

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202392465** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2024.02.12

(22) Дата подачи заявки
2022.04.01

(51) Int. Cl. *C07K 14/52* (2006.01)
C07K 14/54 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)
C12N 15/869 (2006.01)

(54) **ВИРУСНЫЕ ВЕКТОРЫ ДЛЯ ТЕРАПИИ РАКА**

(31) **63/170,103**

(32) **2021.04.02**

(33) **US**

(86) **PCT/US2022/023135**

(87) **WO 2022/212896 2022.10.06**

(71) Заявитель:
КРИСТАЛ БИОТЕК, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

**Кришнан Сума, Парри Тревор,
Превит Дана Мишель, Дуэрмейер
Мэри Джейн (US)**

(74) Представитель:
Нилова М.И. (RU)

(57) Согласно настоящему изобретению предложены рекомбинантные нуклеиновые кислоты, содержащие один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид (например, провоспалительный цитокин, такой как полипептид ИЛ-2 или ИЛ-12 человека); вирусы, содержащие указанные рекомбинантные нуклеиновые кислоты; композиции и составы, содержащие указанные рекомбинантные нуклеиновые кислоты и/или вирусы; способы их применения (например, для лечения рака, такого как рак легких); и содержащие их готовые изделия или наборы.

202392465
A1

202392465

A1

ВИРУСНЫЕ ВЕКТОРЫ ДЛЯ ТЕРАПИИ РАКА

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США № 63/170,103, поданной 2 апреля 2021 г., содержание которой полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки.

ПРЕДОСТАВЛЕНИЕ ПЕРЕЧНЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ В ТЕКСТОВОМ ФАЙЛЕ ASCII

[0002] Содержание следующего предоставленного текстового файла ASCII полностью включено в настоящую заявку посредством ссылки: машиночитаемая форма (CFR) перечня последовательностей (имя файла 761342001540SeqList.txt, дата записи: 1 апреля 2022 года, размер: 86 233 байта).

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0003] Настоящее изобретение относится, в частности, к рекомбинантным нуклеиновым кислотам, содержащим один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, вирусам, содержащим их, фармацевтическим композициям и составам с ними, а также способам их применения (*например*, для лечения рака, такого как рак легких).

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0004] Рак является одной из основных причин смерти во всем мире. Несмотря на значительные достижения в области клинической помощи и способов лечения, по-прежнему требуются более эффективные варианты лечения рака для продления выживаемости и снижения смертности от рака.

[0005] Все источники, цитируемые в настоящей заявке, включая патентные заявки, патентные публикации, непатентную литературу и номера доступа NCBI/UniProtKB/Swiss-Prot, в полном объеме включены в настоящую заявку посредством ссылки, как если бы каждый отдельный источник был конкретным индивидуальным образом указан как включенный посредством ссылки.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] Для удовлетворения этих и других потребностей согласно настоящему изобретению предложены рекомбинантные нуклеиновые кислоты (*например*, геномы

рекомбинантного вируса герпеса), кодирующие один или более полипептидов (*например*, один или более иммуномодулирующих полипептидов, таких как цитокины и хемокины) для применения в вирусах (*например*, вирусах герпеса), фармацевтических композициях и составах, лекарственных средствах; и/или способах, подходящих для лечения рака у нуждающегося в этом субъекта.

[0007] Соответственно, некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к геному рекомбинантного вируса герпеса, содержащему один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса герпеса содержит два или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса герпеса является репликативно-компетентным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса герпеса является репликативно-дефектным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид в одном или более локусах вирусного гена. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса герпеса выбран из генома рекомбинантного вируса простого герпеса, генома рекомбинантного вируса ветряной оспы, генома рекомбинантного цитомегаловируса человека, генома рекомбинантного вируса герпеса 6А, генома рекомбинантного вируса герпеса 6В, генома рекомбинантного вируса герпеса 7, генома вируса Эпштейна-Барр, генома рекомбинантного вируса герпеса, ассоциированного с саркомой Капоши, и любых их комбинаций или производных.

[0008] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса герпеса представляет собой геном рекомбинантного вируса простого герпеса. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса представляет собой геном рекомбинантного вируса простого герпеса 1 типа (ВПГ-1), геном рекомбинантного вируса простого герпеса 2 типа (ВПГ-2) или любые их комбинации или производные. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса представляет собой геном рекомбинантного ВПГ-1.

[0009] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса был сконструирован для снижения или элиминации экспрессии одного или более генов вируса простого герпеса (*например*, одного или более токсичных генов вируса простого герпеса). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения инактивирующая мутация находится в гене вируса простого герпеса. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения инактивирующая мутация представляет собой делецию кодирующей последовательности гена вируса простого герпеса. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения ген вируса простого герпеса выбран из белка инфицированных клеток («Infected Cell Protein», ICP) 0 (одной или обеих копий), ICP4 (одной или обеих копий), ICP22, ICP27, ICP47, тимидинкиназы (tk), длинной уникальной области (UL) 41 и UL55. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в одной или обеих копиях гена ICP4. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене ICP22. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене UL41. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в одной или обеих копиях гена ICP0. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене ICP27. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене UL55. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса не содержит инактивирующей мутации в гене

ICP47. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса не содержит инактивирующей мутации в одной или обеих копиях гена ICP34.5. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса не содержит инактивирующей мутации в гене UL36.

[0010] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в одном или более локусах вирусного гена. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в одном или обоих локусах вирусного гена ICP4. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в локусе вирусного гена ICP22. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в локусе вирусного гена UL41. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в одном или обоих локусах вирусного гена ICP0. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в локусе вирусного гена ICP27. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в локусе вирусного гена UL55.

[0011] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный иммуномодулирующий полипептид представляет собой иммуномодулирующий полипептид человека. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный иммуномодулирующий полипептид представляет собой секретлируемый иммуномодулирующий полипептид. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный иммуномодулирующий полипептид представляет собой цитокин или хемокин. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный цитокин представляет собой провоспалительный цитокин. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный цитокин выбран из интерлейкина-1 (ИЛ-1), интерлейкина-2 (ИЛ-2), интерлейкина-7 (ИЛ-7), интерлейкина-12 (ИЛ-12), интерлейкина-13 (ИЛ-13), интерлейкина-15 (ИЛ-15), интерлейкина-17 (ИЛ-17), интерлейкина-18 (ИЛ-18), интерлейкина-28 (ИЛ-28), интерлейкина-32 (ИЛ-32), интерлейкина-33 (ИЛ-33), интерлейкина-34 (ИЛ-34), фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерферона гамма (ИФН- γ), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный цитокин представляет собой ИЛ-2. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный цитокин представляет собой ИЛ-12. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный цитокин не представляет собой ГМ-КСФ. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный хемокин представляет собой провоспалительный хемокин. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный хемокин выбран из хемокинового (с С-Х-С-мотивом) лиганда 1 (CXCL1), хемокинового (с С-Х-С-мотивом) лиганда 2 (CSCL2), хемокинового (с С-Х-С-мотивом) лиганда 8 (CXCL8), хемокинового (с С-Х-С-мотивом) лиганда 9 (CXCL9), хемокинового (с С-Х-С-мотивом) лиганда 11 (CXCL11), хемокинового (с С-Х-С-мотивом) лиганда 16 (CXCL16), хемокинового

лиганда с С-С-мотивом 2 (CCL2), хемокинового лиганда с С-С-мотивом 3 (CCL3), хемокинового лиганда с С-С-мотивом 4 (CCL4), хемокинового лиганда с С-С-мотивом 5 (CCL5) и хемокинового лиганда с С-С-мотивом 11 (CCL11). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, иммуномодулирующий полипептид содержит последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности аминокислот, выбранной из SEQ ID NO: 1–30. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения иммуномодулирующий полипептид содержит последовательность, имеющую 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 100% идентичность последовательности аминокислот, выбранной из SEQ ID NO: 1–19. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения иммуномодулирующий полипептид содержит последовательность, имеющую 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 100% идентичность последовательности аминокислот, выбранной из SEQ ID NO: 20–30. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения иммуномодулирующий полипептид содержит последовательность, имеющую 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 100% идентичность последовательности аминокислот SEQ ID NO: 3. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения иммуномодулирующий полипептид содержит последовательность, имеющую 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 100% идентичность последовательности аминокислот, выбранной из SEQ ID NO: 5–6.

[0012] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, геном рекомбинантного вируса герпеса характеризуется пониженной цитотоксичностью при введении в клетку-мишень по сравнению с соответствующим геномом вируса герпеса дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения клетка-мишень представляет собой клетку человека. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения клетка-мишень представляет собой клетку дыхательных путей. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения клетка-мишень представляет собой эпителиальную клетку дыхательных путей.

[0013] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к вирусу герпеса, содержащему любой из геномов рекомбинантного вируса герпеса, описанных в настоящей заявке. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус герпеса является репликативно-компетентным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус герпеса является репликативно-дефектным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный вирус герпеса не является онколитическим. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный вирус герпеса представляет собой псевдотипированный вирус. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный вирус герпеса не представляет собой псевдотипированный вирус. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, вирус герпеса не является псевдотипированным онколитическим вирусом. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, вирус герпеса обладает пониженной цитотоксичностью по сравнению с соответствующим вирусом герпеса дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, вирус герпеса выбран из вируса простого герпеса, вируса ветряной оспы, цитомегаловируса человека, вируса герпеса бА, вируса герпеса бВ, вируса герпеса 7, вируса Эпштейна-Барра, вируса герпеса, ассоциированного с саркомой Капоши, и любых их комбинаций или производных. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации,

вирус герпеса представляет собой вирус простого герпеса. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус простого герпеса не является онколитическим. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус простого герпеса представляет собой ВПГ-1, ВПГ-2 или любые их комбинации или производные. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус простого герпеса представляет собой ВПГ-1. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный ВПГ-1 не является онколитическим.

[0014] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к фармацевтической композиции, содержащей любой из геномов рекомбинантного вируса герпеса и/или любой из рекомбинантных вирусов герпеса, описанных в настоящей заявке, и фармацевтически приемлемый носитель или вспомогательное вещество. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанная фармацевтическая композиция подходит для местного, чрескожного, подкожного, внутрикожного, перорального, интраназального, интратрахеального, сублингвального, буккального, ректального, вагинального, ингаляционного, внутривенного, внутриартериального, внутримышечного, внутрисердечного, внутрикостного, внутрибрюшинного, трансмукозального, интравитреального, субретинального, внутрисуставного, периартикулярного, местного или эпикутанного введения. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанная фармацевтическая композиция подходит для перорального, интраназального, интратрахеального или ингаляционного введения. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция подходит для интраназального или ингаляционного введения. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция подходит для ингаляционного введения. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанная фармацевтическая композиция подходит для применения в ингаляторе сухого порошка, дозирующем ингаляторе под давлением, ингаляторе, генерирующем мягкий туман, небулайзере, электрогидродинамическом аэрозольном устройстве или любых их комбинациях. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанная фармацевтическая композиция подходит для применения в небулайзере. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения небулайзер

представляет собой небулайзер на основе вибрирующего сита. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанная фармацевтическая композиция содержит фосфатный буфер. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанная фармацевтическая композиция содержит глицерин. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанная фармацевтическая композиция содержит липидный носитель. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанная фармацевтическая композиция содержит носитель наночастиц.

[0015] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к применению любых из рекомбинантных нуклеиновых кислот (*например, геномов рекомбинантного вируса герпеса*), рекомбинантных вирусов (*например, рекомбинантных вирусов герпеса*) и/или фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке, в качестве лекарственного средства.

[0016] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к применению любых из рекомбинантных нуклеиновых кислот (*например, геномов рекомбинантного вируса герпеса*), рекомбинантных вирусов (*например, рекомбинантных вирусов герпеса*) и/или фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке, в терапии.

[0017] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к применению любых из рекомбинантных нуклеиновых кислот (*например, геномов рекомбинантного вируса герпеса*), рекомбинантных вирусов (*например, рекомбинантных вирусов герпеса*) и/или фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке, для получения лекарственного средства для лечения рака (*например, рака легкого*).

[0018] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к способу экспрессии, усиления, повышения, увеличения и/или дополнения уровней иммуномодулирующего полипептида в одной или более клетках субъекта, включающему введение субъекту эффективного количества любого из рекомбинантных вирусов герпеса и/или фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанные одна или более клеток представляют собой одну или более клеток дыхательных путей, эпителия дыхательных путей и/или легкого. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения,

которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный субъект представляет собой человека. В некоторых вариантах реализации, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации, вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят местно, чрескожно, подкожно, эпикутанно, внутрикожно, перорально, сублингвально, буккально, ректально, вагинально, внутривенно, внутриаартериально, внутримышечно, внутрикостно, внутрисердечно, внутрибрюшинно, трансмукозально, интравитреально, субретинально, внутрисуставно, периартикулярно, интратуморально, локально или путем ингаляции субъекту. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят субъекту перорально, интраназально, интратрахеально или путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят субъекту интраназально или путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят субъекту путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят с использованием ингалятора сухого порошка, дозирующего ингалятора под давлением, ингалятора, генерирующего мягкий туман, небулайзера или электрогидродинамического аэрозольного устройства. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят с использованием небулайзера. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения небулайзер представляет собой небулайзер на основе вибрирующего сита.

