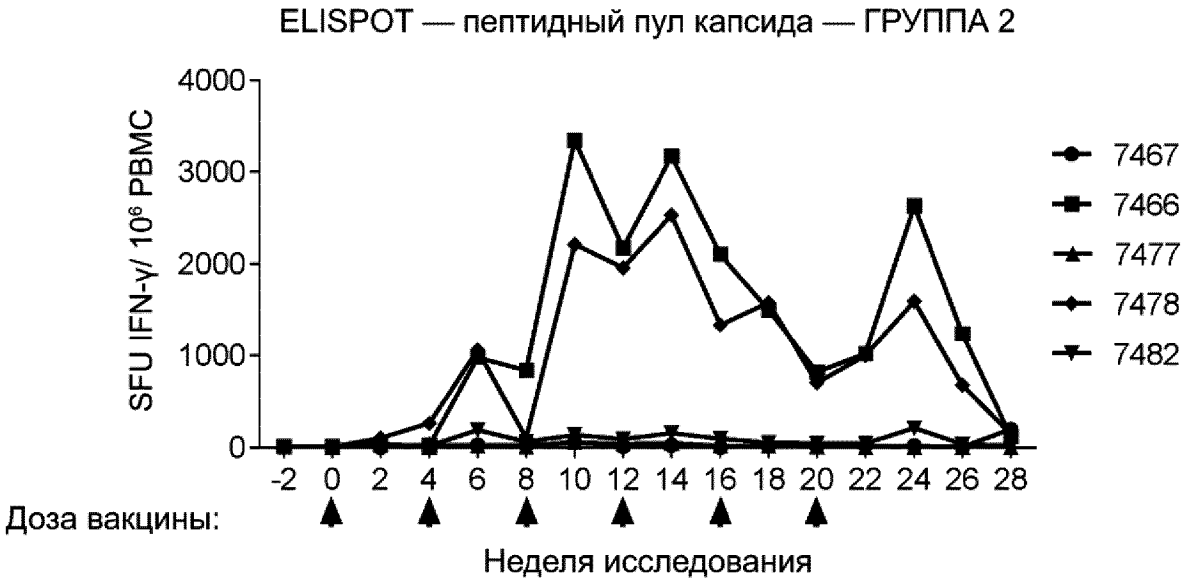
Фиг. 17F



Фиг. 17E-F

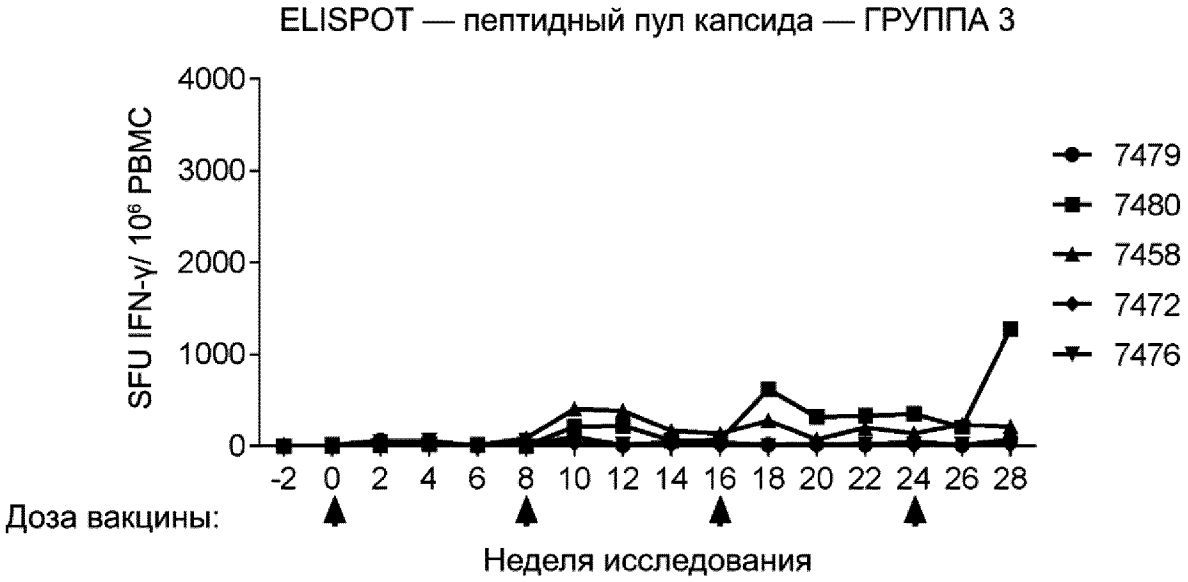
Фиг. 18A

Фиг. 18B

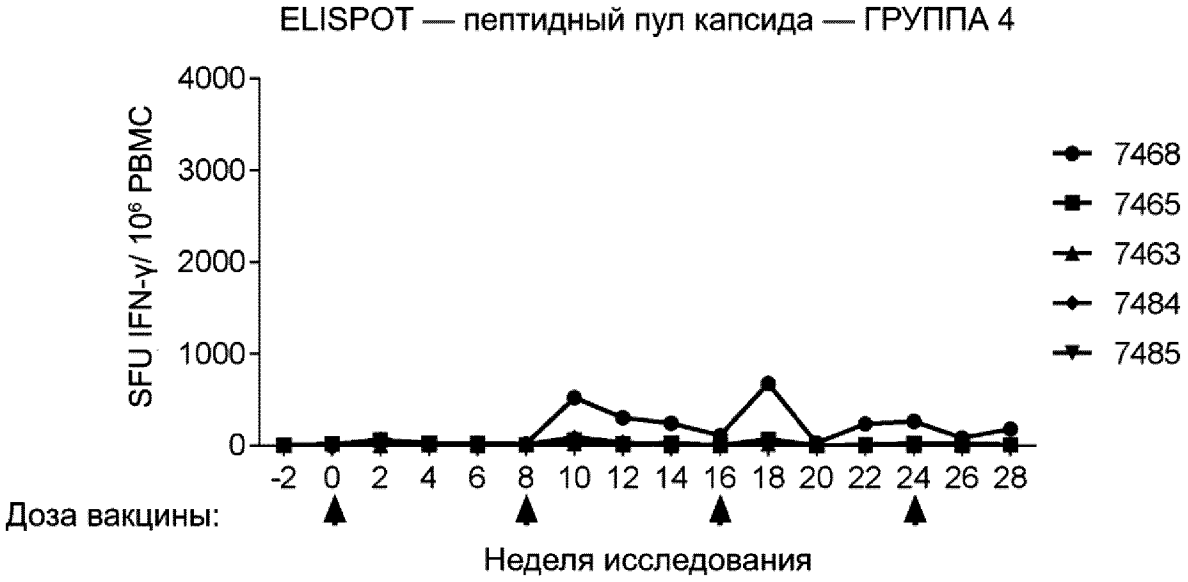


Фиг. 18A-B

Фиг. 18C

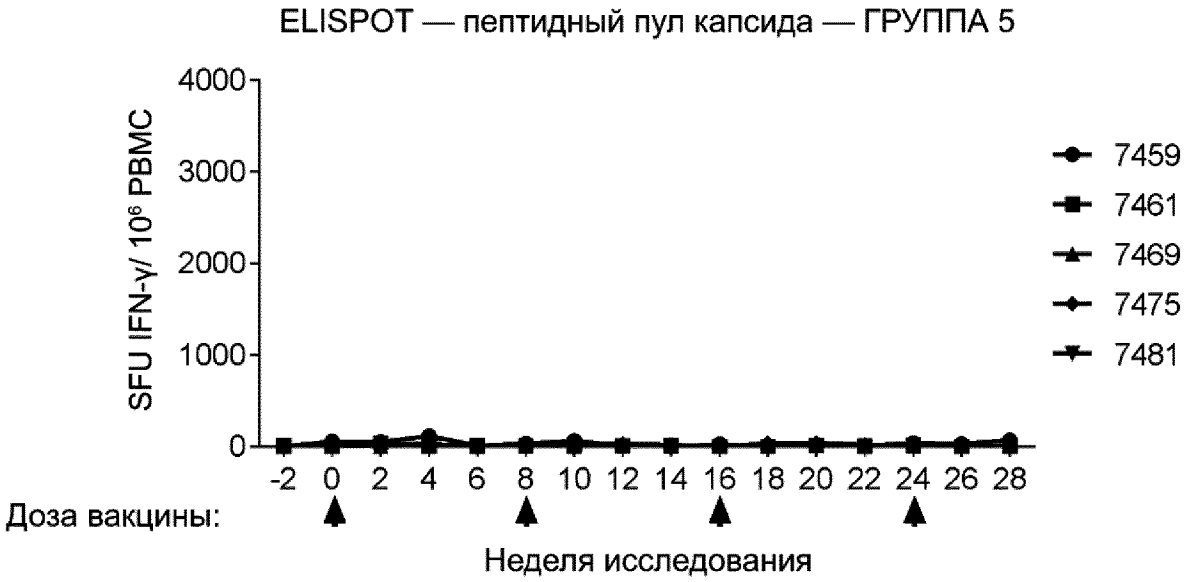


Фиг. 18D

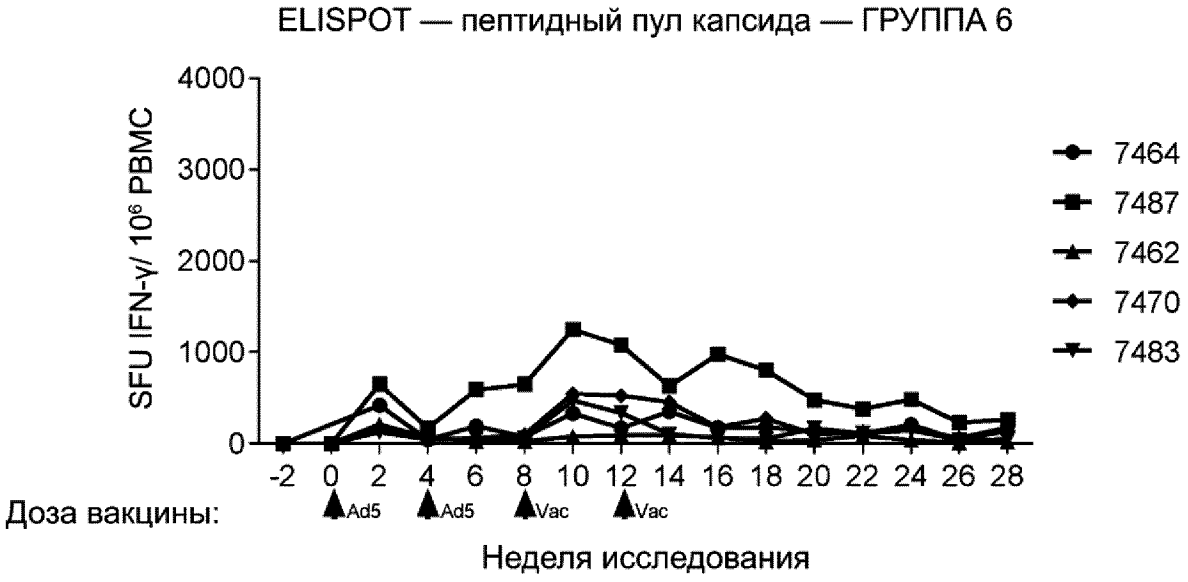


Фиг. 18C-D

Фиг. 18E

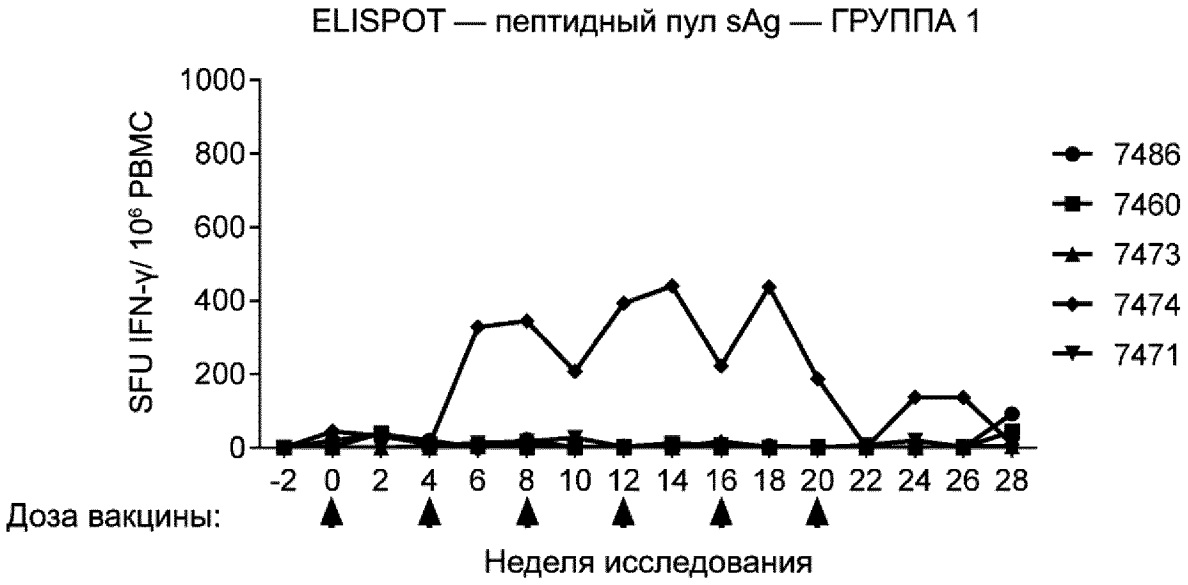


Фиг. 18F

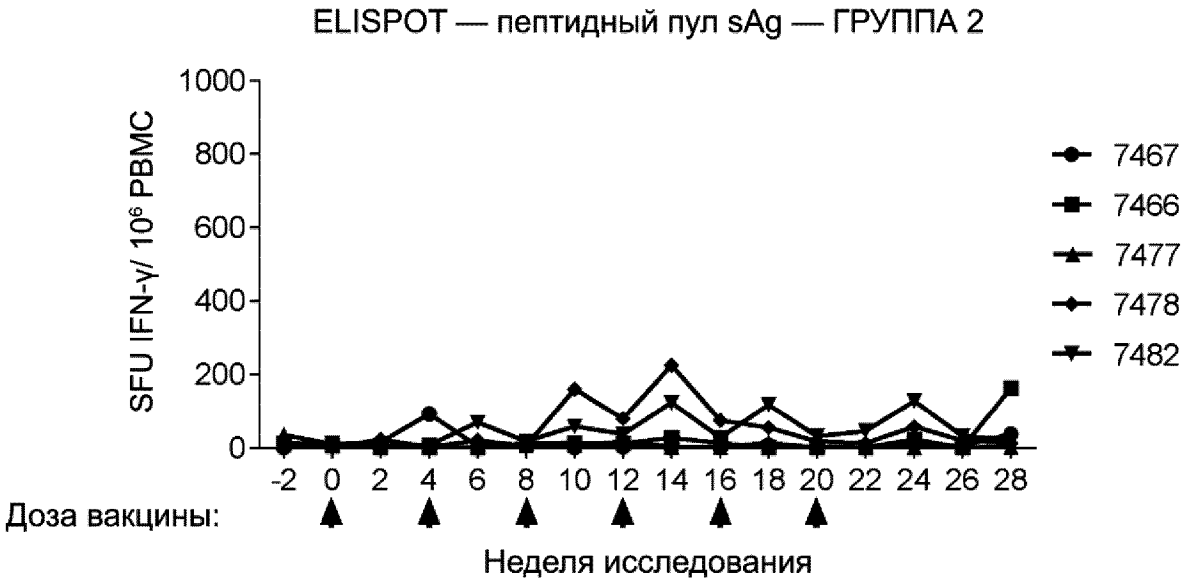


Фиг. 18E-F

Фиг. 19A

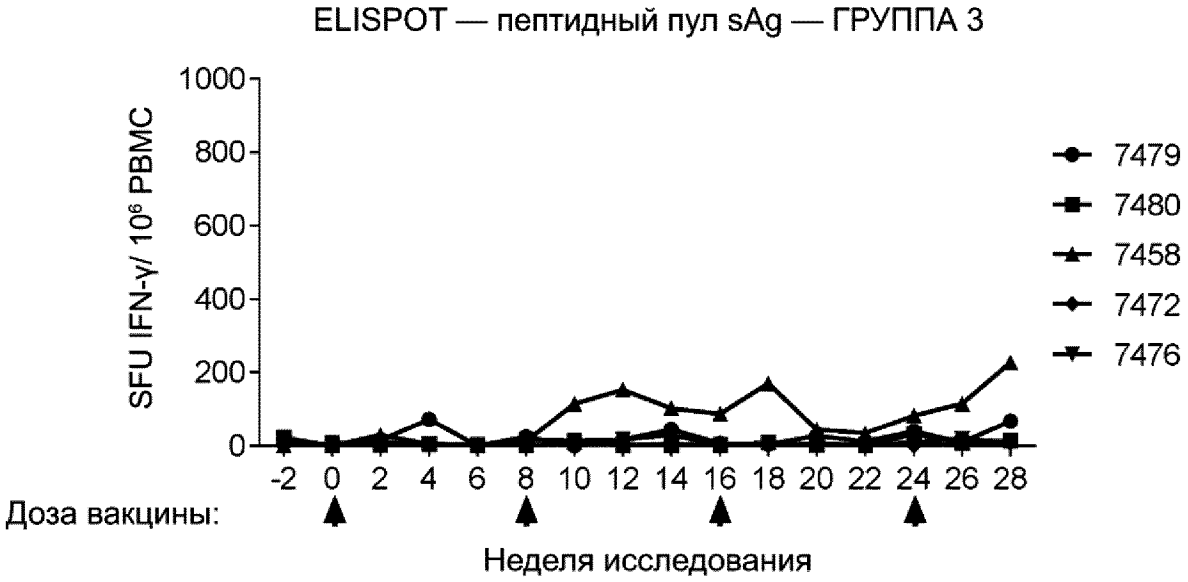


Фиг. 19B

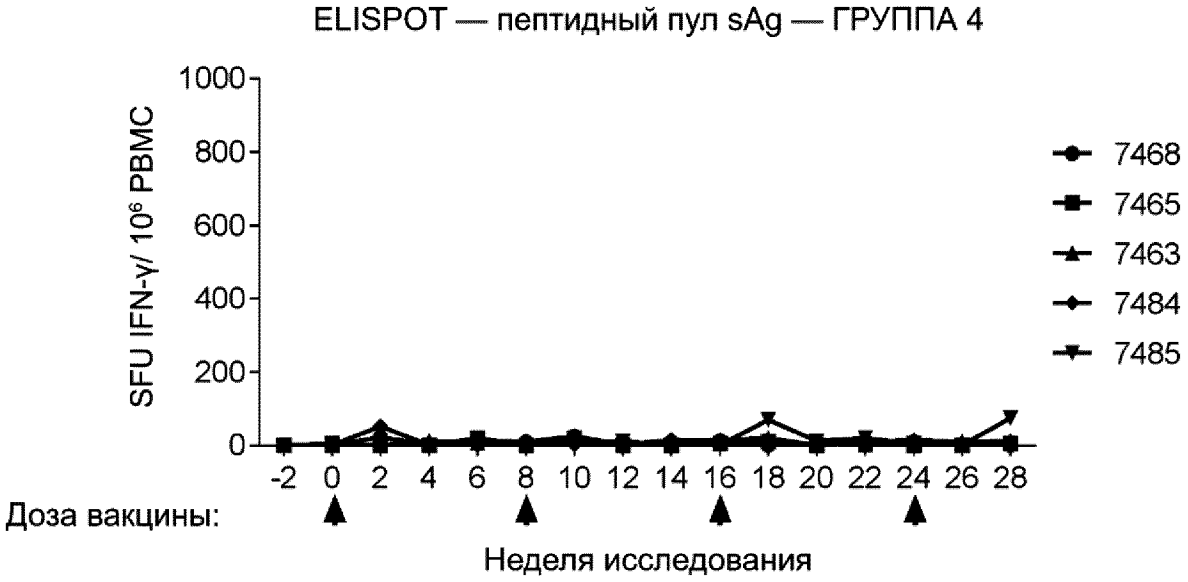


Фиг. 19A-B

Фиг. 19C

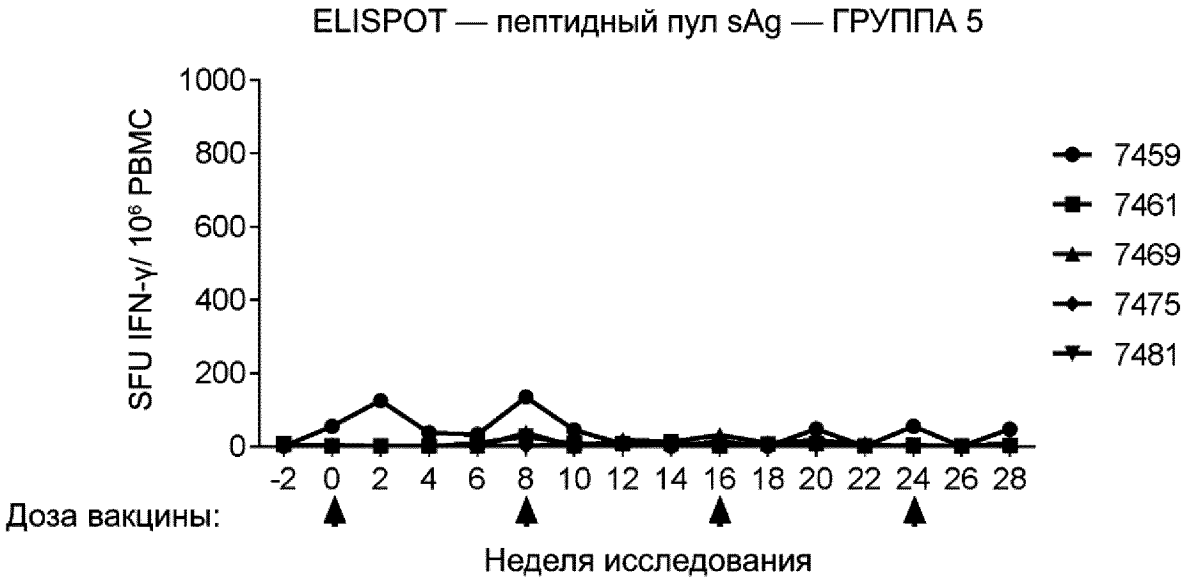


Фиг. 19D

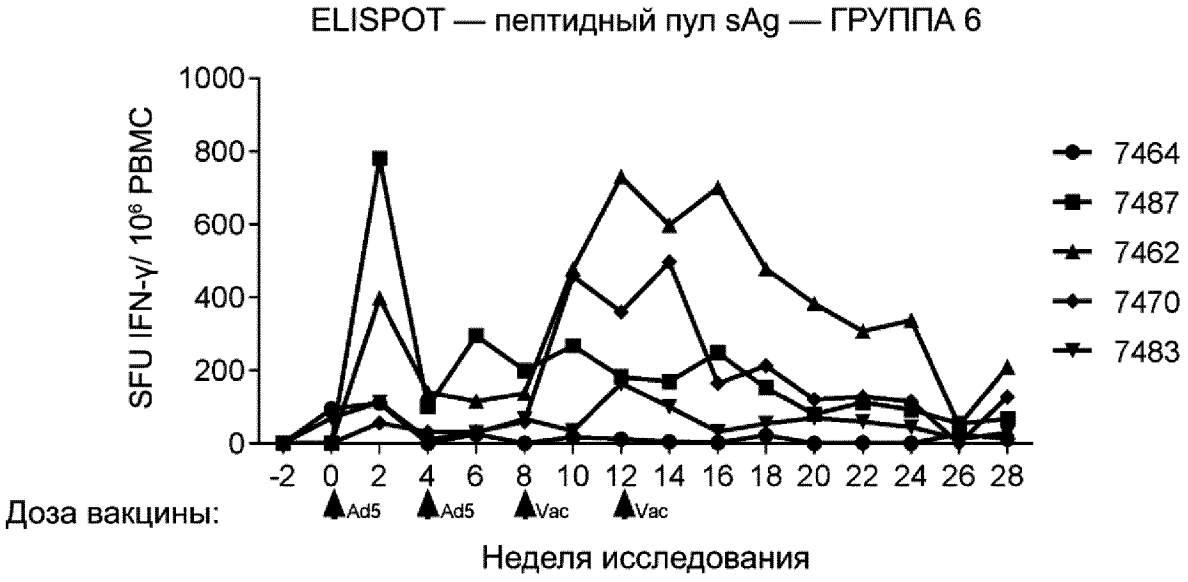