[0019] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к способу обеспечения профилактического, паллиативного или терапевтического облегчения одного или более признаков или симптомов рака у нуждающегося в этом субъекта, включающему введение указанному субъекту эффективного количества любого из рекомбинантных вирусов герпеса и/или фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рак выбран из солидной опухоли, гематологического рака, рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака желудка, глиомы, рака головы, лейкоза, рака печени, рака легкого, лимфомы, миеломы, рака шеи, рака яичника, меланомы, рака поджелудочной железы, рака почки, рака слюны, рака кожи, рака желудка, эпителиального рака вилочковой железы и рака щитовидной железы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный рак представляет

собой мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого или плоскоклеточную карциному легкого. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный рак представляет собой остеосаркому. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный субъект представляет собой человека. В некоторых вариантах реализации, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации, вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят местно, чрескожно, подкожно, эпикутанно, внутриможно, перорально, сублингвально, буккально, ректально, вагинально, внутривенно, внутриартериально, внутримышечно, внутрикостно, внутрисердечно, внутрибрюшинно, трансмукозально, интравитреально, субретинально, внутрисуставно, периартикулярно, интратуморально, локально или путем ингаляции субъекту. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят субъекту перорально, интраназально, интратрахеально или путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят субъекту перорально, интраназально, интратрахеально или путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят субъекту интраназально или путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят субъекту путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят с использованием ингалятора сухого порошка, дозирующего ингалятора под давлением, ингалятора, генерирующего мягкий туман, небулайзера или электрогидродинамического аэрозольного устройства. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят с использованием небулайзера. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения небулайзер представляет собой небулайзер на основе вибрирующего сита.

[0020] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к способу лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающему введение указанному субъекту эффективного

количества любого из рекомбинантных вирусов герпеса и/или фармацевтических композиций, описанных в настоящей заявке. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рак выбран из карциномы, лимфомы, бластомы, саркомы, нейроэндокринной опухоли, мезотелиомы, шванномы, менингиомы, аденокарциномы, меланомы, лейкоза и лимфоидного злокачественного новообразования. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рак выбран из солидной опухоли, гематологического рака, рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака желудка, глиомы, рака головы, лейкоза, рака печени, рака легкого, лимфомы, миеломы, рака шеи, рака яичника, меланомы, рака поджелудочной железы, рака почки, рака слюны, рака кожи, рака желудка, эпителиального рака вилочковой железы и рака щитовидной железы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный рак представляет собой мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого или плоскоклеточную карциному легкого. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный рак представляет собой остеосаркому. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный субъект представляет собой человека. В некоторых вариантах реализации, которые могут быть объединены с любым из предшествующих вариантов реализации, вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят местно, чрескожно, подкожно, эпикутанно, внутрикожно, перорально, сублингвально, буккально, ректально, вагинально, внутривенно, внутриартериально, внутримышечно, внутрикостно, внутрисердечно, внутрибрюшинно, трансмукозально, интравитреально, субретинально, внутрисуставно, периартикулярно, интратуморально, локально или путем ингаляции субъекту. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят субъекту перорально, интраназально, интратрахеально или путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят субъекту интраназально или путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят субъекту путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят с использованием ингалятора сухого порошка, дозирующего ингалятора под давлением, ингалятора, генерирующего мягкий туман, небулайзера или электрогидродинамического аэрозольного устройства. Согласно некоторым

вариантам реализации изобретения указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят с использованием небулайзера. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения небулайзер представляет собой небулайзер на основе вибрирующего сита.

[0021] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к способу доставки полипептида (*например*, иммуномодулирующего полипептида) в одну или более клеток дыхательных путей субъекта, включающему введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей (а) вирус герпеса, содержащий геном рекомбинантного вируса герпеса, причем указанный геном рекомбинантного вируса герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих указанный полипептид, и (b) фармацевтически приемлемый носитель. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект страдает заболеванием или патологическим состоянием, поражающим одну или более клеток дыхательных путей, таким как рак или новообразование, поражающие дыхательные пути и/или легкие, которое либо возникло в дыхательных путях, либо метастазировало из других тканей или органов. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный субъект не страдает генетическим заболеванием легких. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный субъект не страдает заболеванием, выбранным из дефицита альфа-1-антитрипсина, легочного альвеолярного макрофагитаза, первичной цилиарной дискинезии, врожденного легочного альвеолярного протеиноза, легочной артериальной гипертензии и легочного фиброза. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения отсутствие или снижение уровня экспрессии и/или активности полипептида у субъекта не связано с генетическим заболеванием легких. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения отсутствие или снижение уровня экспрессии и/или активности полипептида у субъекта не связано с заболеванием, выбранным из дефицита альфа-1-антитрипсина, легочного альвеолярного макрофагитаза, первичной цилиарной дискинезии, врожденного легочного альвеолярного протеиноза, легочной артериальной гипертензии и легочного фиброза.

[0022] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный вирус герпеса представляет собой псевдотипированный вирус. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, указанный вирус герпеса не представляет собой псевдотипированный вирус. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения, которые могут быть

скомбинированы с любыми из предшествующих вариантов реализации, вирус герпеса не является псевдотипированным онколитическим вирусом.

[0023] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к готовому изделию или набору, содержащему любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, лекарственных средств и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, и инструкциям по их введению.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0024] На **Фиг. 1A-1I** схематически показаны геномы вируса простого герпеса дикого типа и модифицированного вируса простого герпеса. На **Фиг. 1A** показан геном вируса простого герпеса дикого типа. На **Фиг. 1B** показан модифицированный геном вируса простого герпеса, содержащий делеции кодирующей последовательности ICP4 (обе копии), с экспрессионной кассетой, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую иммуномодулирующий полипептид, интегрированный в каждый из локусов ICP4. На **Фиг. 1C** показан модифицированный геном вируса простого герпеса, содержащий делеции кодирующих последовательностей ICP4 (обе копии) и UL41, с экспрессионной кассетой, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую иммуномодулирующий полипептид, интегрированный в каждый из локусов ICP4. На **Фиг. 1D** показан модифицированный геном вируса простого герпеса, содержащий делеции кодирующих последовательностей ICP4 (обе копии) и UL41, с экспрессионной кассетой, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую иммуномодулирующий полипептид, интегрированный в локус UL41. На **Фиг. 1E** показан модифицированный геном вируса простого герпеса, содержащий делеции кодирующих последовательностей ICP4 (обе копии) и ICP22, с экспрессионной кассетой, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую иммуномодулирующий полипептид, интегрированный в каждый из локусов ICP4. На **Фиг. 1F** показан модифицированный геном вируса простого герпеса, содержащий делеции кодирующих последовательностей ICP4 (обе копии) и ICP22, с экспрессионной кассетой, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую иммуномодулирующий полипептид, интегрированный в локус ICP22. На **Фиг. 1G** показан модифицированный геном вируса простого герпеса, содержащий делеции кодирующих последовательностей ICP4 (обе копии), UL41 и ICP22, с экспрессионной кассетой, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую иммуномодулирующий полипептид, интегрированный в каждый из локусов ICP4. На **Фиг. 1H** показан модифицированный геном вируса простого герпеса, содержащий делеции кодирующих последовательностей ICP4 (обе копии), UL41 и ICP22, с экспрессионной кассетой, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую

иммуномодулирующий полипептид, интегрированный в локус UL41. На **Фиг. 1I** показан модифицированный геном вируса простого герпеса, содержащий делеции кодирующих последовательностей ICP4 (обе копии), UL41 и ICP22, с экспрессионной кассетой, содержащей нуклеиновую кислоту, кодирующую иммуномодулирующий полипептид, интегрированный в локус ICP22.

[0025] На **Фиг. 2A-2B** представлена детекция методом вестерн-блоттинга ИЛ-12 и ИЛ-2 человека в неинфицированных контрольных клетках («Имитация») или клетках, инфицированных модифицированным вирусом простого герпеса, кодирующим трансген ИЛ-12 человека (**Фиг. 2A**) или ИЛ-2 (**Фиг. 2B**), при множественности инфекции (MOI), равной 1. Рекомбинантный ИЛ-12 человека (**Фиг. 2A**) или ИЛ-2 (**Фиг. 2B**) использовали в качестве положительного контроля. **Фиг. 2A**: дорожка 1, лэддер; дорожка 2, рекомбинантный ИЛ-12; дорожки 3–6, ВПГ-ИЛ12; дорожка 7, имитация. **Фиг. 2B**: дорожка 1, лэддер; дорожка 2, рекомбинантный ИЛ-2; дорожки 3–5, ВПГ-ИЛ2; дорожка 6, имитация.

[0026] На **Фиг. 3A-3B** показан анализ биологической активности ВПГ-ИЛ12 человека (**Фиг. 3A**) и мыши (**Фиг. 3B**) *in vitro* в зависимости от высвобождения ИФН- γ из МКПК человека (**Фиг. 3A**) или спленцитов мыши (**Фиг. 3B**). Данные соответствуют анализу клеток в трех повторностях; данные представлены в виде среднего \pm стандартное отклонение (SD), $n=1$.

[0027] На **Фиг. 4A–4M** показана оценка *in vivo* ВПГ-ИЛ12 у здоровых мышей. На **Фиг. 4A** представлена масса животных после интратрахеального введения ВПГ-ИЛ12. Данные представлены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего (SEM); $n=2-3$ животных на группу на точку времени. На **Фиг. 4B-4C** показаны уровни генома (**Фиг. 4B**) и транскрипта (**Фиг. 4C**) в легких животных BALB/c после интратрахеального введения ВПГ-ИЛ12. Проводили кПЦР (**Фиг. 4B**) и кРВ-ПЦР (**Фиг. 4C**) для измерения уровней геномов и транскриптов *il12*, соответственно. Данные соответствуют анализу образцов в двух повторностях, и приведены как среднее \pm SEM для $n=2-3$ животных на группу. На **Фиг. 4D-4E** приведены концентрации белка ИЛ-12 в сыворотке (**Фиг. 4D**) и жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ; **Фиг. 4E**), полученные с помощью анализа ИФА ELISA. Образцы сыворотки представлены как среднее \pm SD для одного образца от животного, проанализированного в двух повторностях. Данные для ЖБАЛ представлены как среднее \pm SEM для $n=2-3$ животных на группу. На **Фиг. 4F** приведена концентрация ИЛ-12 в гомогенатах легких после интратрахеального введения ВПГ-ИЛ12. Биоптаты вырезали из замороженной ткани легких, гомогенизировали и анализировали с помощью ИФА ELISA в двух повторностях. Концентрации белка в гомогенатах определяли с

помощью ВСА-анализа, и концентрации ИЛ-12 нормировали по общему белку. Данные представлены как среднее \pm SEM для n=2-3 животных на группу. На **Фиг. 4G** представлена масса тела животных после еженедельного интратрахеального введения ВПГ-ИЛ12. Животных взвешивали перед введением ВПГ-ИЛ12 в указанные моменты времени. Данные представлены как среднее \pm SEM; n=4-6 животных на группу. На **Фиг.4H-4I** показаны уровни генома *il12* (**Фиг. 4H**) и транскрипта (**Фиг. 4I**) в легких животных BALB/c после лечения один раз в неделю в течение трех последовательных недель. Данные соответствуют анализу образцов в двух повторностях. Значения для отдельных животных представлены в сочетании со средним \pm SEM для n=2-3 животных на группу. На **Фиг. 4J-4K** показаны концентрации белка ИЛ-12 в ЖБАЛ и гомогенатах легких. ЖБАЛ (**Фиг. 4J**) и гомогенаты легких (**Фиг. 4K**) анализировали с помощью ELISA на концентрацию белка ИЛ-12. Все образцы анализировали в двух повторностях. Значения для отдельных животных показаны в сочетании со средним \pm SEM для n=2-3 животных на группу. На **Фиг. 4L-4M** показан анализ клеток из ЖБАЛ в качестве показателя воспаления. Биоптаты вырезали из замороженной ткани легких, гомогенизировали и анализировали с помощью ИФА ELISA в двух повторностях. Данные представлены как среднее \pm SEM для n=2-3 животных на группу.