Фиг. 19C-D

Фиг. 19E

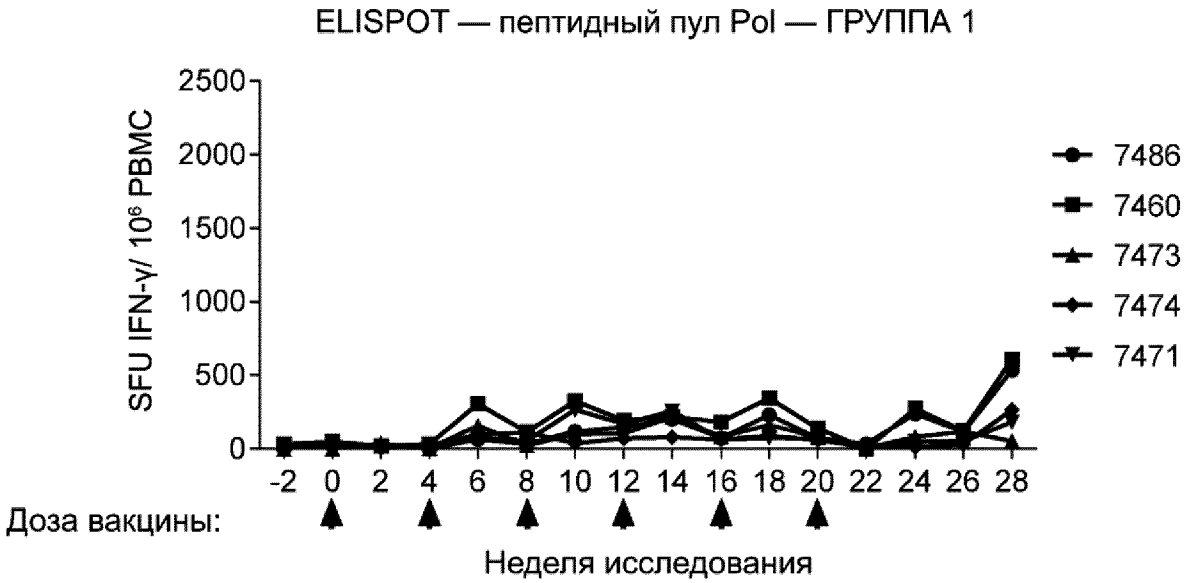


Фиг. 19F

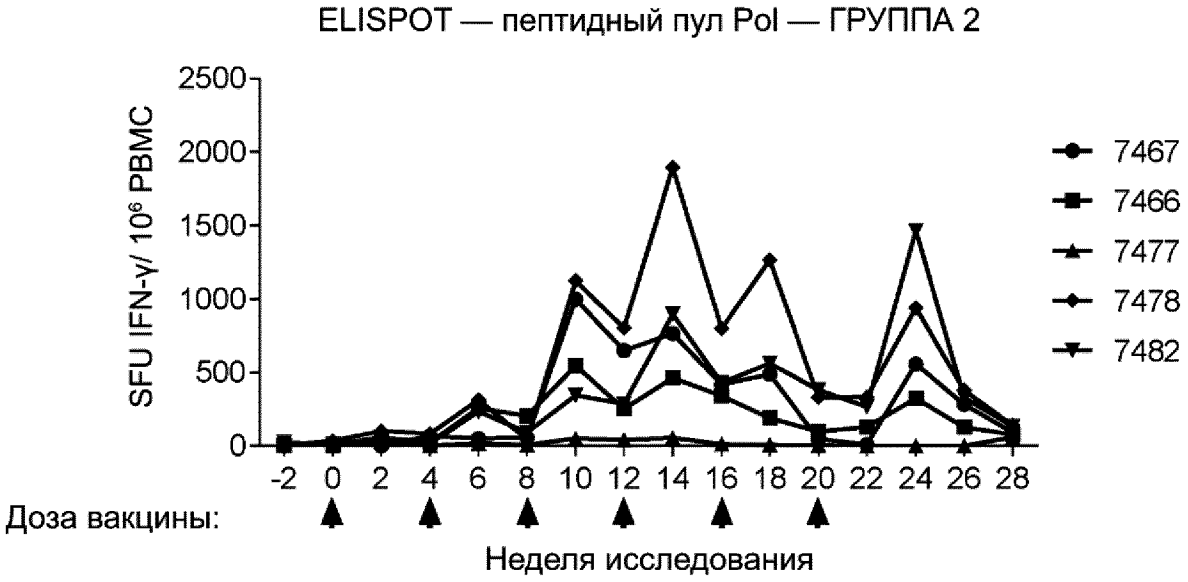


Фиг. 19E-F

Фиг. 20A

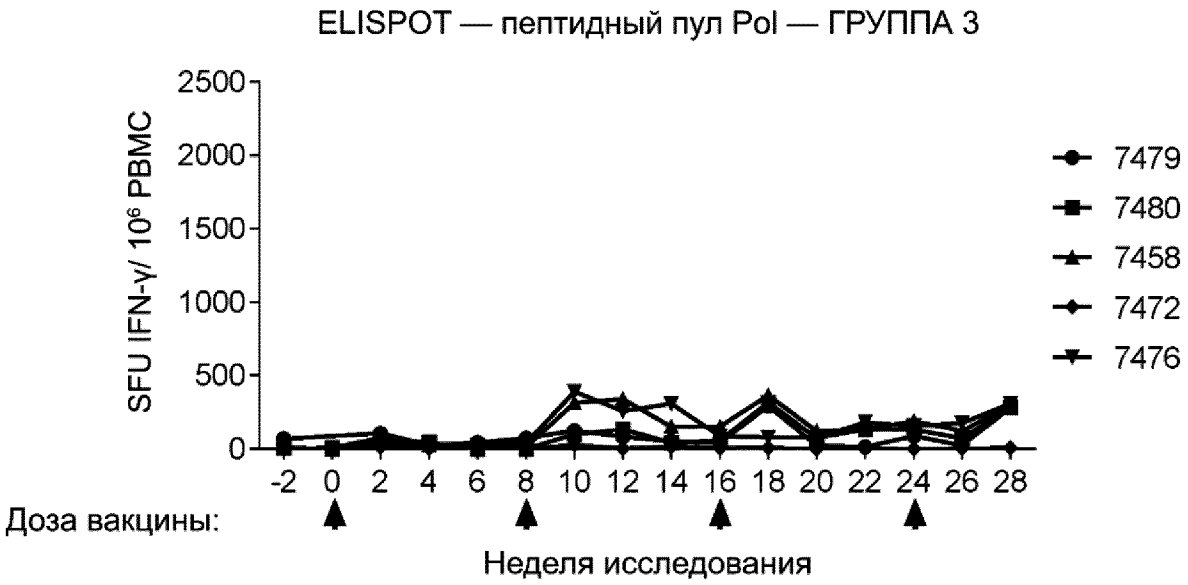


Фиг. 20B

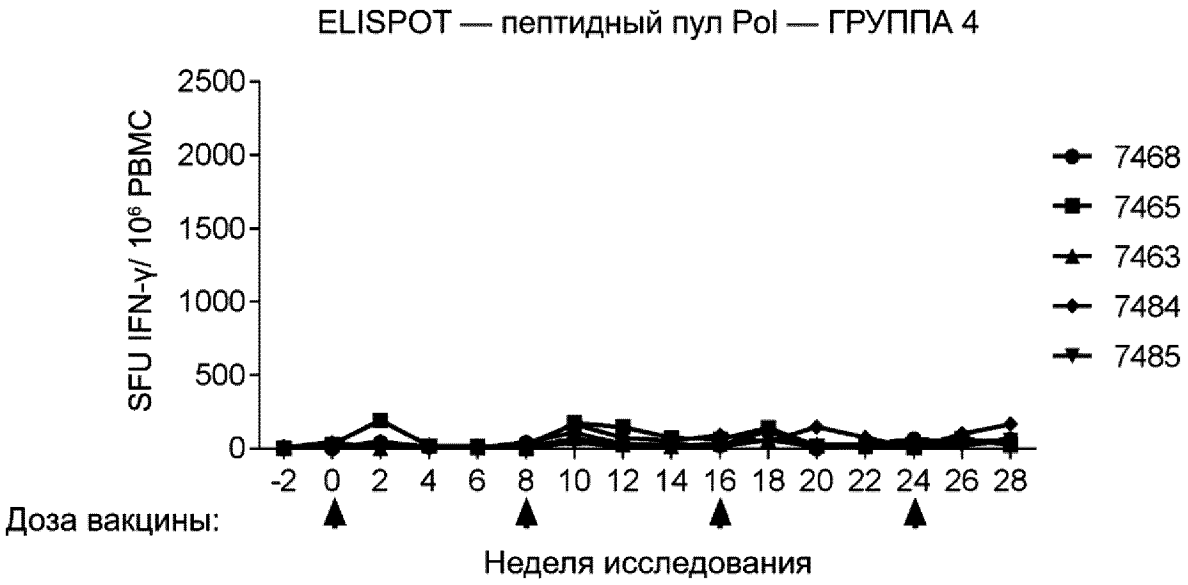


Фиг. 20A-B

Фиг. 20C

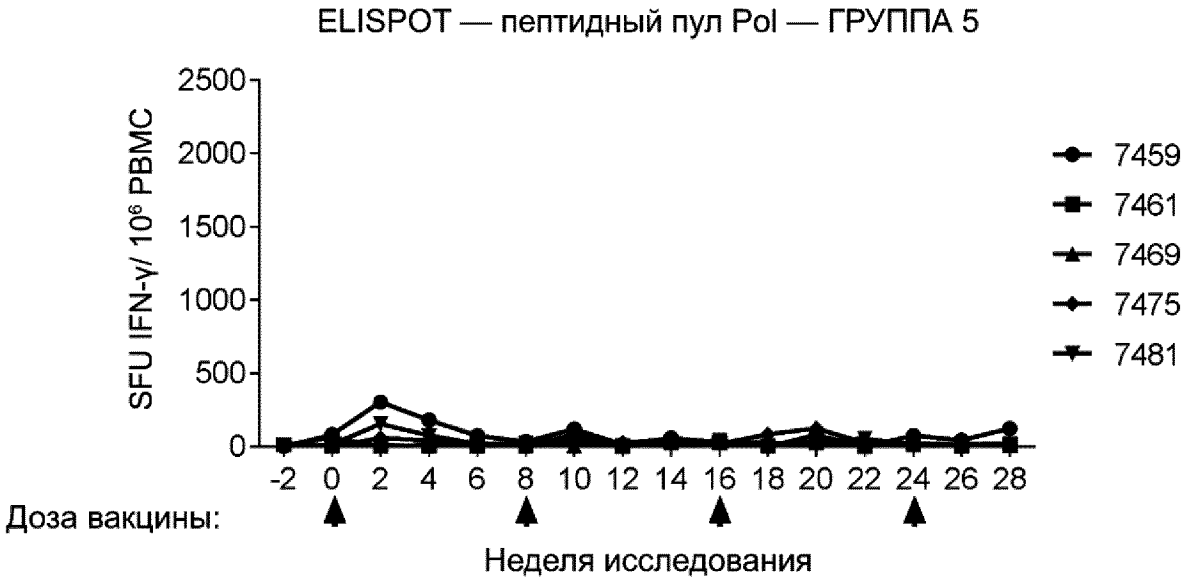


Фиг. 20D