[0028] На **Фиг. 5A-5I** представлена оценка *in vivo* ВПГ-ИЛ2 у здоровых мышей. На **Фиг. 5A** представлена масса тела животных после интратрахеального введения ВПГ-ИЛ2. Данные представлены как среднее \pm SEM; n=2-3 животных на группу в каждой точке времени. На **Фиг. 5B-5C** представлены уровни генома (**Фиг. 5B**) и транскрипта (**Фиг. 5C**) *il2* в легких животных BALB/c после интратрахеального введения ВПГ-ИЛ2. Данные соответствуют анализу образцов в двух повторностях и представлены как среднее \pm SEM для n=2-3 животных на группу. На **Фиг. 5D-5E** показаны концентрации белка ИЛ-2 в сыворотке (**Фиг. 5D**) и жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ; **Фиг. 5E**), полученные с помощью ИФА ELISA. Образцы сыворотки представлены как среднее \pm SEM для 2-3 животных на группу, при этом образцы анализировали в двух повторностях. Данные для ЖБАЛ представлены как среднее \pm SEM для n=2-3 животных на группу. На **Фиг. 5F** приведена концентрация ИЛ-2 в гомогенатах легких после интратрахеального введения ВПГ-ИЛ2. Биоптаты вырезали из замороженной ткани легких, гомогенизировали и анализировали с помощью ИФА ELISA в двух повторностях. Концентрации белка в гомогенатах определяли с помощью ВСА-анализа, и концентрации ИЛ-2 нормировали по общему белку. Данные представлены как среднее \pm SEM для n=2-3 животных на группу. На **Фиг.5G-5I** представлена фармакокинетика ИЛ-2 в сыворотке (**Фиг. 5G**), жидкости

бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ; **Фиг. 5H**) и лизате (**Фиг. 5I**). Данные представлены как среднее \pm SEM для n=2-3 животных на группу.

[0029] На **Фиг. 6A-6N** приведена оценка *in vivo* ВПГ-ГМКСФ у здоровых мышей. На **Фиг. 6A** представлена масса тела животных после интратрахеального введения ВПГ-ГМКСФ. Данные представлены как среднее \pm SEM; n=2-3 животных на группу в каждой точке времени. На **Фиг. 6B-6C** приведены уровни генома (**Фиг. 6B**) и транскрипта (**Фиг. 6C**) *gmcsf* в легких животных BALB/c после интратрахеального введения ВПГ-ГМКСФ. кПЦР (**Фиг. 6B**) и кРВ-ПЦР (**Фиг. 6C**) проводили для измерения геномов и транскриптов *gmcsf*; соответственно. Данные соответствуют анализу образцов в двух повторностях и представлены как среднее \pm SEM для n=2-3 животных на группу. На **Фиг. 6D-6E** приведены концентрации белка ГМ-КСФ в сыворотке (**Фиг. 6D**) и жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ; **Фиг. 6E**), определенные с помощью ИФА ELISA. Данные для сыворотки и ЖБАЛ представлены как среднее \pm SEM для n=2-3 животных на группу. На **Фиг. 6F** приведена концентрация ГМ-КСФ в гомогенатах легких после интратрахеального введения ВПГ-ГМКСФ. На **Фиг. 6G** приведена масса тела животных после интратрахеального введения ВПГ-ГМКСФ один раз в неделю. Животных взвешивали перед введением ВПГ-ГМКСФ в указанные моменты времени. Данные представлены как среднее \pm SEM; n=2-3 животных на группу. На **Фиг. 6H-6I** показаны уровни генома *gmcsf* (**Фиг. 6H**) и транскрипта (**Фиг. 6I**) в легких животных BALB/c после лечения один раз в неделю в течение трех последовательных недель. Данные соответствуют анализу образцов в двух повторностях. Значения для отдельных животных представлены в сочетании со средним \pm SEM для n=2-3 животных на группу. На **Фиг. 6J-6L** показаны концентрации белка ГМКСФ в сыворотке (**Фиг. 6J**), ЖБАЛ (**Фиг. 6K**) и гомогенатах легких (**Фиг. 6L**). Все образцы анализировали в двух повторностях. Значения для отдельных животных показаны в сочетании со средним \pm SEM для n=2-3 животных на группу. На **Фиг. 6M-6N** представлен анализ клеток ЖБАЛ как показателя воспаления. Клетки, выделенные из ЖБАЛ, подсчитывали с помощью гемоцитометра, и жизнеспособность определяли на основе метода исключения трипанового синего. Данные представлены как среднее \pm SEM для n=2-3 животных на группу.

[0030] На **Фиг. 7A-7G** показано создание модели метастазирования остеосаркомы легкого *in vivo* у иммунокомпетентных мышей. На **Фиг. 7A** приведена масса тела контрольных мышей (получавших основу) по сравнению с мышами, получавшими инфузию K7M2 (линия опухолевых клеток мыши). Данные представлены как среднее \pm SEM; n=2-5 животных на группу в каждой точке времени. На **Фиг. 7B-7C** приведена масса легких контрольных мышей и мышей, подвергшихся воздействию клеток опухолевой линии, через три недели (**Фиг. 7B**) или

шесть недель (**Фиг. 7С**) после инокуляции клеток К7М2. Значения для отдельных животных показаны в сочетании со средним \pm SEM для n=2-5 животных на группу. На **Фиг. 7D-7F** показано гистологическое окрашивание срезов легких гематоксилином и эозином (ГЭ) через 6 недель после инокуляции клеток К7М2. Увеличение составляет 2,5X (**Фиг. 7D**), 20X (**Фиг. 7E**), 10X (**Фиг. 7F**) и 20X (**Фиг. 7G**).

[0031] На **Фиг. 8A-8B** показана эффективность ВПГ-ИЛ12 в модели остеосаркомы у мышей *in vivo*. На **Фиг. 8A** приведены значения массы тела в контрольной группе по сравнению с мышами, получавшими ВПГ-ИЛ12. Данные представлены как среднее \pm SEM; n=5 животных на группу в каждый момент времени. На **Фиг. 8B** приведены значения массы легких у контрольных мышей по сравнению с мышами, получавшими ВПГ-ИЛ12. Значения для отдельных животных показаны в сочетании со средним \pm SEM; n=3-5 животных на группу.

[0032] На **Фиг. 9A-9F** показана оценка *in vivo* однократного еженедельного комбинированного интратрахеального введения ВПГ-ИЛ12/ГМКСФ здоровым мышам. На **Фиг. 9A** показана масса животного после однократного еженедельного комбинированного интратрахеального введения ВПГ-ИЛ12/ГМКСФ. Животных взвешивали перед введением ВПГ-ИЛ12/ГМКСФ на 0 и 7 дни и при умерщвлении на 8 день. Данные представлены как среднее \pm SEM; n=3-4 животных на группу. На **Фиг. 9B-9E** показаны концентрации белка ИЛ-12 и ГМКСФ в гомогенатах ЖБАЛ и легких. ЖБАЛ (**Фиг. 9B-9C**) и гомогенаты легких (**Фиг. 9D-9E**) анализировали с помощью ИФА ELISA для определения концентрации белка мИЛ-12 и мГМКСФ. Все образцы анализировали в двух повторностях. Значения для отдельных животных показаны в сочетании со средним \pm SEM для n=3-4 животных на группу. На **Фиг. 9F** показан анализ клеток из ЖБАЛ в качестве показателя воспаления. Клетки, выделенные из ЖБАЛ, подсчитывали с помощью гемоцитометра, и жизнеспособность определяли на основе метода исключения трипанового синего. Данные представлены как среднее \pm SEM для n=3-4 животных на группу.

[0033] На **Фиг. 10A-10B** показана эффективность комбинации ВПГ-ИЛ12 и ВПГ-ГМКСФ в модели остеосаркомы у мышей *in vivo*. На **Фиг. 10A** приведена масса тела в контрольной группе для сравнения с мышами, получавшими только ВПГ-ИЛ12, только ВПГ-ГМКСФ, и комбинацию ВПГ-ИЛ12 и ВПГ-ГМКСФ. Данные представлены как среднее \pm SEM; n=2-5 животных на группу в каждой точке времени. На **Фиг. 10B** показаны кривые выживаемости у мышей, получавших дозы только ВПГ-ИЛ12, только ВПГ-ГМКСФ, и комбинацию ВПГ-ИЛ12 и ВПГ-ГМКСФ. Данные представлены как среднее \pm SEM; n=5 животных на группу.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0034] В следующем ниже описании представлены примеры способов, параметров и т.п. Однако следует понимать, что такое описание не ограничивает объем настоящего описания, а представлено исключительно в качестве описания примеров вариантов реализации.

I. Общие методики

[0035] Способы и процедуры, описанные или упомянутые в настоящей заявке, в целом, хорошо известны и широко используются с применением обычных методик специалистами в данной области техники, таких как, например, широко используемые методики, описанные в руководствах: Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* 3d edition (2001) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.; *Current Protocols in Molecular Biology* (F.M. Ausubel, et al. eds., (2003)); в серии *Methods in Enzymology* (Academic Press, Inc.): *PCR 2: A Practical Approach* (M.J. MacPherson, B.D. Hames and G.R. Taylor eds. (1995)), Harlow and Lane, eds. (1988); *Oligonucleotide Synthesis* (M.J. Gait, ed., 1984); *Methods in Molecular Biology*, Humana Press; *Cell Biology: A Laboratory Notebook* (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; *Animal Cell Culture* (R.I. Freshney), ed., 1987); *Introduction to Cell and Tissue Culture* (J.P. Mather and P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; *Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures* (A. Doyle, J.B. Griffiths, and D.G. Newell, eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; *Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells* (J.M. Miller and M.P. Calos, eds., 1987); *PCR: The Polymerase Chain Reaction*, (Mullis et al., eds., 1994); *Short Protocols in Molecular Biology* (Wiley and Sons, 1999).

II. Определения

[0036] Перед подробным описанием настоящего изобретения следует отметить, что настоящее изобретение не ограничено конкретными композициями или биологическими системами, которые, конечно, могут варьировать. Следует также понимать, что терминология, используемая в настоящей заявке, предназначена исключительно для описания конкретных вариантов реализации, а не для ограничения.

[0037] В настоящей заявке формы единственного числа включают и формы множественного числа, если содержание явным образом не указывает на иное. Таким образом, например, указание на «молекулу» необязательно включает комбинацию двух или более таких молекул и т.п.

[0038] В настоящей заявке термин «и/или» может включать любые комбинации одного или более из связанных перечисленных элементов. Например, термин «а и/или b» может

относиться к «только а», «только b», «а или b» или «а и b»; термин «а, b и/или с» может относиться к «только а», «только b», «только с», «а или b», «а или с», «b или с», «а, b или с», «а и b», «а и с», «b и с» или «а, b и с»; и т. д.

[0039] Используемый в настоящей заявке термин «приблизительно» относится к обычному диапазону ошибок для соответствующего значения, хорошо известного специалисту в данной области техники. Ссылка на «приблизительное» значение или параметр в настоящей заявке включает (и описывает) варианты реализации, которые направлены на собственно указанное значение или указанный параметр.

[0040] Следует понимать, что аспекты и варианты реализации настоящего изобретения включают аспекты и варианты реализации изобретения, описанные в терминах «содержащий», «состоящий» и «состоящий по существу из».

[0041] Используемые в настоящей заявке термины «полинуклеотид», «последовательность нуклеиновой кислоты», «нуклеиновая кислота» и их варианты являются родовыми понятиями для обозначения полидезоксирибонуклеотидов (содержащих 2-дезоксид-Д-рибозу), полирибонуклеотидов (содержащих Д-рибозу), любого другого типа полинуклеотида, который представляет собой N-гликозид пуринового или пиримидинового основания, и других полимеров, содержащих ненуклеотидные остовы, при условии, что указанные полимеры содержат нуклеиновые основания в конфигурации, позволяющей спаривание оснований и укладку оснований, как это происходит в ДНК и РНК. Таким образом, указанные термины включают известные типы модификаций последовательности нуклеиновой кислоты, например, замену одного или более из встречающихся в природе нуклеотидов на аналог, а также межнуклеотидные модификации.

[0042] В настоящей заявке нуклеиновая кислота является «функционально связанной», когда она находится в функциональной взаимосвязи с другой последовательностью нуклеиновой кислоты. Например, промотор или энхансер функционально связан с кодирующей последовательностью, если он влияет на транскрипцию последовательности, или сайт связывания рибосомы функционально связан с кодирующей последовательностью, если он расположен таким образом, чтобы облегчать трансляцию. Как правило, «функционально связанный» означает, что связанные последовательности ДНК или РНК являются непрерывными.

[0043] В настоящей заявке термин «вектор» относится к отдельным элементам, которые используют для введения гетерологичных нуклеиновых кислот в клетки для их экспрессии или

репликации. Экспрессионный вектор включает векторы, способные экспрессировать нуклеиновые кислоты, которые функционально связаны с регуляторными последовательностями, такими как промоторные области, которые способны осуществлять экспрессию таких нуклеиновых кислот. Таким образом, экспрессионный вектор может относиться к ДНК- или РНК-конструкции, такой как плаزمид, фаг, рекомбинантный вирус или другой вектор, введение которого в соответствующую клетку-хозяина приводит к экспрессии нуклеиновых кислот. Подходящие экспрессионные векторы хорошо известны специалистам в данной области техники и включают такие векторы, которые реплицируются в эукариотических клетках, и векторы, которые остаются эпизомными, или векторы, которые интегрируются в геном клетки-хозяина.