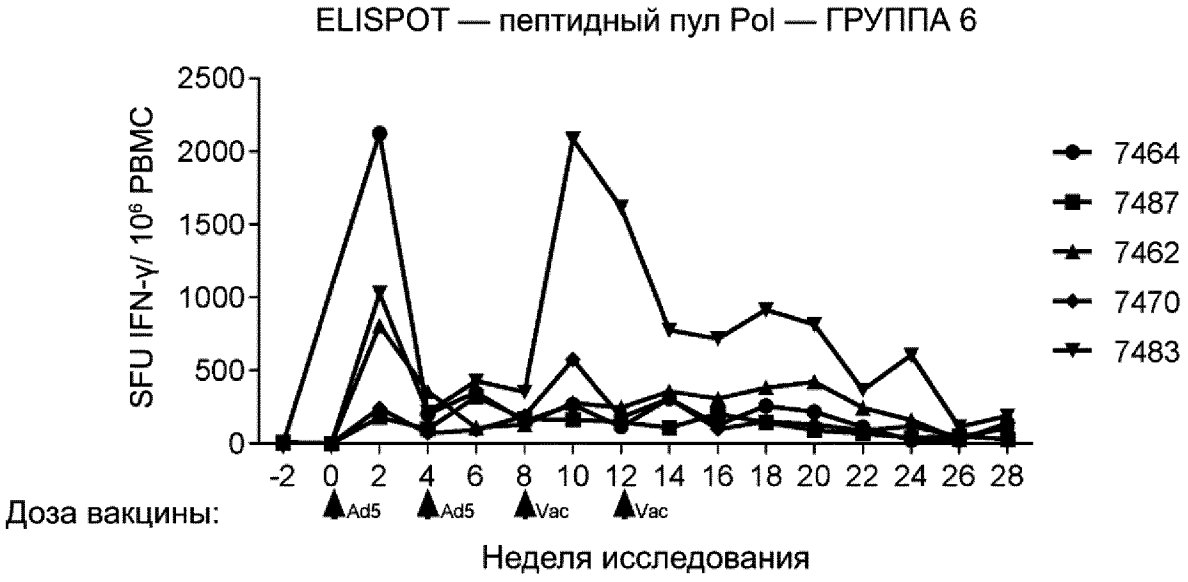


Фиг. 20C-D

Фиг. 20E

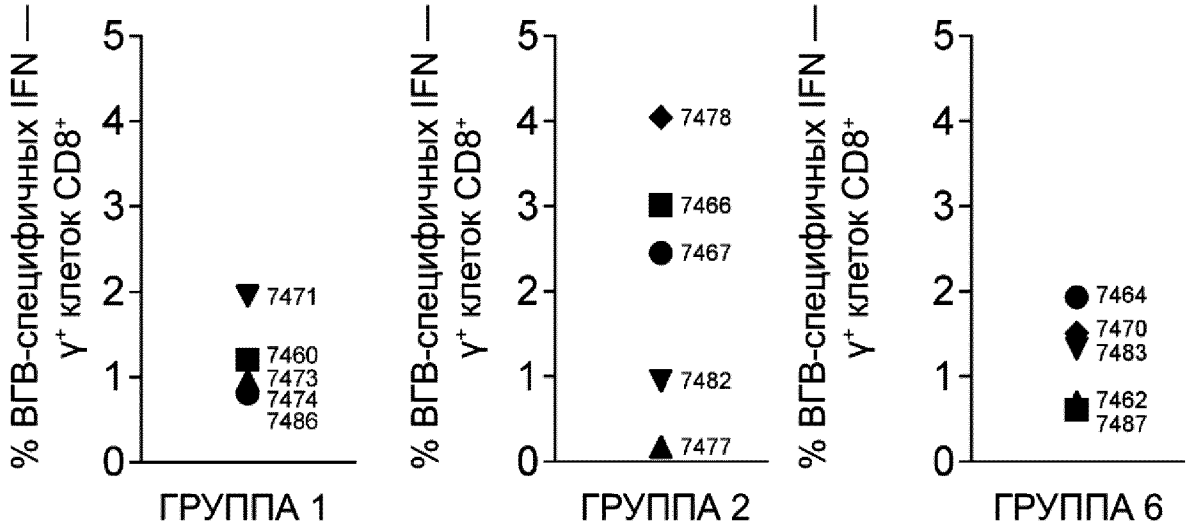


Фиг. 20F

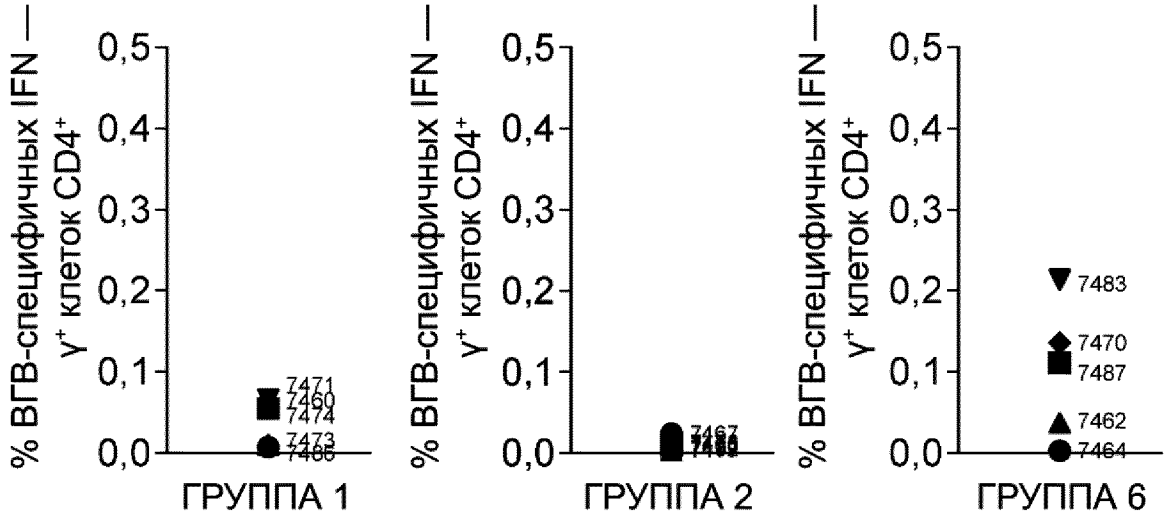


Фиг. 20E-F

Фиг. 21A

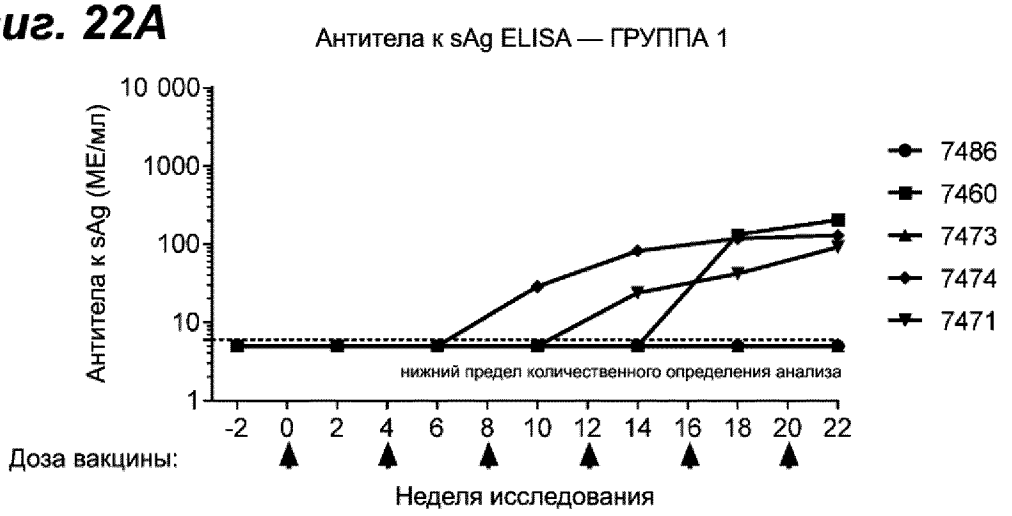


Фиг. 21B

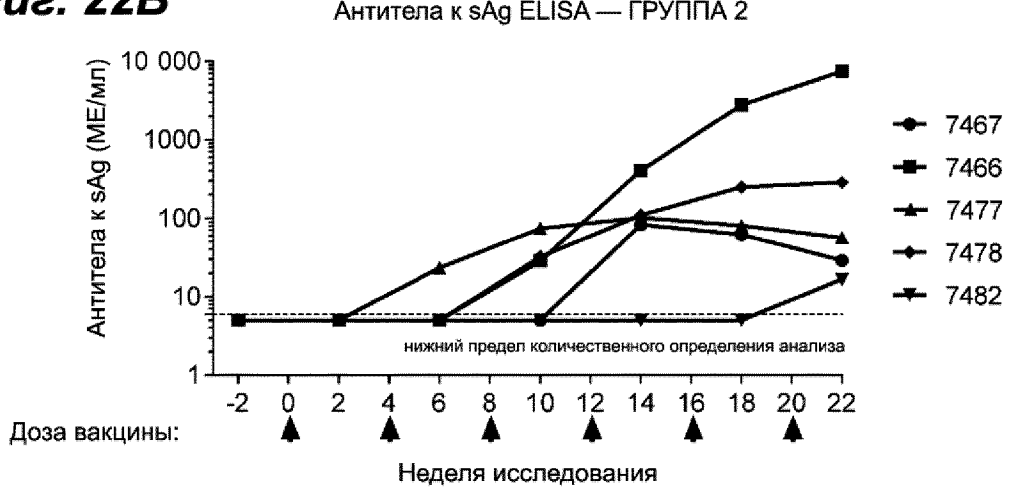


Фиг. 21A-B

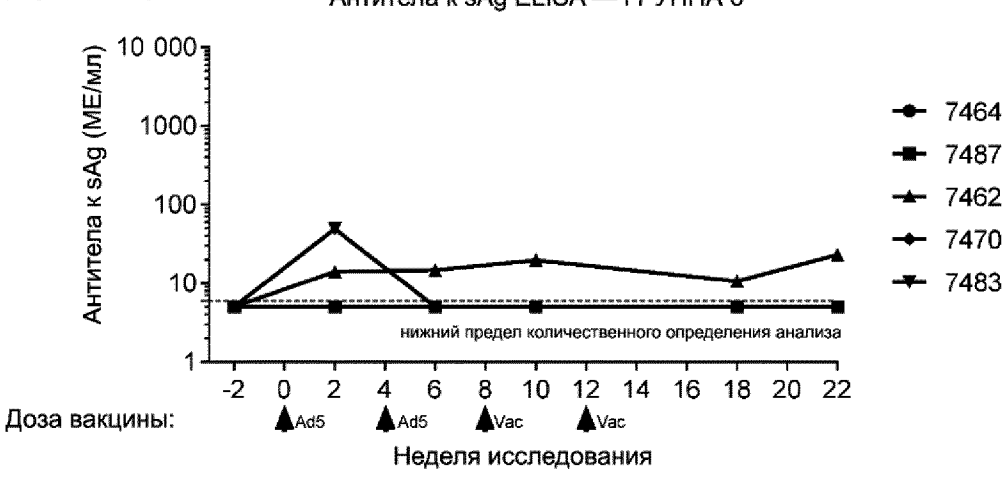