[0044] В настоящей заявке «открытая рамка считывания» или «ORF» относится к непрерывному отрезку нуклеиновых кислот, либо ДНК, либо РНК, который кодирует белок или полипептид. Как правило, нуклеиновые кислоты содержат сигнал начала трансляции или кодон инициации, такой как ATG или AUG, и терминирующий кодон.

[0045] В настоящей заявке «нетранслируемая область» или «UTR» относится к нетранслируемым нуклеиновым кислотам на 5'- и/или 3'-концах открытой рамки считывания. Включение одного или нескольких UTR в полинуклеотид может влиять на посттранскрипционную регуляцию, стабильность мРНК и/или трансляцию полинуклеотида.

[0046] В настоящей заявке термин «трансген» относится к полинуклеотиду, который способен транскрибироваться в РНК и транслироваться и/или экспрессироваться в подходящих условиях после введения в клетку. В некоторых аспектах он придает требуемое свойство клетке, в которую был введен, или иным образом приводит к требуемому терапевтическому или диагностическому результату.

[0047] В настоящей заявке термины «полипептид», «белок» и «пептид» используются взаимозаменяемо и могут относиться к полимеру из двух или более аминокислот.

[0048] В настоящей заявке «субъект», «хозяин» или «индивидуум» относится к любому животному, классифицированному как млекопитающее, включая человека, домашних и сельскохозяйственных животных, а также зоопарковых животных, спортивных или животных-компаньонов, таких как собаки, лошади, кошки, коровы, а также животных, используемых в исследованиях, таких как мыши, крысы, хомяки, кролики и приматы, отличные от человека, и т.д. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанное млекопитающее представляет собой человека.

[0049] В настоящей заявке термины «фармацевтический состав» или «фармацевтическая композиция» относятся к препарату, который находится в форме, обеспечивающей эффективность биологической активности активного ингредиента(ингредиентов), и не содержит дополнительных компонентов, которые являются неприемлемо токсичными для субъекта, которому будет вводиться указанная композиция или указанный состав. «Фармацевтически приемлемые» вспомогательные вещества (*например, основы, добавки*) представляют собой вещества, которые может быть целесообразно вводить млекопитающему для обеспечения эффективной дозы используемого активного ингредиента (ингредиентов).

[0050] В настоящей заявке «эффективное количество» представляет собой по меньшей мере минимальное количество, необходимое для обеспечения измеримого улучшения или предотвращения одного или более симптомов конкретного расстройства. «Эффективное количество» может варьировать в зависимости от таких факторов, как болезненное состояние, возраст, пол и масса тела пациента. Эффективное количество также представляет собой такое количество, при использовании которого терапевтически благоприятные эффекты перевешивают какие-либо токсические или вредные эффекты лечения. Для профилактического применения полезные или требуемые результаты включают такие результаты, как элиминация или снижение риска, уменьшение тяжести или задержка начала заболевания, его осложнений и промежуточных патологических фенотипов, присутствующих во время развития заболевания. Для терапевтического применения полезные или требуемые результаты включают клинические результаты, такие как уменьшение одного или нескольких симптомов, вызванных заболеванием, повышение качества жизни страдающих заболеванием, снижение дозы других лекарственных средств, применяемых для лечения симптомов заболевания, задержка прогрессирования заболевания и/или продление выживаемости. Эффективное количество может быть введено за один или более приемов. Для целей настоящего изобретения эффективное количество рекомбинантной нуклеиновой кислоты, вируса и/или фармацевтической композиции представляет собой количество, достаточное для реализации, прямым или опосредованным образом, профилактического или терапевтического лечения. В клиническом контексте подразумевается, что эффективное количество рекомбинантной нуклеиновой кислоты, вируса и/или фармацевтической композиции может быть или может не быть достигнуто совместно с другим лекарственным средством, соединением или фармацевтической композицией. Таким образом, «эффективное количество» можно рассматривать в контексте введения одного или нескольких терапевтических агентов, и можно считать, что один агент вводится в эффективном количестве,

если, в сочетании с одним или несколькими другими агентами, может быть достигнут или достигается желаемый результат.

[0051] В настоящей заявке термин «лечение» относится к клиническому вмешательству, направленному на изменение естественного течения событий в организме индивидуума или в клетке, лечение которого/которой проводят, в ходе развития клинической патологии.

Требуемые эффекты лечения включают снижение скорости прогрессирования заболевания/расстройства/дефекта, смягчение или облегчение состояния заболевания/расстройства/дефекта, и ремиссию или улучшение прогноза.

[0052] В настоящей заявке термин «задержка прогрессирования» заболевания/расстройства/дефекта относится к отсрочке, препятствованию, замедлению, торможению, стабилизации и/или отсрочке развития заболевания/расстройства/дефекта. Указанная задержка может иметь различную продолжительность, в зависимости от анамнеза заболевания/расстройства/дефекта, и/или от индивидуума, проходящего лечение. Как очевидно специалисту в данной области техники, достаточная или значимая задержка может, по сути, включать профилактику, поскольку у индивидуума не развивается заболевание.

[0053] В тексте настоящей заявки различные аспекты представлены в формате диапазонов. Следует понимать, что описание в формате диапазонов приведено исключительно для удобства и краткости и не должно толковаться как жесткое ограничение объема настоящего изобретения. Соответственно, следует понимать, что описание диапазона конкретным образом раскрывает все возможные поддиапазоны, а также отдельные численные значения в указанном диапазоне. Например, если указан диапазон значений, следует понимать, что каждое промежуточное значение между верхним и нижним пределами этого диапазона, и любое другое указанное или промежуточное значение в этом указанном диапазоне входит в объем настоящего изобретения. Верхний и нижний пределы этих меньших диапазонов могут быть независимым образом включены в меньшие диапазоны, и также входят в объем настоящего изобретения, если какой-либо предел в указанном диапазоне не был конкретным образом исключен. В тех случаях, когда указанный диапазон включает один или оба предела, диапазоны, исключающие один или оба из этих включенных пределов, также входят в объем настоящего изобретения. Это условие применимо независимо от широты диапазона.

III. Рекомбинантные нуклеиновые кислоты

[0054] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к рекомбинантным нуклеиновым кислотам (*например*, выделенным рекомбинантным нуклеиновым кислотам), содержащим один или более (*например*, один или более, два или более, три или более, четыре или более, пять или более, десять или более *и т. д.*) полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота содержит один полинуклеотид, кодирующий иммуномодулирующий полипептид. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота содержит два полинуклеотида, кодирующих иммуномодулирующий полипептид. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота содержит три или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих два или более иммуномодулирующих полипептида. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота содержит два или более полинуклеотидов, кодирующих два или более иммуномодулирующих полипептидов. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения два или более иммуномодулирующих полипептида идентичны. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения два или более иммуномодулирующих полипептида представляют собой разные полипептиды.

[0055] Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение относится к рекомбинантным нуклеиновым кислотам, содержащим полинуклеотид, кодирующий химерный полипептид, содержащий: первый иммуномодулирующий полипептид, линкерный полипептид и второй иммуномодулирующий полипептид. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения первый и второй иммуномодулирующие полипептиды одинаковы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения первый и второй иммуномодулирующие полипептиды представляют собой разные полипептиды. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный линкерный полипептид представляет собой отщепляемый линкерный полипептид. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный линкерный полипептид представляет собой неотщепляемый линкерный полипептид.

[0056] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота представляет собой вектор. Согласно некоторым вариантам реализации

изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота представляет собой вирусный вектор. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота представляет собой герпесвирусный вектор. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота представляет собой ампликон вируса простого герпеса. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота представляет собой геном рекомбинантного вируса герпеса. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный геном рекомбинантного вируса герпеса представляет собой геном рекомбинантного вируса простого герпеса. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса представляет собой геном рекомбинантного вируса простого герпеса типа 1 (ВПГ-1).

Полинуклеотиды, кодирующие иммуномодулирующие полипептиды

[0057] Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение относится к рекомбинантным нуклеиновым кислотам, содержащим один или более полинуклеотидов, кодирующих один или более иммуномодулирующих полипептидов (*например*, один или более иммуномодулирующих полипептидов человека). Любой подходящий иммуномодулирующий полипептид, описанный в настоящей заявке или известный в данной области техники, может кодироваться полинуклеотидом согласно настоящему описанию, включая, например, цитокины и хемокины человека, такие как провоспалительные цитокины и хемокины человека.

[0058] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению содержит кодирующую последовательность дикого типа любого иммуномодулирующего гена, описанного в настоящей заявке или известного в данной области техники (включая любую его изоформу). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению содержит кодон-оптимизированный вариант кодирующей последовательности дикого типа любого иммуномодулирующего гена, описанного в настоящей заявке или известного в данной области техники. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения применение кодон-оптимизированного варианта кодирующей последовательности гена повышает стабильность и/или выход гетерологичной экспрессии (РНК и/или белка) кодируемого полипептида в клетке-мишени по сравнению со стабильностью и/или выходом гетерологичной экспрессии соответствующей не кодон-оптимизированной последовательности дикого типа. Можно использовать любой подходящий

способ, известный в данной области техники, для проведения кодон-оптимизации последовательности для экспрессии в одной или более клетках-мишенях (*например*, в одной или более клетках человека), в том числе, *например*, с помощью способов, описанных Fath *et al.* (PLoS One. 2011 Mar 3; 6(3): e17596).

[0059] Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение относится к рекомбинантной нуклеиновой кислоте, содержащей один или более полинуклеотидов, содержащих кодирующую последовательность цитокина человека. Любой подходящий ген цитокина человека (включая любую его изоформу), известный в данной области техники, может кодироваться полинуклеотидом по настоящему изобретению, включая, *например*, ген *IL1A* (*см.*, *например*, NCBI, идентификатор гена: 3552; SEQ ID NO: 31), ген *IL1B* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3553; SEQ ID NO: 32), ген *IL2* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3558; SEQ ID NO: 33), ген *IL3* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3562), ген *IL4* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3565), ген *IL5* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3567), ген *IL6* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3569), ген *IL7* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3574; SEQ ID NO: 34), ген *IL9* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3578) и ген *IL10* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3586), ген *IL11* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3589), ген *IL12A* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3592; SEQ ID NO: 35), ген *IL12B* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3593; SEQ ID NO: 36), ген *IL13* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3596; SEQ ID NO: 317), ген *IL15* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3600; SEQ ID NO: 38), ген *IL17A* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3605; SEQ ID NO: 39), ген *IL17B* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 27190), ген *IL17C* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 27189), ген *IL17D* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 53342), ген *IL25* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 64806), ген *IL17F* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 112744), ген *IL18* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3606; SEQ ID NO: 40), ген *IFNL2* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 282616; SEQ ID NO: 41), ген *IFNL3* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 282617; SEQ ID NO: 42), ген *IFNL1* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 282618), ген *IL32* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 9235; SEQ ID NO: 43), ген *IL33* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 90865; SEQ ID NO: 44), ген *IL34* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 146433; SEQ ID NO: 45), ген *IL36A* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 27179), ген *IL36B* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 27177), ген *IL36G* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 56300), ген *IFNA1* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3439), ген *IFNA13* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3447), ген *IFNA2* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3440), ген *IFNA4* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3441), ген *IFNA5* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3442), ген *IFNA6* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3443), ген *IFNA7* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3444), ген *IFNA8* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3445), ген *IFNA10* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3446), ген *IFNA14* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3448), ген *IFNA16* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3449), ген *IFNA17* (*см.*, *например*, NCBI, ID гена: 3451), ген *IFNA21* (*см.*, *например*, NCBI, ID

гена: 3452), ген *IFNB1* (см., например, NCBI, ID гена: 3456), ген *IFNB3* (см., например, NCBI, ID гена: 618946), ген *IFNG* (см., например, NCBI, ID гена: 3458; SEQ ID NO: 46), ген *TNF* (см., например, NCBI, ID гена: 7124; SEQ ID NO: 47), ген *LTA* (см., например, NCBI, ID гена: 4049), ген *CSF3* (см., например, NCBI, ID гена: 1440; SEQ ID NO: 48), ген *CSF2* (см., например, NCBI, ID гена: 1437; SEQ ID NO: 49), ген *CSF1* (см., например, NCBI, ID гена: 1435); и т. д. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не содержит последовательность, кодирующую ген *IL4*. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не содержит последовательность, кодирующую ген *IL10*. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не содержит последовательность, кодирующую ген *GM-CSF*. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не содержит последовательность, кодирующую ген *IL4*, *IL10* и/или *GM-CSF*. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению содержит последовательность, которая по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности любого из генов цитокинов человека (и/или их кодирующих последовательностей), описанных в настоящей заявке или известных в данной области техники. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный цитокин представляет собой провоспалительный цитокин. В некоторых вариантах реализации изобретения указанный цитокин выбран из ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-7, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-28 (например, ИЛ-28α и/или ИЛ-28β), ИЛ-32, ИЛ-33, ИЛ-34, ФНО-α, ИФН-γ, Г-КСФ и/или ГМ-КСФ человека.