Фиг. 22A



Фиг. 22B

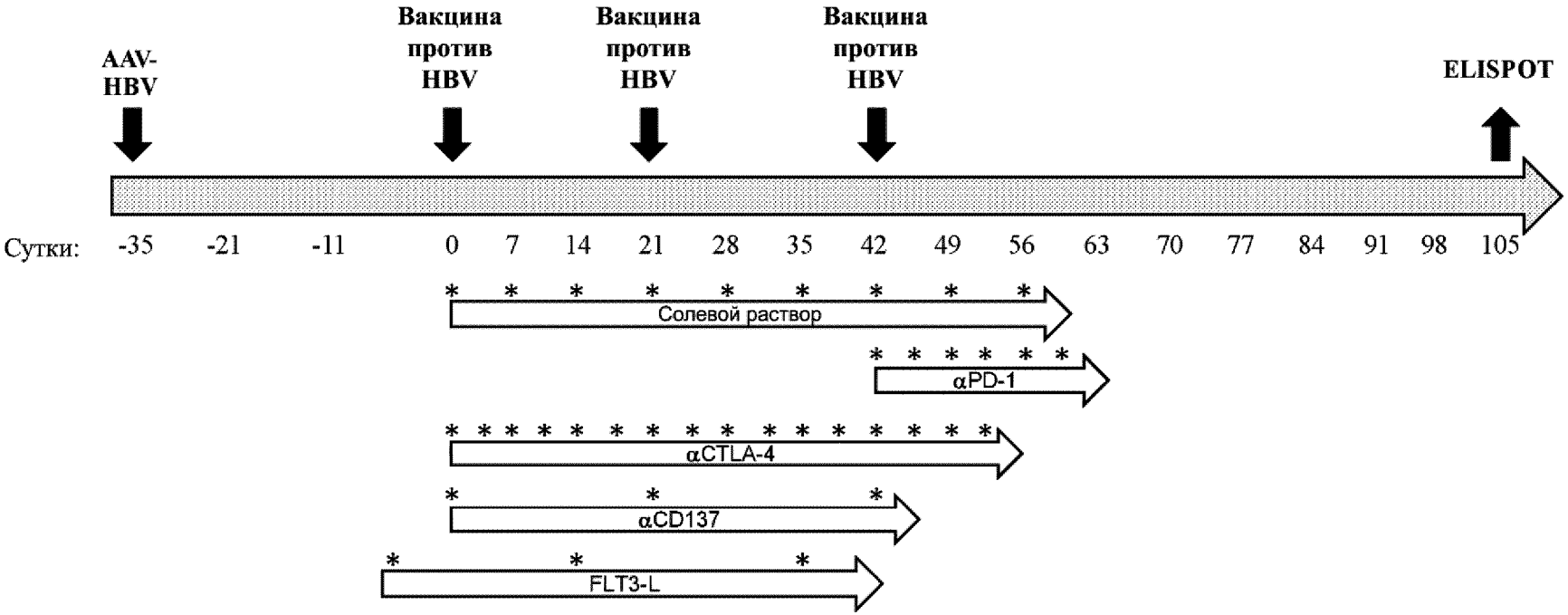


Фиг. 22C



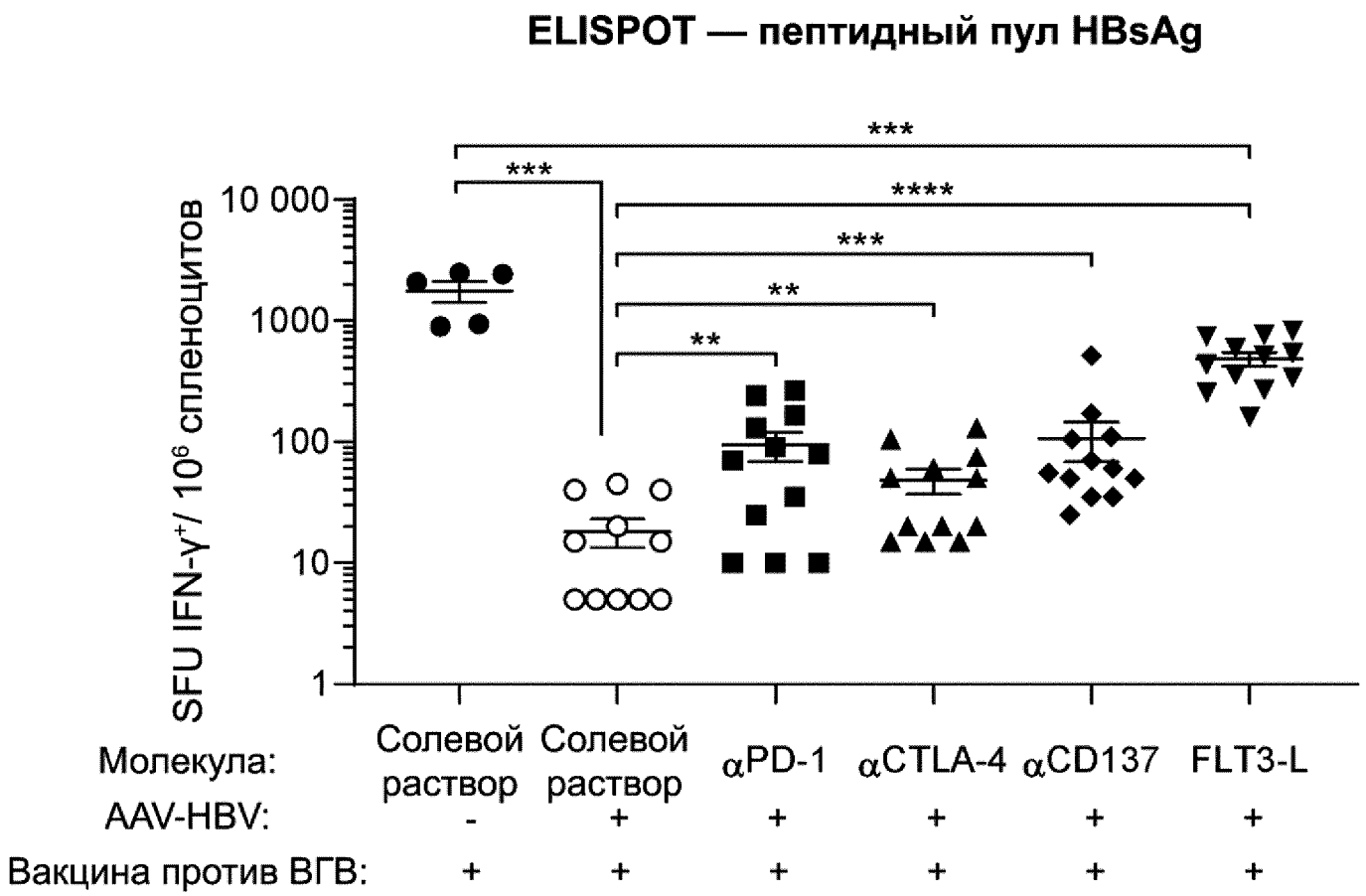
Фиг. 22A-C

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)



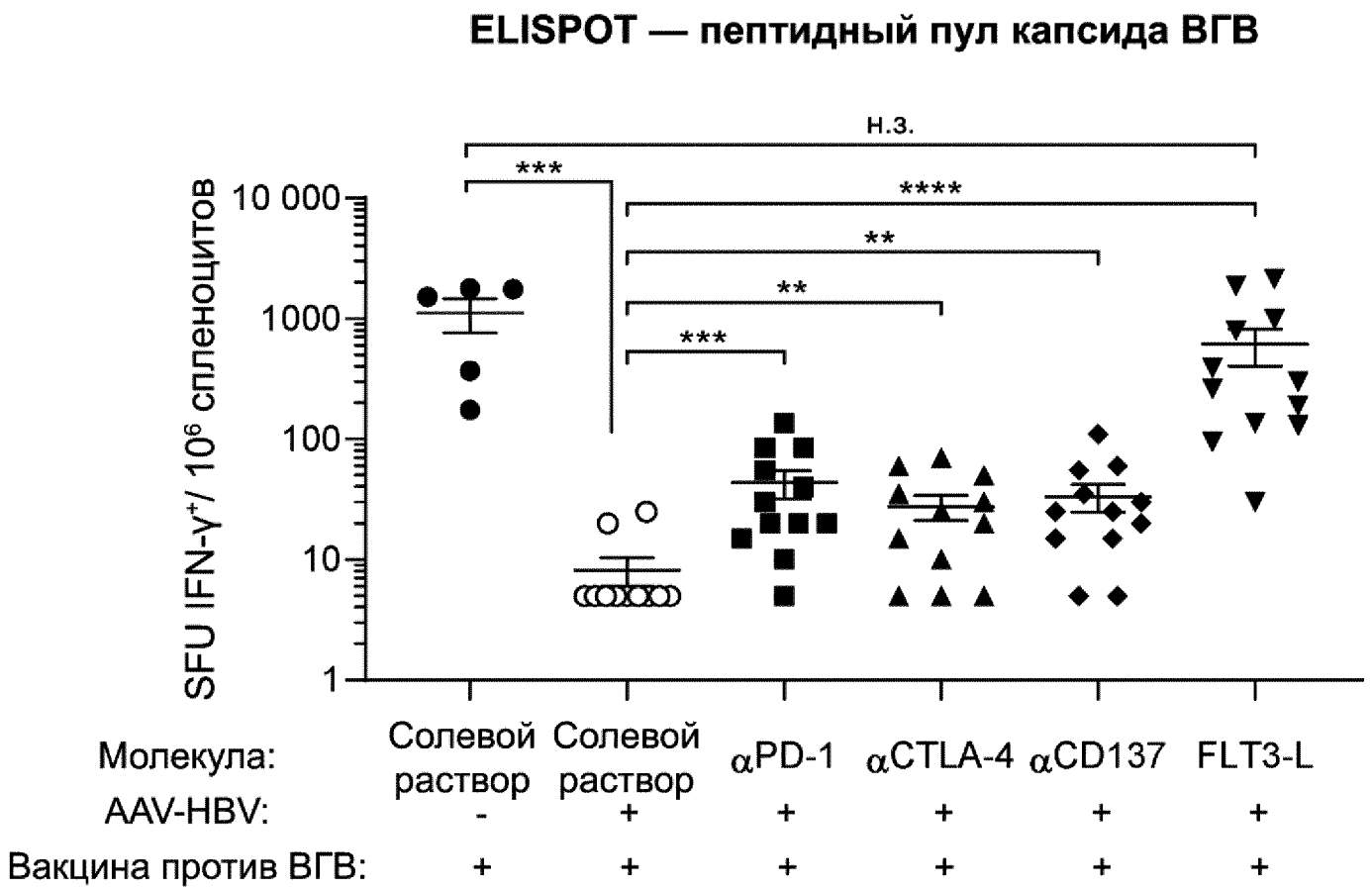
Фиг. 23

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)