[0060] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ИЛ-1α. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ИЛ-1α представляет собой полипептид ИЛ-1α человека (см., например, номер доступа UniProt: P01583). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *IL1A* дикого типа (см., например, NCBI, ID гена: 3552, SEQ ID NO: 31) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-1α, представляет собой полинуклеотид, который

кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 1. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-1 α , представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 1.

[0061] Согласно некоторым вариантам реализации полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-1 α , представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 1. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере 200, но менее 271 последовательных аминокислот из SEQ ID NO: 1.

[0062] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ИЛ-1 β . Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ИЛ-1 β представляет собой полипептид ИЛ-1 β человека (см., например, номер доступа UniProt: P01584). Согласно некоторым вариантам реализации указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *IL1B* дикого типа (см., например, NCBI, ID гена: 3553, SEQ ID NO: 32) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-1 β , представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 2. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-1 β , представляет собой

полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 2.

[0063] Согласно некоторым вариантам реализации полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-1 β , представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 2. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере 200, но менее 269 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 2.

[0064] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ИЛ-2. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ИЛ-2 представляет собой полипептид ИЛ-2 человека (*см., например, номер доступа UniProt: P60568*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *IL2* дикого типа (*см., например, NCBI, ID гена: 3558, SEQ ID NO: 33*) или ее кодон-оптимизированный вариант (*см., например, SEQ ID NO: 61*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-2, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 3. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-2, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 3.

[0065] Согласно некоторым вариантам реализации полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-2, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 3. Усеченные на N-конце последовательности,

усеченные на С-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, но менее 153 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 3.

[0066] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ИЛ-7. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ИЛ-7 представляет собой полипептид ИЛ-7 человека (*см., например, номер доступа UniProt: P13232*). Согласно некоторым вариантам реализации указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *IL7* дикого типа (*см., например, NCBI, ID гена: 3574, SEQ ID NO: 34*) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-7, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 4. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-7, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 4.

[0067] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-7, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на С-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 4. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на С-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, но менее 177 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 4.

[0068] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид субъединицы α ИЛ-12. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид субъединицы ИЛ-12 α представляет собой полипептид субъединицы α ИЛ-12 человека (см., например, номер доступа UniProt: P29459). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *IL12A* дикого типа (см., например, NCBI, ID гена: 3592, SEQ ID NO: 35) или его кодон-оптимизированный вариант (см., например, SEQ ID NO: 62). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид субъединицы α ИЛ-12, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 5. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид субъединицы α ИЛ-12, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 5.

[0069] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид субъединицы α ИЛ-12, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 5. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере 200, но менее 219 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 5.

[0070] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид субъединицы β ИЛ-12. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид субъединицы β ИЛ-12 представляет собой полипептид субъединицы β ИЛ-12 человека (см., например, номер доступа UniProt: P29460). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *IL12B* дикого типа (см., например, NCBI, ID гена: 3593,

SEQ ID NO: 36) или ее кодон-оптимизированный вариант (см., например, SEQ ID NO: 63). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий субъединицу β полипептида ИЛ-12, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 6. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий субъединицу β полипептида ИЛ-12, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 6.

[0071] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий субъединицу β полипептида ИЛ-12, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 6. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере 200, по меньшей мере 300, но менее 328 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 6.

[0072] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ИЛ-13. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ИЛ-13 представляет собой полипептид ИЛ-13 человека (см., например, номер доступа UniProt: P35225). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *IL13* дикого типа (см., например, ген NCBI ID: 3596, SEQ ID NO: 37) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-13, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 7. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-13, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 7.

[0073] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-13, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 7. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, но менее 146 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 7.

[0074] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ИЛ-15. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ИЛ-15 представляет собой полипептид ИЛ-15 человека (*см., например, номер доступа UniProt: P40933*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *IL15* дикого типа (*см., например, NCBI, ID гена: 3600, SEQ ID NO: 38*) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-15, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 8. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-15, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 8.

[0075] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-15, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 8. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, но менее 162 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 8.

[0076] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ИЛ-17А. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ИЛ-17А представляет собой полипептид ИЛ-17А человека (*см., например, номер доступа UniProt: Q16552*). Согласно некоторым вариантам реализации указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *IL17A* дикого типа (*см., например, NCBI, ID гена: 3605, SEQ ID NO: 39*) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-17А, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичности последовательности SEQ ID NO: 9. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-17А, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 9.

[0077] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-17А, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 9. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по

меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, но менее 155 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 9.

[0078] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ИЛ-18. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ИЛ-18 представляет собой полипептид ИЛ-18 человека (*см., например, номер доступа UniProt: Q14116*). Согласно некоторым вариантам реализации указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *IL18* дикого типа (*см., например, NCBI, ID гена: 3606, SEQ ID NO: 40*) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-18, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 10. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-18, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 10.

[0079] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-18, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 10. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере 150, но менее 193 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 10.

[0080] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ИЛ-28А. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ИЛ-28А представляет собой полипептид ИЛ-28А человека (*см., например, номер доступа UniProt: Q8IZJ0*). Согласно некоторым вариантам

реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *IFNL2* дикого типа (см., например, NCBI, ID гена: 282616, SEQ ID NO: 41) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-28А, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 11. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-28А, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 11.

[0081] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-28А, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 11. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере 150, но менее 200 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 11.

[0082] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ИЛ-28В. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ИЛ-28В представляет собой полипептид ИЛ-28В человека (см., например, номер доступа UniProt: Q8IZI9). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *IFNL3* дикого типа (см., например, NCBI, ID гена: 282617, SEQ ID NO: 42) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-28В, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%,

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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 12. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-28В, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 12.

[0083] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-28В, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 12. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, но менее 196 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 12.

[0084] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ИЛ-32. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ИЛ-32 представляет собой полипептид ИЛ-32 человека (*см., например, номер доступа UniProt: P24001*). Согласно некоторым вариантам реализации указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена ИЛ-32 дикого типа (*см., например, NCBI, ID гена: 9235, SEQ ID NO: 43*) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-32, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 13. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-32, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 13.

[0085] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-32, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 13. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере 200, но менее 234 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 13.

[0086] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ИЛ-33. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ИЛ-33 представляет собой полипептид ИЛ-33 человека (*см., например, номер доступа UniProt: O95760*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *IL33* дикого типа (*см., например, NCBI, ID гена: 90865, SEQ ID NO: 44*) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-33, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 14. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-33, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 14.

[0087] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-33, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 14. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по

меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере 200, но менее 270 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 14.

[0088] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ИЛ-34. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ИЛ-34 представляет собой полипептид ИЛ-34 человека (*см., например, номер доступа UniProt: Q6ZMJ4*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *IL34* дикого типа (*см., например, NCBI, ID гена: 146433, SEQ ID NO: 45*) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-34, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 15. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-34, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 15.

[0089] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИЛ-34, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 15. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере 200, но менее 242 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 15.

[0090] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ФНО- α . Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ФНО- α представляет собой полипептид ФНО- α человека (*см., например, номер доступа UniProt: P01375*). Согласно некоторым вариантам реализации

изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *TNF* дикого типа (см., например, NCBI, ID гена: 7124, SEQ ID NO: 46) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ФНО- α , представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 16. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ФНО- α , представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 16.

[0091] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ФНО- α , представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 16. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере 200, но менее 233 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 16.

[0092] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ИФН- γ . Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ИФН- γ представляет собой полипептид ИФН- γ человека (см., например, номер доступа UniProt: P01579). Согласно некоторым вариантам реализации указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *IFNG* дикого типа (см., например, NCBI, ID гена: 3458, SEQ ID NO: 47) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИФН- γ , представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере

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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 17. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИФН-γ, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 17.

[0093] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ИФН-γ, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 17. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, но менее 166 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 17.

[0094] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид Г-КСФ. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид Г-КСФ представляет собой полипептид Г-КСФ человека (*см., например, номер доступа UniProt: P09919*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *CSF3* дикого типа (*см., например, NCBI, ID гена: 1440, SEQ ID NO: 48*) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид Г-КСФ, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 18. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид Г-КСФ, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 18.

[0095] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид Г-КСФ, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 18. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере 200, но менее 207 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 18.

[0096] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид ГМ-КСФ. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид ГМ-КСФ представляет собой полипептид ГМ-КСФ человека (*см., например, номер доступа UniProt: P04141*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *CSF2* дикого типа (*см., например, NCBI, ID гена: 1437, SEQ ID NO: 49*) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ГМ-КСФ, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 19. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ГМ-КСФ, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 19.

[0097] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид ГМ-КСФ, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 19. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по

меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, но менее 144 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 19.

[0098] Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение относится к рекомбинантной нуклеиновой кислоте, содержащей один или более полинуклеотидов, содержащих кодирующую последовательность хемокина человека. Любой подходящий ген хемокина человека (включая любую его изоформу), известный в данной области техники, может кодироваться полинуклеотидом по настоящему изобретению, включая, например, ген *CCL1* (см., например, NCBI, ID гена: 6346), ген *CCL2* (см., например, NCBI, ID гена: 6347; SEQ ID NO: 56), ген *CCL3* (см., например, NCBI, ID гена: 6348; SEQ ID NO: 57), ген *CCL4* (см., например, NCBI, ID гена: 6351; SEQ ID NO: 58), ген *CCL5* (см., например, NCBI, ID гена: 6352; SEQ ID NO: 59), ген *CCL7* (см., например, NCBI, ID гена: 6354), ген *CCL8* (см., например, NCBI, ID гена: 6355), ген *CCL11* (см., например, NCBI, ID гена: 6356; SEQ ID NO: 60), ген *CCL13* (см., например, NCBI, ID гена: 6357), ген *CCL14* (см., например, NCBI, ID гена: 6358), ген *CCL15* (см., например, NCBI, ID гена: 6359), ген *CCL16* (см., например, NCBI, ID гена: 6360), ген *CCL17* (см., например, NCBI, ID гена: 6361), ген *CCL18* (см., например, NCBI, ID гена: 6362), ген *CCL19* (см., например, NCBI, ID гена: 6363), ген *CCL20* (см., например, NCBI, ID гена: 6364), ген *CCL21* (см., например, NCBI, ID гена: 6366), ген *CCL22* (см., например, NCBI, ID гена: 6367), ген *CCL23* (см., например, NCBI, ID гена: 6368), ген *CCL24* (см., например, NCBI, ID гена: 6369), ген *CCL25* (см., например, NCBI, ID гена: 6370), ген *CCL26* (см., например, NCBI, ID гена: 10344), ген *CCL27* (см., например, NCBI, ID гена: 10850), ген *CCL28* (см., например, NCBI, ID гена: 56477), ген *CXCL1* (см., например, NCBI, ID гена: 2919; SEQ ID NO: 50), ген *CXCL2* (см., например, NCBI, ID гена: 2920; SEQ ID NO: 51), ген *CXCL3* (см., например, NCBI, ID гена: 2921), ген *CXCL4* (см., например, NCBI, ID гена: 5196), ген *CXCL5* (см., например, NCBI, ID гена: 6374), ген *CXCL6* (см., например, NCBI, ID гена: 6372), гена *PPBP* (также известного как ген *CXCL7*, см., например, NCBI, ID гена: 5473), гена *CXCL8* (см., например, NCBI, ID гена: 3576; SEQ ID NO: 52), гена *CXCL9* (см., например, NCBI, ID гена: 4283; SEQ ID NO: 53), гена *CXCL10* (см., например, NCBI, ID гена: 3627), гена *CXCL11* (см., например, NCBI, ID гена: 6373; SEQ ID NO: 54), гена *CXCL12* (см., например, NCBI, ID гена: 6387), ген *CXCL13* (см., например, NCBI, ID гена: 10563), ген *CXCL14* (см., например, NCBI, ID гена: 9547), ген *CXCL16* (см., например, NCBI, ID гена: 58191; SEQ ID NO: 55), ген *CXCL17* (см., например, NCBI, ID гена: 284340), ген *XCL1* (см., например, NCBI, ID гена: 6375), ген *XCL2* (см., например, NCBI, ID гена: 6846), ген *CX3CL1* (см., например, NCBI, ID гена: 6376) и т.д. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид (например, один или более первых полинуклеотидов и/или один или более вторых полинуклеотидов) согласно настоящему

изобретению содержит последовательность, которая по меньшей мере на 75%, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 86%, по меньшей мере на 87%, по меньшей мере на 88%, по меньшей мере на 89%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентична последовательности любого из генов хемокинов человека (и/или их кодирующих последовательностей), описанных в настоящей заявке или известных в данной области техники. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный хемокин представляет собой провоспалительный хемокин. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный хемокин выбран из CXCL1, CXCL2, CXCL8, CXCL9, CXCL11, CXCL16, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5 и/или CCL11 человека.