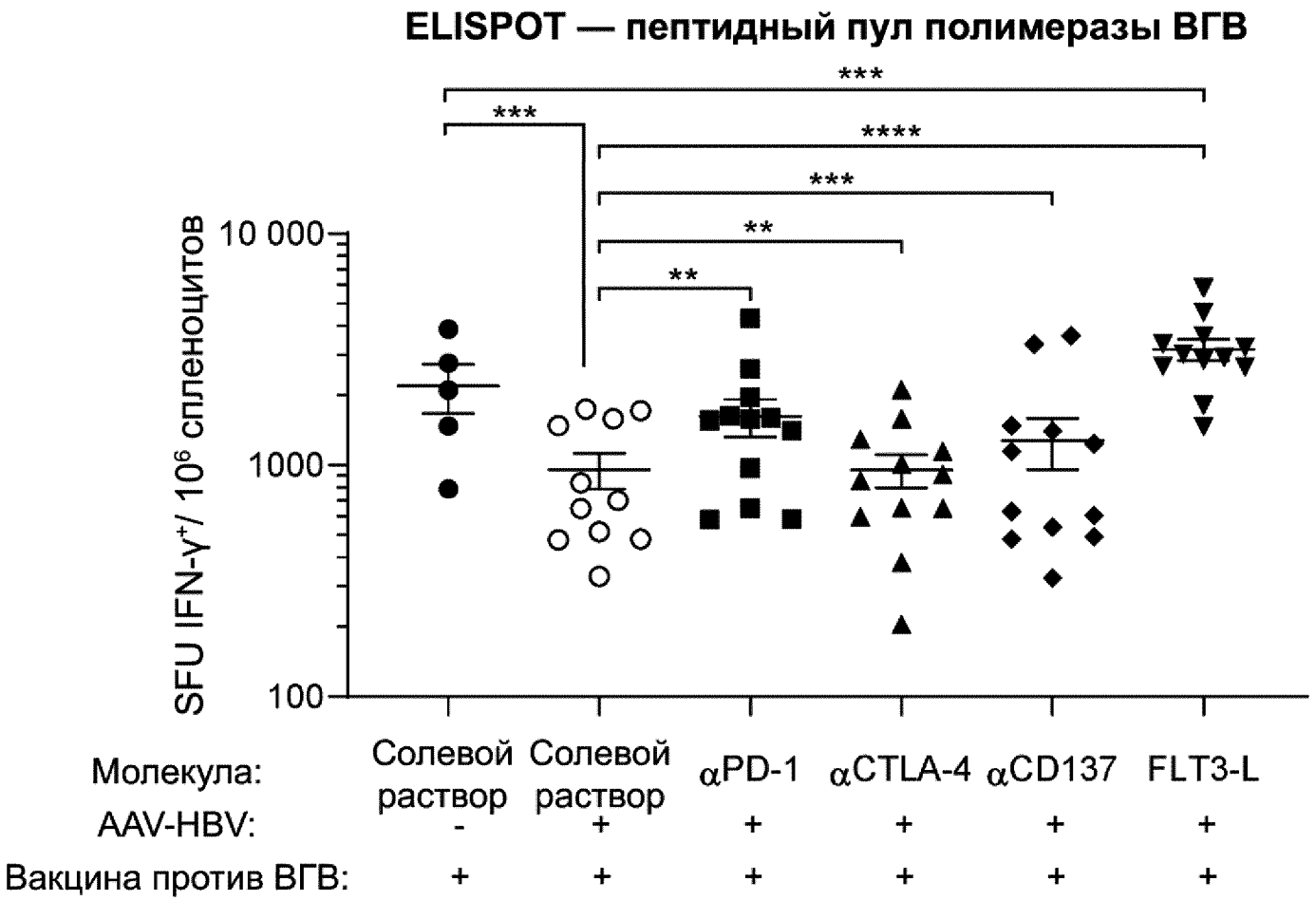
Фиг. 24A

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)



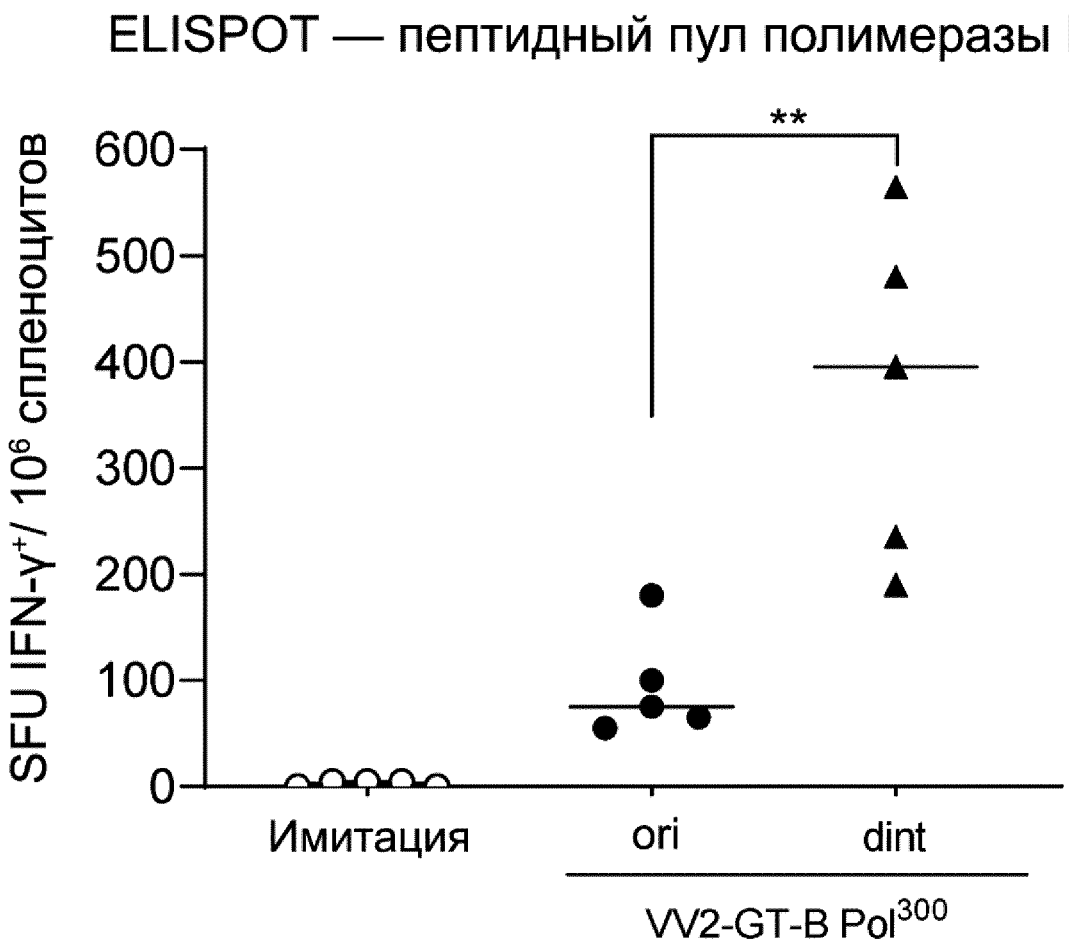
Фиг. 24B

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

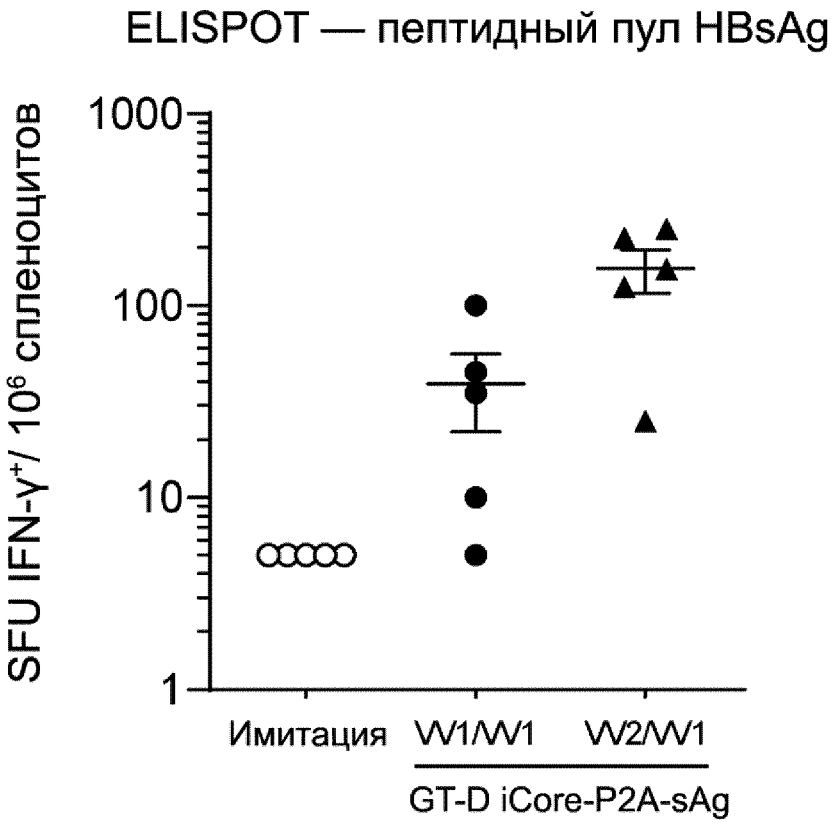


Фиг. 24C

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

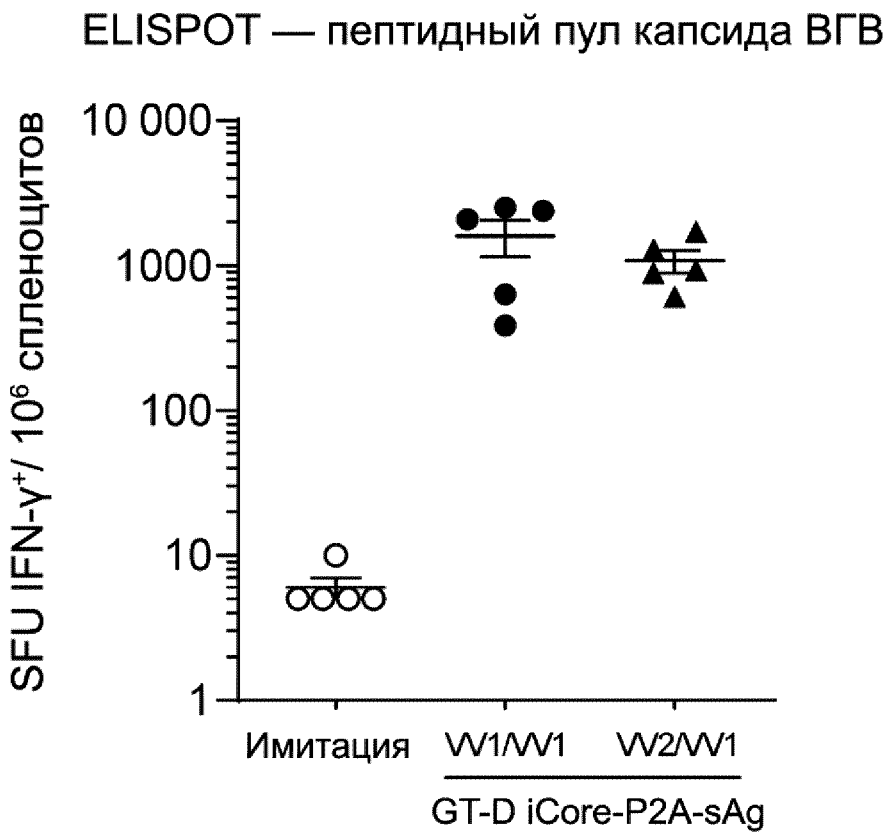


Фиг. 25



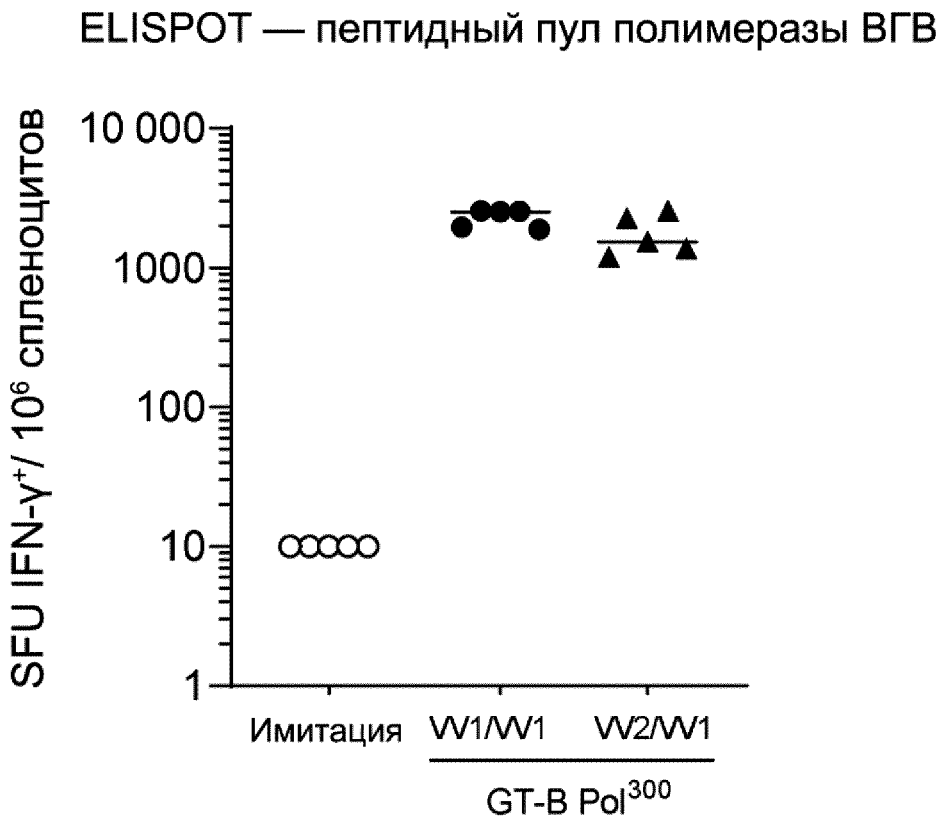
Фиг. 26A

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)



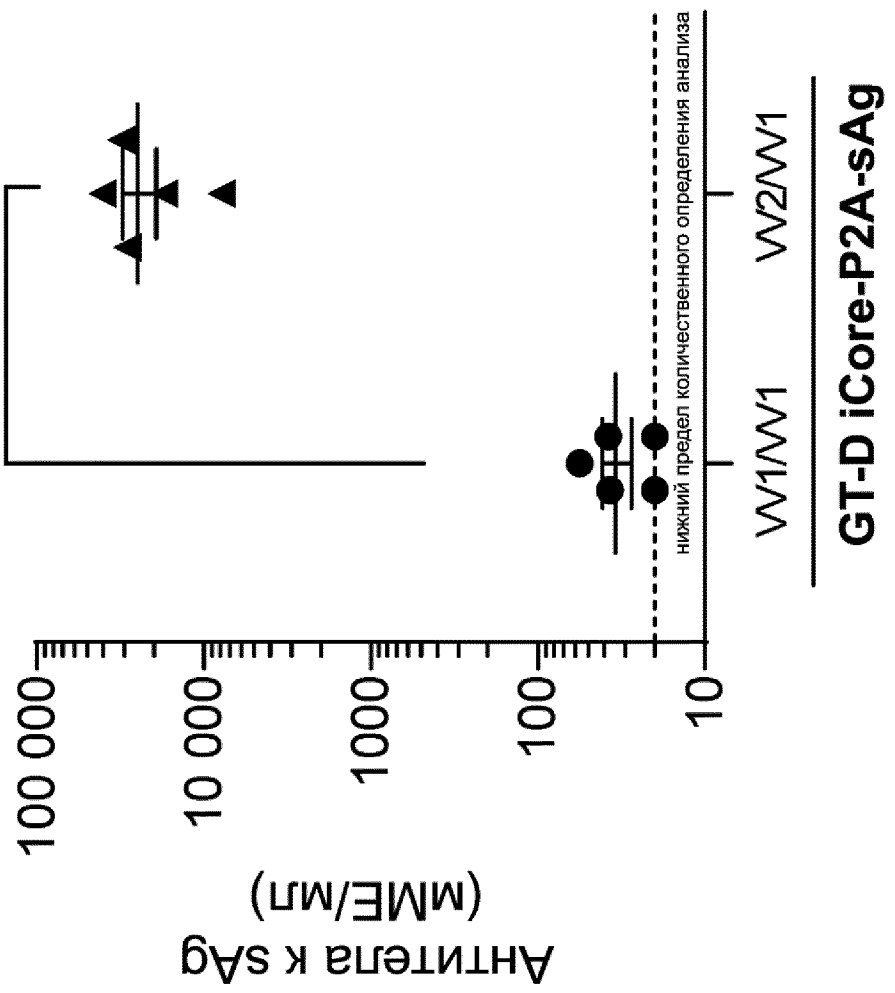
Фиг. 26B

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)



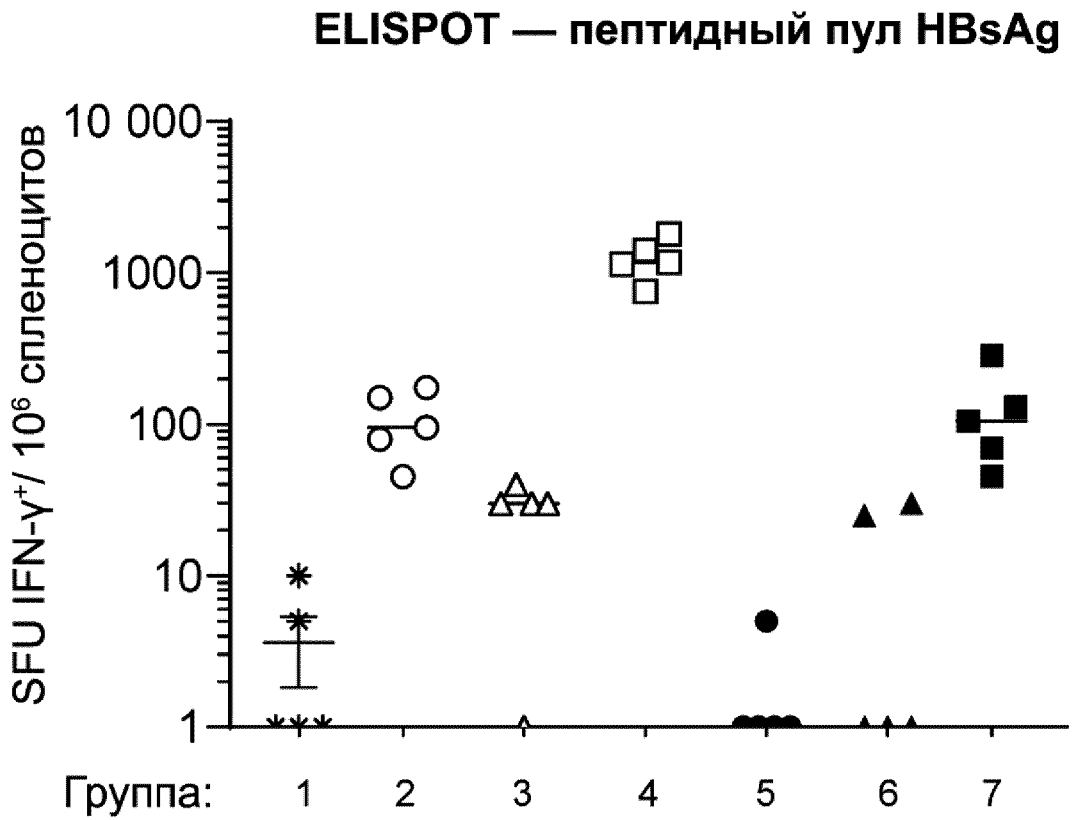
Фиг. 26C

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)


Антитела к sAg
(мМЕ/мл)
100 000
10 000
1000
100
10
**
нижний предел количественного определения анализа
VV1/VV1
VV2/VV1
GT-D iCore-P2A-sAg