[0099] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид CXCL1. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид CXCL1 представляет собой полипептид CXCL1 человека (см., например, номер доступа UniProt: P09341). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена CXCL1 дикого типа (см., например, NCBI, ID гена: 2919, SEQ ID NO: 50) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL1, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 20. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL1, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 20.

[0100] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL1, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 20. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере

10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, но менее 107 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 20.

[0101] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид CXCL2. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид CXCL2 представляет собой полипептид CXCL2 человека (*см., например, номер доступа UniProt: P19875*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена CXCL2 дикого типа (*см., например, NCBI, ID гена: 2920, SEQ ID NO: 51*) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL2, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 21. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL2, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 21.

[0102] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL2, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 21. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, но менее 107 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 21.

[0103] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид CXCL8. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид CXCL8 представляет собой полипептид CXCL8 человека (*см., например, номер доступа UniProt: P10145*). Согласно некоторым вариантам реализации

указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *CXCL8* дикого типа (см., например, NCBI, ID гена: 3576, SEQ ID NO: 52) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL8, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 22. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL8, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 22.

[0104] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL8, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 22. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, но менее 99 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 22.

[0105] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид CXCL9. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид CXCL9 представляет собой полипептид CXCL9 человека (см., например, номер доступа UniProt: Q07325). Согласно некоторым вариантам реализации указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *CXCL9* дикого типа (см., например, NCBI, ID гена: 4283, SEQ ID NO: 53) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL9, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100%

идентичность последовательности SEQ ID NO: 23. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL9, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 23.

[0106] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL9, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 23. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, но менее 125 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 23.

[0107] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид CXCL11. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид CXCL11 представляет собой полипептид CXCL11 человека (*см., например, номер доступа UniProt: O14625*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *CXCL11* дикого типа (*см., например, NCBI, ID гена: 6373, SEQ ID NO: 54*) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL11, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 24. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL11, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 24.

[0108] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL11, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 24. Усеченные на N-конце последовательности,

усеченные на С-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, но менее 94 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 24.

[0109] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид CXCL16. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид CXCL16 представляет собой полипептид CXCL16 человека (*см., например, номер доступа UniProt: Q9H2A7*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена CXCL16 дикого типа (*см., например, NCBI, ID гена: 58191, SEQ ID NO: 55*) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL16, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 25. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL16, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 25.

[0110] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CXCL16, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на С-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 25. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на С-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, по меньшей мере 100, по меньшей мере 200, но менее 254 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 25.

[0111] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид CCL2. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид CCL2 представляет собой полипептид CCL2 человека (*см., например, номер доступа UniProt: P13500*). Согласно некоторым вариантам реализации

изобретения указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *CCL2* дикого типа (см., например, NCBI, ID гена: 6347, SEQ ID NO: 56) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CCL2, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 26. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CCL2, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 26.

[0112] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CCL2, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 26. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, но менее 99 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 26.

[0113] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид CCL3. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид CCL3 представляет собой полипептид CCL3 человека (см., например, номер доступа UniProt: P10147). Согласно некоторым вариантам реализации указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *CCL3* дикого типа (см., например, NCBI, ID гена: 6348, SEQ ID NO: 57) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CCL3, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100%

идентичность последовательности SEQ ID NO: 27. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CCL3, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 27.

[0114] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CCL3, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 27. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, но менее 92 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 27.

[0115] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид CCL4. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид CCL4 представляет собой полипептид CCL4 человека (*см., например, номер доступа UniProt: P13236*). Согласно некоторым вариантам реализации указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *CCL4* дикого типа (*см., например, NCBI, ID гена: 6351, SEQ ID NO: 58*) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CCL4, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 28. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CCL4, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 28.

[0116] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CCL4, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 28. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере

10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, но менее 92 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 28.

[0117] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид CCL5. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид CCL5 представляет собой полипептид CCL5 человека (*см., например*, номер доступа UniProt: P13501). Согласно некоторым вариантам реализации указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *CCL5* дикого типа (*см., например*, NCBI, ID гена: 6352, SEQ ID NO: 59) или ее кодон-оптимизированный вариант. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CCL5, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 29. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CCL5, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 29.

[0118] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CCL5, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 29. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, но менее 91 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 29.

[0119] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид CCL11. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полипептид CCL11 представляет собой полипептид CCL11 человека (*см., например*, номер доступа UniProt: P51671). Согласно некоторым вариантам реализации указанный полинуклеотид содержит кодирующую последовательность гена *CCL11* дикого типа (*см., например*, NCBI, ID гена: 6356, SEQ ID NO: 60) или ее кодон-оптимизированный вариант.

Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CCL11, представляет собой полинуклеотид, который кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 30. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CCL11, представляет собой полинуклеотид, кодирующий полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 30.

[0120] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид, кодирующий полипептид CCL11, представляет собой полинуклеотид, кодирующий усеченную на N-конце последовательность, усеченную на C-конце последовательность, или фрагмент последовательности аминокислот SEQ ID NO: 30. Усеченные на N-конце последовательности, усеченные на C-конце последовательности, или фрагменты могут содержать по меньшей мере 10, по меньшей мере 12, по меньшей мере 14, по меньшей мере 16, по меньшей мере 18, по меньшей мере 20, по меньшей мере 30, по меньшей мере 40, по меньшей мере 50, по меньшей мере 75, но менее 97 последовательных аминокислот SEQ ID NO: 30.

[0121] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности аминокислот, выбранной из SEQ ID NO: 1–30. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, выбранную из SEQ ID NO: 1–30.

[0122] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности аминокислот, выбранной из SEQ ID NO: 1–19. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, выбранную из SEQ ID NO: 1–19.

[0123] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности аминокислот, выбранной из SEQ ID NO: 20–30. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, выбранную из SEQ ID NO: 20–30.

[0124] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности аминокислот, выбранной из SEQ ID NO: 3, 5 и 6. Согласно некоторым вариантам реализации полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, выбранную из последовательностей SEQ ID NO: 3, 5 и 6.

[0125] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид согласно настоящему описанию кодирует любой один или более из пептида интерлейкина-1 альфа (ИЛ-1 α), пептида интерлейкина-1 бета (ИЛ-1 β), пептида интерлейкина-2 (ИЛ-2), пептида интерлейкина-3 (ИЛ-3), пептида интерлейкина-4 (ИЛ-4), пептида интерлейкина-5 (ИЛ-5), пептида интерлейкина-6 (ИЛ-6), пептида интерлейкина-7 (ИЛ-7), пептида интерлейкина-8 (ИЛ-8), пептида интерлейкина-9 (ИЛ-9), пептида интерлейкина-10 (ИЛ-10), пептида интерлейкина-11 (ИЛ-11), пептида субъединицы интерлейкина-12 альфа (ИЛ-12 α), пептида бета-субъединицы интерлейкина-12 (ИЛ-12 β), пептида интерлейкина-13 (ИЛ-13), пептида интерлейкина-15 (ИЛ-15), пептида интерлейкина-17 (ИЛ-17), пептида интерлейкина-17В (ИЛ-

17B), пептида интерлейкина-17C (ИЛ-17C), пептида интерлейкина-17D (ИЛ-17D), пептида интерлейкина-25 (ИЛ-25), пептида интерлейкина-17F (ИЛ-17F), пептида интерлейкина-18 (ИЛ-18), пептида интерлейкина-28A (ИЛ-28A), пептида интерлейкина-28B (ИЛ-28B), пептида интерлейкина-29 (ИЛ-29), пептида интерлейкина-32 (ИЛ-32), пептида интерлейкина-33 (ИЛ-33), пептида интерлейкина-34 (ИЛ-34), пептида интерлейкина-36 альфа (ИЛ-36α), пептида интерлейкина-36 (ИЛ-36β) бета, пептида интерлейкина-36 гамма (ИЛ-36γ), пептида интерферона альфа-1 (ИФН α -1), пептида интерферона альфа-2 (ИФН α -2), пептида интерферона альфа-4 (ИФН α -4), пептида интерферона альфа-5 (ИФН α -5), пептида интерферона альфа-6 (ИФН α -6), пептида интерферона альфа-7 (ИФН α -7), пептида интерферона альфа-8 (ИФН α -8), пептида интерферона альфа-10 (ИФН α -10), пептида интерферона альфа-14 (ИФН α -14), пептида интерферона альфа-16 (ИФН α -16), пептида интерферона альфа-17 (ИФН α -17), пептида интерферона альфа-21 (ИФН α -21), пептида интерферона бета-1 (ИФН β -1), пептида интерферона бета-3 (ИФН β -3), пептида интерферона гамма (ИФН γ), пептида фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α), пептида бета-фактора некроза опухоли (ФНО β), пептида гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ), пептида гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), пептида макрофагального колониестимулирующего фактора (М-КСФ), пептида хемокина с C-C-мотивом 1 (CCL1), пептида хемокина с C-C-мотивом 2 (CCL2), пептида хемокина с C-C-мотивом 3 (CCL3), пептида хемокина с C-C-мотивом 4 (CCL4), пептида хемокина с C-C-мотивом 5 (CCL5), пептида хемокина с C-C-мотивом 7 (CCL7), пептида хемокина с C-C-мотивом 8 (CCL8), пептида хемокина с C-C-мотивом 11 (CCL11), пептида хемокина с C-C-мотивом 13 (CCL13), пептида хемокина с C-C-мотивом 14 (CCL14), пептида хемокина с C-C-мотивом 15 (CCL15), пептида хемокина с C-C-мотивом 16 (CCL16), пептида хемокина с C-C-мотивом 17 (CCL17), пептида хемокина с C-C-мотивом 18 (CCL18), пептида хемокина с C-C-мотивом 19 (CCL19), пептида хемокина с C-C-мотивом 20 (CCL20), пептида хемокина с C-C-мотивом 21 (CCL21), пептида хемокина с C-C-мотивом 22 (CCL22), пептида хемокина с C-C-мотивом 23 (CCL23), пептида хемокина с C-C-мотивом 24 (CCL24), пептида хемокина с C-C-мотивом 25 (CCL25), пептида хемокина с C-C-мотивом 26 (CCL26), пептида хемокина с C-C-мотивом 27 (CCL27), пептида хемокина с C-C-мотивом 28 (CCL28), пептида хемокина с C-X-C-мотивом 1 (CXCL1), пептида хемокина с C-X-C-мотивом 2 (CXCL2), пептида хемокина с C-X-C-мотивом 3 (CXCL3), пептида хемокина с C-X-C-мотивом 4 (CXCL4), пептида хемокина с C-X-C-мотивом 5 (CXCL5), пептида хемокина с C-X-C-мотивом 6 (CXCL6), пептида хемокина с C-X-C-мотивом 7 (CXCL7), пептида хемокина с C-X-C-мотивом 9 (CXCL9), пептида хемокина с C-X-C-мотивом 10 (CXCL10), пептида хемокина с C-X-C-мотивом 11 (CXCL11), пептида хемокина с C-X-C-мотивом 12 (CXCL12), пептида хемокина с C-X-C-мотивом

13 (CXCL13), пептида хемокина с С-Х-С-мотивом 14 (CXCL14), пептида хемокина с С-Х-С-мотивом 16 (CXCL16), пептида хемокина с С-Х-С-мотивом 17 (CXCL17), пептида хемокина с С-мотивом 1 (XCL1), пептида хемокина с С-мотивом 2 (XCL2), пептида хемокина с С-ХЗ-С-мотивом 1 (CX3CL1); и/или любые содержащие их химерные полипептиды в любой подходящей комбинации. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не кодирует пептид интерлейкина-4 (ИЛ-4). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не кодирует пептид интерлейкина-10 (ИЛ-10). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не кодирует пептид гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не кодирует пептид интерлейкина-4 (ИЛ-4), пептид интерлейкина-10 (ИЛ-10) и/или пептид гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ).

[0126] Полинуклеотид по настоящему изобретению, кодирующий полипептид (*например*, иммуномодулирующий полипептид), может дополнительно кодировать дополнительные кодирующие и не кодирующие последовательности. Примеры дополнительных кодирующих и не кодирующих последовательностей могут включать, не ограничиваясь перечисленным, последовательности, кодирующие дополнительные полипептидные метки (*например*, кодируемые внутри рамки с полипептидом для получения слитого белка), интроны (*например*, нативные, модифицированные или гетерологичные интроны), 5'- и/или 3' -UTR (*например*, нативные, модифицированные или гетерологичные 5'- и/или 3' -UTR) и т.п. Примеры подходящих полипептидных меток могут включать, не ограничиваясь перечисленным, любую комбинацию меток очистки, таких как метки His, метки Flag, мальтозосвязывающий белок и глутатион-S-трансфераза, метки для детекции, такие как метки, которые могут быть детектированы фотометрически (*например*, зеленый флуоресцентный белок, красный флуоресцентный белок и т. д.) и метки, которые имеют детектируемую ферментативную активность (*например*, щелочная фосфатаза и т. д.), метки, содержащие секреторные последовательности, сигнальные последовательности, лидерные последовательности и/или стабилизирующие последовательности, сайты расщепления протеазой (*например*, сайты расщепления фурином, сайты расщепления TEV, сайты расщепления тромбином и т. д.) и т.п. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения 5'- и/или 3'-UTR повышают стабильность, локализацию и/или эффективность трансляции полинуклеотидов. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения 5'- и/или 3'-UTR улучшают уровень и/или продолжительность экспрессии белка. Согласно некоторым вариантам реализации 5'- и/или

3'-UTR включают элементы (*например*, один или более сайтов связывания микроРНК *и т. д.*), которые могут блокировать или снижать нецелевую экспрессию (*например*, ингибировать экспрессию в определенных типах клеток (*например*, нейронах) в определенные моменты клеточного цикла, на определенных стадиях развития *и т. д.*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения 5'- и/или 3'-UTR включают элементы (*например*, один или более сайтов связывания микроРНК *и т. д.*), которые могут усиливать экспрессию кодируемого полипептида в определенных типах клеток.

[0127] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению, кодирующий полипептид (*например*, иммуномодулирующий полипептид), функционально связан с одной или более (*например*, одной или более, двумя или более, тремя или более, четырьмя или более, пятью или более, десятью или более, и т.д.) регуляторными последовательностями. Термин «регуляторная последовательность» может включать энхансеры, инсуляторы, промоторы и другие элементы контроля экспрессии (*например*, сигналы полиаденилирования). Может быть использован любой подходящий энхансер (или энхансеры) из известных в данной области техники, включая, например, энхансерные последовательности из генов млекопитающих (таких как глобин, эластаза, альбумин, α -фетопротеин, инсулин и т.п.), энхансерные последовательности из вируса эукариотических клеток (такие как энхансер SV40 на участке поздней репликации (п.о. 100–270), энхансер раннего промотора цитомегаловируса, энхансер полиомы на участке поздней репликации, энхансеры аденовируса и т.п.); и любые комбинации перечисленного. Может быть использован любой подходящий инсулятор (инсуляторы) из известных в данной области техники, включая, например, граничные (CTRL/CTCF-связывающие/инсуляторные) элементы хроматина ВПГ CTRL1 и/или CTRL2, инсулятор сверхчувствительного сайта 4 куриц (CHS4), универсальный элемент открытия хроматина (UCOE) из HNRPA2B1-CBX3 человека, область прикрепления к скаффолду/матриксу (S/MAR) из гена бета-интерферона человека (ИФН-В1); и любые комбинации перечисленного. Может быть использован любой подходящий промотор (*например*, подходящий для транскрипции в клетках-хозяевах млекопитающих), известный в данной области техники, включая, например, промоторы, полученные из геномов вирусов (таких как вирус полиомы, вирус оспы птиц, аденовирус (такой как аденовирус 2), вирус папилломы крупного рогатого скота, вирус саркомы птиц, цитомегаловирус, ретровирус, вирус гепатита В, вирус обезьян 40 (SV40) и т.п.), промоторы из гетерологичных генов млекопитающих (таких как промотор актина (*например*, промотор β -актина), промотор убиквитина (*например*, промотор убиквитина С (UbC)), промотор фосфолицераткиназы (PGK), промотор иммуноглобулина, промоторы теплового шока и т.п.), промоторы из гомологичных

генов млекопитающих, синтетические промоторы (такие как промотор CAG) и любые их комбинации, при условии, что такие промоторы совместимы с клетками-хозяевами.

Регуляторные последовательности могут включать последовательности, которые направляют конститутивную экспрессию нуклеиновой кислоты, а также тканеспецифические регуляторные и/или индуцируемые или репрессируемые последовательности.

[0128] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению функционально связан с одним или более гетерологичными промоторами. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения один или более гетерологичных промоторов представляют собой один или более конститутивных промоторов, тканеспецифических промоторов, временных промоторов, пространственных промоторов, индуцируемых промоторов и репрессируемых промоторов. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения один или более гетерологичных промоторов представляют собой один или более из немедленно-раннего промотора цитомегаловируса человека (HCMV), промотора фактора элонгации человека-1 (EF1), промотора β -актина человека, промотора UbC человека, промотора PGK человека, синтетического промотора CAGG и любых их комбинаций. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид согласно настоящему изобретению, кодирующий полипептид (*например*, иммуномодулирующий полипептид), функционально связан с промотором HCMV.

[0129] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид согласно настоящему изобретению, кодирующий полипептид (*например*, иммуномодулирующий полипептид, такой как ИЛ-2 и/или ИЛ-12), экспрессирует указанный полипептид, когда указанный полинуклеотид доставляют в одну или более клеток-мишеней субъекта (*например*, одну или более клеток респираторной системы субъекта, дыхательных путей, легких и т.д.). Согласно некоторым вариантам реализации экспрессия полипептида (*например*, иммуномодулирующего полипептида, такого как ИЛ-2 и/или ИЛ-12) усиливает, повышает, увеличивает и/или дополняет уровни, функцию и/или активность полипептида в одной или более клетках-мишенях субъекта (*например*, по сравнению с периодом до экспрессии указанного полипептида, по сравнению с уровнями эндогенного полипептида, экспрессируемого в клетке, и т. д.). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения экспрессия полипептида (*например*, иммуномодулирующего полипептида, такого как ИЛ-2 и/или ИЛ-12) обеспечивает профилактическое, паллиативное или терапевтическое облегчение одного или более признаков или симптомов рака (*например*, солидной опухоли, гематологического рака, рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака желудка, глиомы, рака головы, лейкоза, рака печени, рака легких,

лимфомы, миеломы, рака шеи, рака яичника, меланомы, рака поджелудочной железы, рака почки, рака слюнной железы, рака кожи, рака желудка, эпителиального рака вилочковой железы, рака щитовидной железы *и т.д.*) у субъекта (*например*, по сравнению с периодом до экспрессии указанного полипептида).

Химерные полипептиды

[0130] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует химерный полипептид, содержащий первый иммуномодулирующий полипептид и второй иммуномодулирующий полипептид. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения первый и второй иммуномодулирующие полипептиды одинаковы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения первый и второй иммуномодулирующие полипептиды представляют собой разные полипептиды. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный химерный полипептид дополнительно содержит линкерный полипептид, связывающий первый и второй иммуномодулирующие полипептиды. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения химерный полипептид содержит, в направлении от N-конца к C-концу, первый иммуномодулирующий полипептид – линкерный полипептид – второй иммуномодулирующий полипептид. Первый и/или второй иммуномодулирующие полипептиды могут представлять собой любой из иммуномодулирующих полипептидов, описанных в настоящей заявке или известных в данной области техники.

[0131] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный линкерный полипептид представляет собой отщепляемый линкерный полипептид. Любой отщепляемый линкерный полипептид, известный в данной области техники, может быть использован в химерных полипептидах согласно настоящему изобретению, включая, например, линкер T2A, линкер P2A, линкер E2A и линкер F2A; *и т. д.* Согласно некоторым вариантам реализации изобретения линкерный полипептид представляет собой линкерный полипептид T2A. Пример последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей линкерный полипептид T2A, представлен SEQ ID NO: 64. Пример последовательности аминокислот линкерного полипептида T2A представлен SEQ ID NO: 68. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения линкерный полипептид представляет собой линкерный полипептид P2A. Пример последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей линкерный полипептид P2A, представлен SEQ ID NO: 65. Пример последовательности аминокислот линкерного полипептида P2A представлен SEQ ID NO: 69. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный линкерный полипептид представляет собой линкерный полипептид

E2A. Пример последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей линкерный полипептид E2A, представлен SEQ ID NO: 66. Пример последовательности аминокислот линкерного полипептида E2A представлен SEQ ID NO: 70. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный линкерный полипептид представляет собой линкерный полипептид F2A. Пример последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей линкерный полипептид F2A, представлен SEQ ID NO: 67. Пример последовательности аминокислот линкерного полипептида F2A представлен SEQ ID NO: 71. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный линкерный полипептид содержит последовательность, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичную последовательности аминокислот, выбранной из SEQ ID NO: 68-71. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный линкерный полипептид содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 68–71.

[0132] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный линкерный полипептид представляет собой неотщепляемый линкерный полипептид. Любой неотщепляемый линкерный полипептид, известный в данной области техники, может быть использован в химерных полипептидах по настоящему изобретению, включая, например, линкер GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 72), линкер GGSSRSSSSGGGGSGGGG (SEQ ID NO: 73), линкер GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 74), линкер CGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 75), линкер SHGGHGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 76), линкер MGGMSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 77), линкер YGGYSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 78), линкер WGGYSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 79), линкер SVSVGMKPSRP (SEQ ID NO: 80), линкер VISNHAGSSRRL (SEQ ID NO: 81), линкер PWIPTPRPTFTG (SEQ ID NO: 82), линкер RGRGRGRGRGR (SEQ ID NO: 83); и т.д. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный линкерный полипептид содержит последовательность, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% идентичную последовательности аминокислот, выбранной из SEQ ID NO: 72–83. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный линкерный полипептид содержит последовательность, выбранную из SEQ ID NO: 72–83.

[0133] Пример последовательности нуклеиновой кислоты, кодирующей химерный полипептид, содержащий первый иммуномодулирующий полипептид человека, линкерный

полипептид и второй иммуномодулирующий полипептид человека, представлен SEQ ID NO: 84. Пример последовательности аминокислот химерного полипептида, содержащей первый иммуномодулирующий полипептид человека, линкерный полипептид и второй иммуномодулирующий полипептид человека, представлен SEQ ID NO: 85. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот, имеющую по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, 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 100% идентичность последовательности SEQ ID NO: 85. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению кодирует полипептид, содержащий последовательность аминокислот SEQ ID NO: 85.

[0134] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не содержит кодирующую последовательность полипептида цепи коллагена альфа-1 (VII) (COL7) (*например*, не содержит трансген, кодирующий его). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не содержит кодирующую последовательность полипептида лизилгидроксилазы 3 (LH3) (*например*, не содержит трансген, кодирующий его). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не содержит кодирующую последовательность полипептида 17 цитоскелета кератина типа I (KRT17) (*например*, не содержит трансген, кодирующий его). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не содержит кодирующую последовательность полипептида трансглутаминазы (TGM) (*например*, полипептида трансглутаминазы человека, такого как полипептид TGM1 человека и/или полипептид TGM5 человека) (*например*, не содержит трансген, кодирующий его). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не содержит кодирующую последовательность косметического белка (*например*, белков коллагена, фибронектинов, эластинов, люмиканов, рецепторов витронектинов/витронектинов, ламининов, нейромодуляторов, фибриллинов, дополнительных белков дермального внеклеточного матрикса и т. д.) (*например*, не содержит трансген, кодирующий указанный белок). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не содержит кодирующую последовательность антитела (*например*, полноразмерного антитела, фрагмента

антитела и т. д.) (например, не содержит трансген, кодирующий его). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не содержит кодирующую последовательность полипептида ингибитора сериновой протеазы типа Kazal (SPINK) (например, полипептида SPINK человека, такого как полипептид SPINK5) (например, не содержит трансген, кодирующий его). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид согласно настоящему описанию не содержит кодирующую последовательность полипептида филагрина или филагрина 2 (например, полипептида филагрина или филагрина 2 человека) (например, не содержит трансген, кодирующий указанный полипептид). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не содержит кодирующую последовательность полипептида, регулирующего трансмембранную проводимость при муковисцидозе (CFTR) (например, полипептида CFTR человека) (например, не содержит трансген, кодирующий указанный полипептид). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не содержит кодирующую последовательность ассоциированного с ихтиозом полипептида (например, не содержит трансген, кодирующий указанный полипептид) (например, полипептид члена 12 подсемейства А АТФ-связывающей кассеты, полипептид 1-ацилглицерин-3-фосфат-О-ацилтрансферазы ABHD5, полипептид члена А2 семейства 3 альдегиддегидрогеназ, полипептид арахидонат-12-липоксигеназы типа 12R, полипептид гидропероксид-изомеразы ALOXE3, полипептид субъединицы сигма-1А комплекса AP-1, полипептид арилсульфатазы Е, полипептид каспазы-14, полипептид корнеодесмозина, полипептид церамидсинтазы 3, полипептид карбогидратсульфотрансферазы 8, полипептид клаудина-1, полипептид цистатина-А, полипептид цитохрома P450 4F22, полипептид 3-бета-гидроксистероид-дельта (8), полипептид дельта(7)-изомеразы, полипептид ELOVL4 (белка 4 удлинения жирных кислот с очень длинной цепью), полипептид филагрина, полипептид филагрина 2, полипептид семейства белков межклеточных щелевых контактов бета-2, полипептид семейства белков межклеточных щелевых контактов бета-3, полипептид семейства белков межклеточных щелевых контактов бета-4, полипептид семейства белков межклеточных щелевых контактов бета-6, полипептид 3-кетодигидросфингозинредуктазы, полипептид кератина цитоскелета 1 типа II, эпидермальный полипептид кератина цитоскелета 2 типа II, полипептид кератина цитоскелета 9 типа I, полипептид кератина цитоскелета 10 типа I, полипептид члена N семейства липаз, полипептид лорикрина, полипептид протеазы сайта-2 мембраносвязанного фактора транскрипции, полипептид транспортера магния NIPA4, стерол-4-альфа-карбоксилат-3-дегидрогеназу, декарбоксилирующий полипептид, полипептид рецептора сигнала нацеливания на пероксисому 2, полипептид D-3-