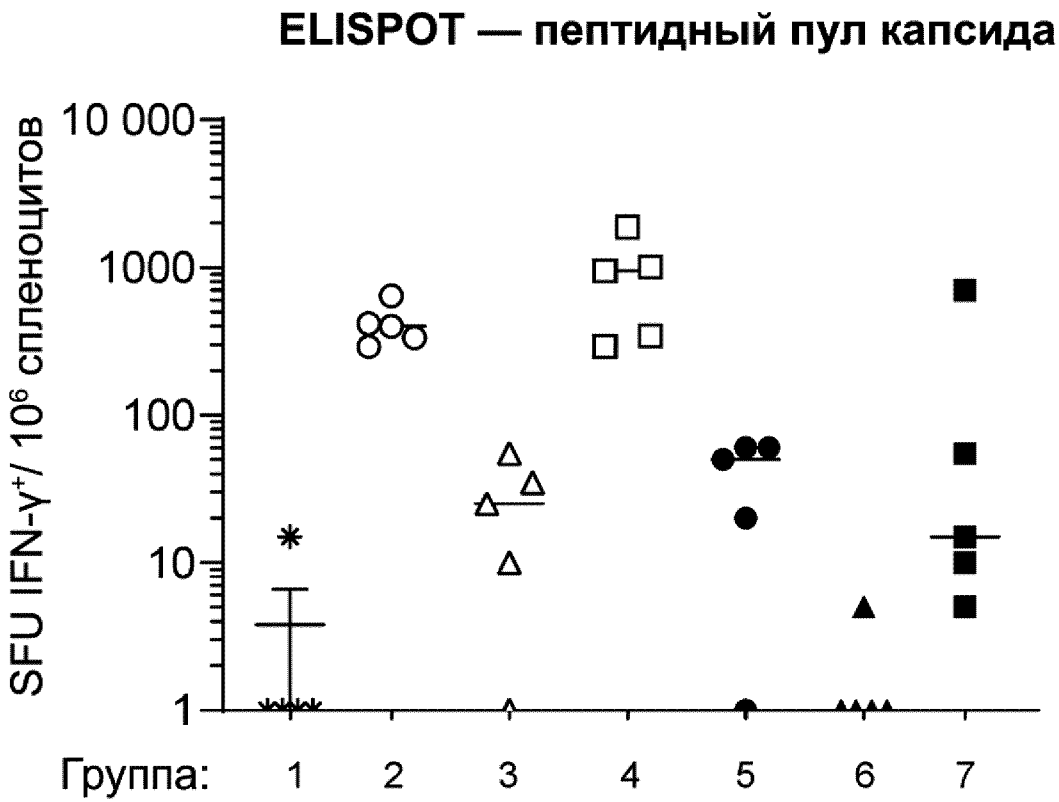
Фиг. 27

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

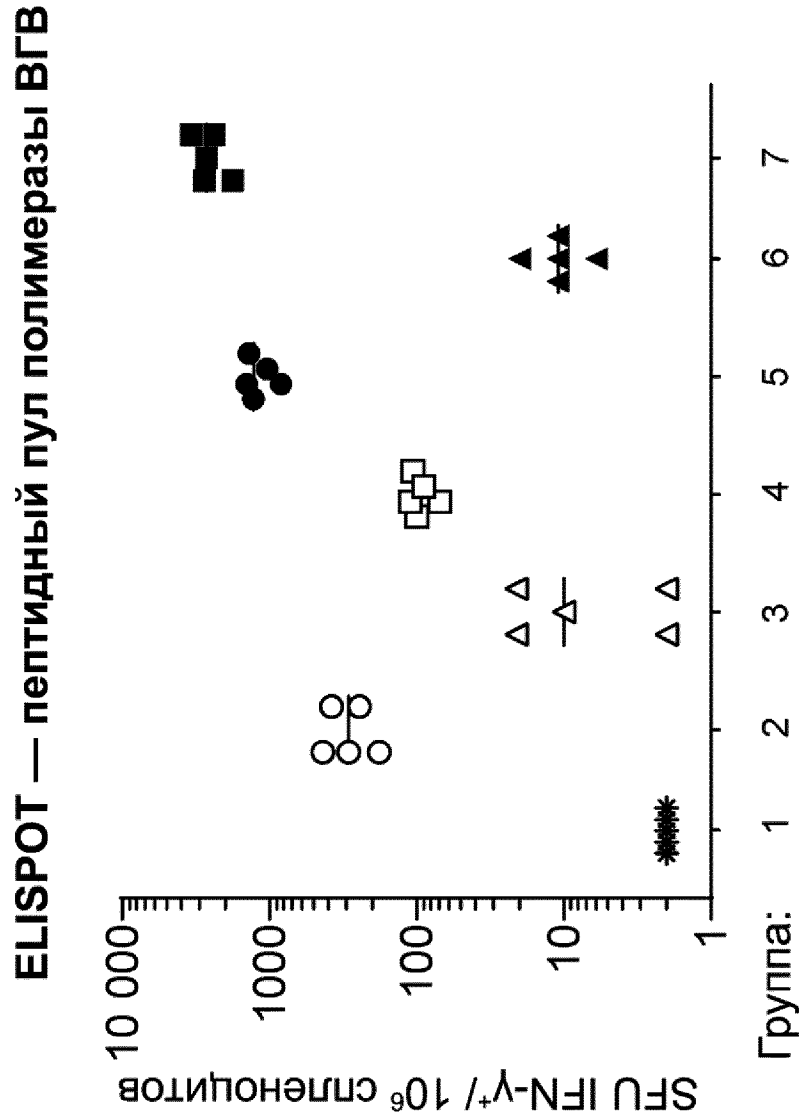


Фиг. 28A

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)

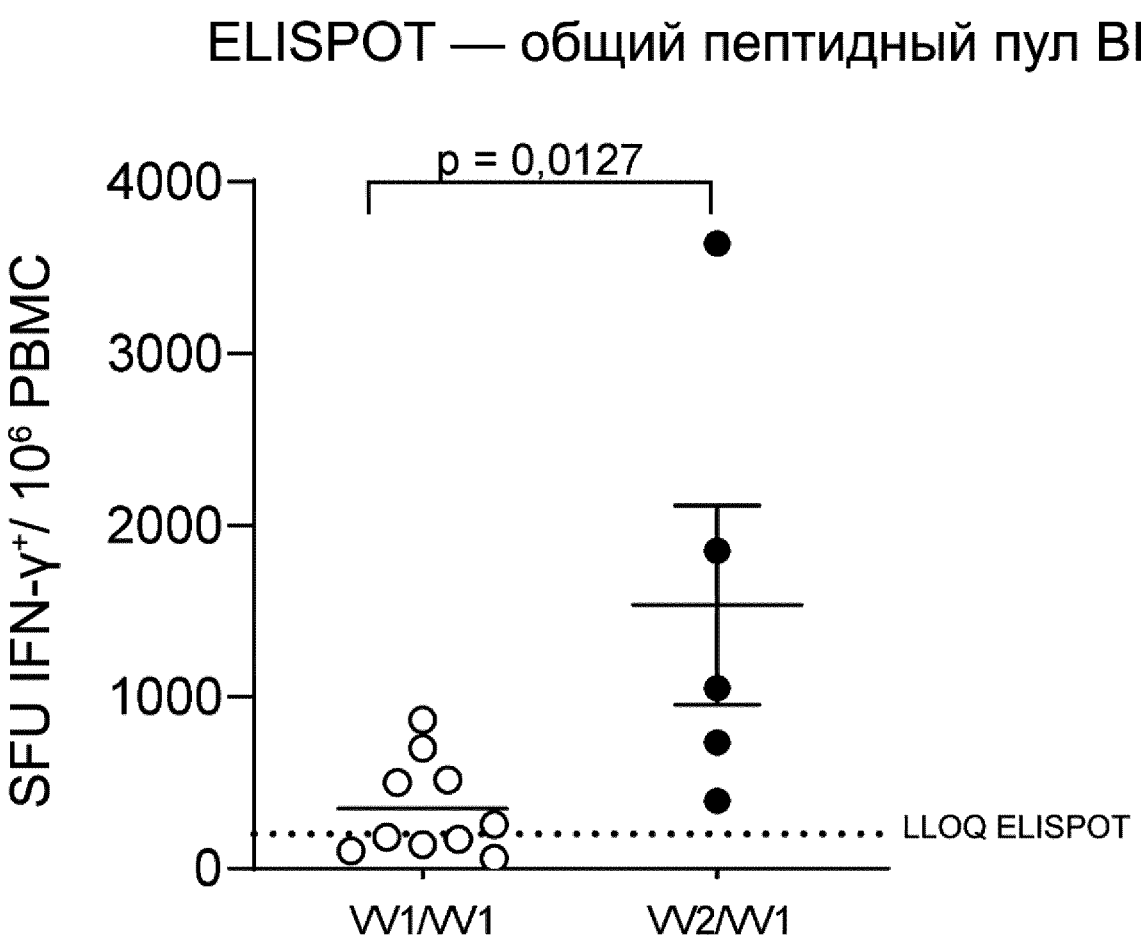


Фиг. 28B

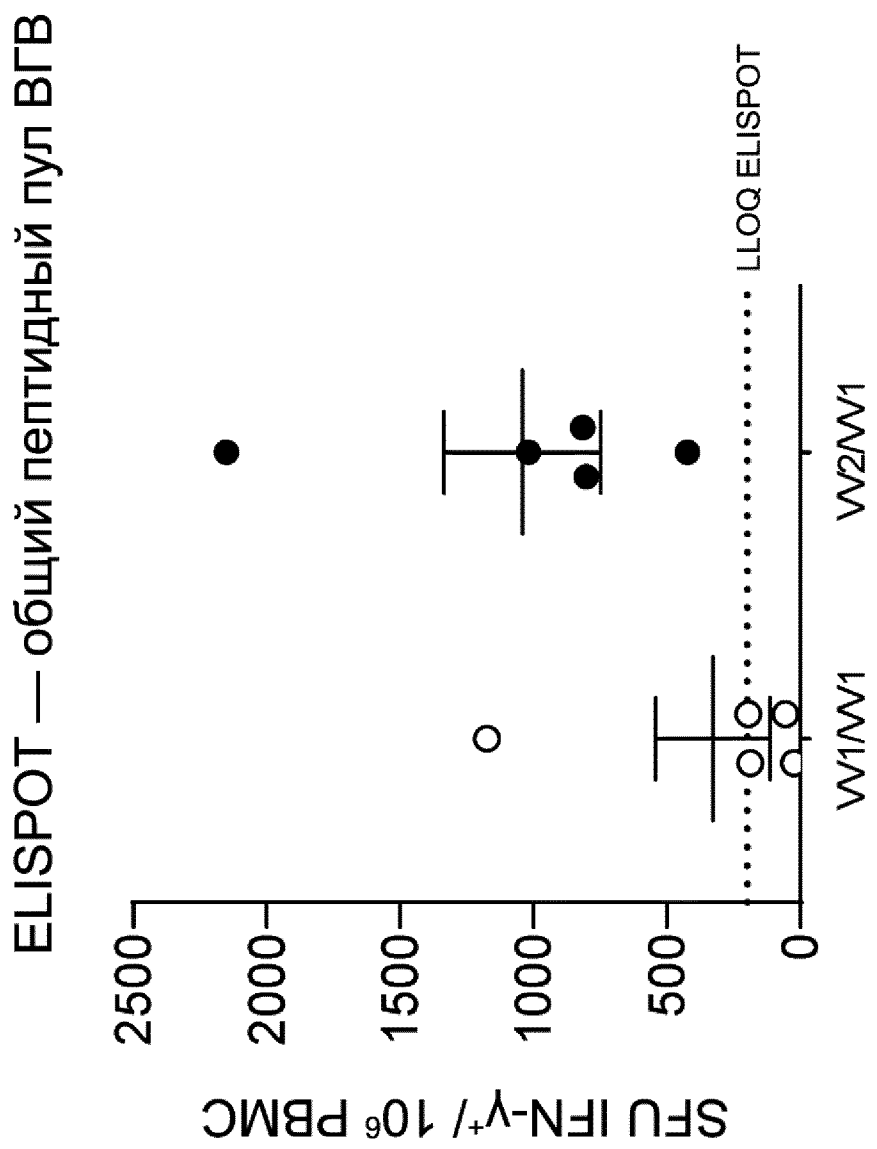

ELISPOT — пептидный пул полимеразы ВГВ
SFU IFN-γ+/ 10^6 спленоцитов
10 000
1000
100
10
1
Группа:
1
2
3
4
5
6
7

Фиг. 28C

ЗАМЕНЯЮЩИЙ ЛИСТ (ПРАВИЛО 26)



Фиг. 29


ELISPOT — общий пептидный пул ВГВ
SFU IFN-γ+/ 10^6 PBMC
2500
2000
1500
1000
500
0
LLOQ ELISPOT
VV1/VV1
VV2/VV1

Фиг. 30

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

202391166

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

См. дополнительный лист

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)

C07K 14/08, C12N 15/51, 15/86, A61K 38/16, 39/29, C12N 5/071, 7/01, A61K 9/08, 9/19

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если возможно, используемые поисковые термины)

Espacenet, EAPATIS, Google, Reaxys

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
X Y A	US 10076570 B2 (TRANSGENE S.A.) 18.09.2018, формула, SEQ ID NO: 3, 6; Результаты, параграфы [0001], [0024], [0027], [0039], [0042], [0049], [0050] [0092], [0153]	1-7, 15-17, 26, 30, 35 8-11, 19-25, 28, 29, 36-43 12-14, 18, 27, 31-34
Y	WO 2017/076988 A1 (HOOKIPA BIOTECH AG) 11.05.2017, формула, параграфы [0016]-[00184], [00358]-[00360], пример 7	8-11, 19-22, 28, 36-43
Y	US 2016/0206724 A1 (UNIVERSITY OF ROCHESTER) 21.07.2016, формула, параграфы [0170]-[0173]	23, 24, 29, 39
Y	WO 2010/037402 A1 (DAKO DENMARK AS et al.) 08.04.2010, формула	25, 43

☐ последующие документы указаны в продолжении

* Особые категории ссылочных документов:

«A» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«T» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

«&» - документ, являющийся патентом-аналогом

«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: 06 декабря 2023 (06.12.2023)

Уполномоченное лицо:
Начальник Управления экспертизы

Документ подписан электронной подписью
Сертификат: 168314043539
Владелец: CN=Аверкиев С.
Действителен: 03.05.2023-02.05.2024

С.Е. Аверкиев

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ
(дополнительный лист)

Номер евразийской заявки:

202391166

КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ (продолжение графы А)

МПК:		СПК:
C07K 14/08	(2006.01)	**C07K 14/08**
C12N 15/51	(2006.01)	**C12N 15/86**
C12N 15/86	(2006.01)	**C12N 5/0602**
A61K 38/16	(2006.01)	**C12N 7/00**
A61K 39/29	(2006.01)	**A61K 38/16**
C12N 5/071	(2010.01)	**A61K 38/162**
C12N 7/01	(2006.01)	**A61K 39/292**
A61K 9/08	(2006.01)	**A61K 9/08**
A61K 9/19	(2006.01)	**A61K 9/19**