фосфоглицератдегидрогеназы, фитаноил-КоА-диоксигеназу, пероксисомальный полипептид, полипептид белка 1, содержащего домен пататин-подобной фосфолипазы, полипептид белка созревания протеасом, полипептид фосфосерин-аминотрансферазы, полипептид члена 7 семейства 9С короткоцепочечных дегидрогеназ/редуктаз, полипептид серпина В8, полипептид транспортного белка 4 длинноцепочечных жирных кислот, полипептид белка 29, ассоциированного с синапсомой, полипептид белка-супрессора туморогенности 14, полипептид стерилсульфатазы, полипептид 33В, ассоциированный с вакуолярной сортировкой белка, и гомологичный полипептид СААХ пренилпротеазы 1). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не содержит кодирующую последовательность полипептида альфа-1 (VII) цепи коллагена, полипептида лизилгидроксилазы 3, полипептида цитоскелета 17 типа I кератина и/или любых его химерных полипептидов (*например*, не содержит трансген, кодирующий указанный полипептид). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения полинуклеотид по настоящему изобретению не содержит кодирующую последовательность полипептида (*например*, не содержит трансген, кодирующий указанный полипептид) цепи альфа-1 (VII) коллагена, полипептида лизилгидроксилазы 3, полипептида цитоскелета 17 типа I кератина, полипептида транслутаминазы (TGM), полипептида филаггрина, косметического белка, антитела, полипептида SPINK, полипептида CFTR, полипептида, ассоциированного с ихтиозом, полипептида альфа-1-антитрипсина, полипептида натрий-зависимого белка транспорта фосфатов 2В, аксонемного полипептида 5 тяжелой цепи динеина, аксонемного полипептида 11 тяжелой цепи динеина, полипептида 39, содержащего спиральный домен, аксонемного полипептида 1 промежуточной цепи динеина, полипептида 40, содержащего суперспиральный домен, полипептида 103, содержащего суперспиральный домен, полипептида антигена 1, ассоциированного со спермой, полипептида белка 10, содержащего домен MYND цинкового пальца, полипептида белка 4, содержащего повтор Armadillo, полипептида белка 151, содержащего суперспиральный домен, аксонемного полипептида промежуточной цепи 2 динеина, полипептида гомолога белка 1 головки радиальных спиц, полипептида 114, содержащего суперспиральный домен, полипептида гомолога А белка 4 головки радиальных спиц, аксонемного полипептида фактора 1 сборки динеина, аксонемного полипептида фактора сборки 2 динеина, полипептида белка 6, содержащего богатый лейцином повтор, полипептида белка В, ассоциированного с легочным сурфактантом, полипептида белка С, ассоциированного с легочным сурфактантом, полипептида гомеобокс-белка Nkx-2.1, полипептида члена 3 подсемейства А АТФ-связывающих кассет, полипептида общей бета-субъединицы рецептора цитокинов, полипептида субъединицы альфа рецептора

гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, полипептида рецептора костного морфогенетического белка 2 типа, полипептида кальциевой АТФазы 2 саркоплазматического/эндоплазматического ретикулума, полипептида рецептора серин/треонин-протеинкиназы R3, полипептида эндоглина, полипептида SMAD9, полипептида кавеолина-1, полипептида – члена 3 подсемейства К калиевых каналов, полипептида eIF-2-альфа-киназы GCN2, полипептида ассоциированного с легочным сурфактантом белка A2, полипептида обратной транскриптазы теломеразы, полипептида дискерина, полипептида регулятора удлинения теломер геликазы 1, полипептида поли(А)-специфической рибонуклеазы PARN, полипептида ядерного фактора 2, взаимодействующего с TEF1, полипептида некоровой субъединицы NAF1 рибонуклеопротеидного комплекса H/ACA, полипептида муцина-5B, полипептида десмоплакина, полипептида субъединицы STN1 комплекса CST, полипептида дипептидилпептидазы 9; и/или любых содержащих перечисленные полипептиды химерных полипептидов.

Рекомбинантные нуклеиновые кислоты

[0135] Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение относится к рекомбинантным нуклеиновым кислотам, содержащим любой один или более полинуклеотидов, описанных в настоящей заявке. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота представляет собой вектор (*например, экспрессионный вектор, вектор для дисплея и т.д.*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения вектор представляет собой ДНК-вектор или РНК-вектор. В целом, можно использовать векторы, подходящие для поддержания, размножения и/или экспрессии полинуклеотидов для получения одного или более полипептидов у субъекта. Примеры подходящих векторов могут включать, например, плазмиды, космиды, эписомы, транспозоны и вирусные векторы (*например, аденовирусные векторы, аденоассоциированные вирусные векторы, векторы на основе вируса осповакцины, векторы на основе вируса Синдбис, векторы на основе вируса кори, герпесвирусные векторы, лентивирусные векторы, ретровирусные векторы и т. д.*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения вектор представляет собой герпесвирусный вектор. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения вектор способен к автономной репликации в клетке-хозяине. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вектор не способен к автономной репликации в клетке-хозяине. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения вектор может интегрироваться в ДНК хозяина. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения вектор не может интегрироваться в ДНК хозяина (*например, является*

эписомальным). Способы получения векторов, содержащих один или более представляющих интерес полинуклеотидов, хорошо известны специалистам в данной области техники, включая, например, химический синтез или искусственные манипуляции с выделенными сегментами нуклеиновых кислот (*например*, с помощью методов генной инженерии).

[0136] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению представляет собой ампликон вируса простого герпеса (ВПГ). Ампликоны вируса герпеса, в том числе их структурные признаки и способы их получения, в целом, известны специалистам в данной области техники (*см.*, *например*, источник: de Silva S. and Bowers W. "Herpes Virus Amplicon Vectors". *Viruses* 2009, 1, 594-629). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения ампликон вируса простого герпеса представляет собой ампликон ВПГ-1. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения ампликон вируса простого герпеса представляет собой гибридный ампликон ВПГ-1. Примеры гибридных ампликонов ВПГ-1 могут включать, не ограничиваясь перечисленным, гибридные ампликоны ВПГ/ААВ, гибридные ампликоны ВПГ/ВЭБ, гибридные ампликоны ВПГ/ВЭБ/РВ и/или гибридные ампликоны ВПГ/*Sleeping Beauty*. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный ампликон представляет собой гибридный ампликон ВПГ/ААВ. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный ампликон представляет собой гибридный ампликон ВПГ/*Sleeping Beauty*.

[0137] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению представляет собой геном рекомбинантного вируса герпеса. Геном рекомбинантного вируса герпеса может представлять собой рекомбинантный геном любого члена семейства ДНК-вирусов Herpesviridae, известного в данной области техники, включая, например, геном рекомбинантного вируса простого герпеса, геном рекомбинантного вируса ветряной оспы, геном рекомбинантного цитомегаловируса человека, геном рекомбинантного вируса герпеса 6А, геном рекомбинантного вируса герпеса 6В, геном рекомбинантного вируса герпеса 7, геном рекомбинантного вируса Эпштейна-Барр, геном рекомбинантного вируса герпеса, ассоциированного с саркомой Капоши, и любые комбинации или производные перечисленного. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса герпеса содержит одну или более (*например*, одну или более, две или более, три или более, четыре или более, пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, десять или более *и т.д.*) инактивирующих мутаций. В настоящей заявке «инактивирующая мутация» может относиться к любой мутации, которая приводит к тому, что продукт гена или регулона (РНК или белок) характеризуется сниженным,

недетектируемым или элиминированным количеством и/или сниженной, недетектируемой или элиминированной функцией (*например*, по сравнению с соответствующей последовательностью, в которой отсутствует инактивирующая мутация). Примеры инактивирующих мутаций могут включать, не ограничиваясь перечисленным, делеции, вставки, точечные мутации и перестройки в последовательностях контроля транскрипции (промоторах, энхансерах, изоляторах и *т.д.*) и/или кодирующих последовательностях заданного гена или регулона. Может быть использован любой подходящий способ измерения количества продукта гена или регулона, известный в данной области техники, включая, например, кПЦР, нозерн-блоттинг, РНК-секвенирование, вестерн-блоттинг, ИФА ELISA и *т.д.* Согласно некоторым вариантам реализации изобретения одна или более инактивирующих мутаций находятся в одном или более (*например*, одном или более, двух или более, трех или более, четырех или более, пяти или более, шести или более, семи или более, восемью или более, девяти или более, десяти или более и *т.д.*) генах вируса герпеса. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса герпеса аттенуирован (*например*, по сравнению с соответствующим геномом вируса герпеса дикого типа). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса герпеса является репликативно-компетентным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса герпеса является репликативно-дефектным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса герпеса не является онколитическим.

[0138] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота представляет собой геном рекомбинантного вируса простого герпеса (ВПГ). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит одну или более (*например*, одну или более, две или более, три или более, четыре или более, пять или более, шесть или более, семь или более, восемь или более, девять или более, десять или более и *т.д.*) инактивирующих мутаций. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения одна или более инактивирующих мутаций находятся в одном или более (*например*, одном или более, двух или более, трех или более, четырех или более, пяти или более, шести или более, семи или более, восемью или более, девяти или более, десяти или более и *т.д.*) генах вируса простого герпеса. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса аттенуирован (*например*, по сравнению с соответствующим геномом вируса простого герпеса дикого типа). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса является репликативно-компетентным. Согласно

некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса является репликативно-дефектным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса не является онколитическим.

[0139] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса герпеса представляет собой геном рекомбинантного вируса простого герпеса типа 1 (ВПГ-1), геном рекомбинантного вируса простого герпеса типа 2 (ВПГ-2) или любые их производные. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса представляет собой геном рекомбинантного ВПГ-1. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного ВПГ-1 может быть получен из любого штамма ВПГ-1, известного в данной области техники, включая, например, штаммы 17, Ty25, R62, S25, Ku86, S23, R11, Ty148, Ku47, H166_{syn}, 1319-2005, F-13, M-12, 90237, F-17, KOS, 3083-2008, F12g, L2, CD38, H193, M-15, India 2011, 0116209, F-111, 66-207, 2762, 369-2007, 3355, MacIntyre, McKrae, 7862, 7-hse, HF10, 1394,2005, 270-2007, OD4, SC16, M-19, 4J1037, 5J1060, J1060, KOS79, 132-1988, 160-1982, H166, 2158-2007, RE, 78326, F18g, F11, 172-2010, H129, F, E4, CJ994, F14g, E03, E22, E10, E06, E11, E25, E23, E35, E15, E07, E12, E14, E08, E19, E13, ATCC 2011 и т. д. (см., например, источник: Bowen *et al.* J Virol. 2019 Apr 3; 93(8)). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного ВПГ-1 получен из штамма KOS. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного ВПГ-1 получен не из штамма McKrae. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного ВПГ-1 аттенуирован (например, по сравнению с соответствующим геномом ВПГ-1 дикого типа). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного ВПГ-1 является репликативно-компетентным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного ВПГ-1 является репликативно-дефектным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного ВПГ-1 не является онколитическим.

[0140] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию по меньшей мере в одном, по меньшей мере в двух, по меньшей мере в трех, по меньшей мере в четырех, по меньшей мере в пяти, по меньшей мере в шести, по меньшей мере в семи или во всех восьми генах вируса простого герпеса: белка инфицированных клеток (или полипептида инфицированных клеток) (ICP) 0, ICP4, ICP22, ICP27, ICP47, тимидинкиназы (tk), длинной уникальной области (UL) 41 и/или UL55. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса не содержит инактивирующей мутации в генах вируса простого герпеса ICP34.5 (в одной или в обеих копиях) и/или ICP47 (например, чтобы избежать

инактивирующую мутацию в генах ICP0 (в одной или в обеих копиях), ICP4 (в одной или в обеих копиях), ICP27, ICP47, UL41 и/или UL55. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене ICP22 и инактивирующую мутацию в гене UL41. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения инактивирующая мутация представляет собой делецию кодирующей последовательности генов ICP22 и/или UL41. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса дополнительно содержит инактивирующую мутацию в генах ICP0 (в одной или в обеих копиях), ICP4 (в одной или в обеих копиях), ICP27, ICP47 и/или UL55.

[0144] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене ICP27. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене ICP27 и дополнительно содержит инактивирующую мутацию в генах ICP0 (в одной или в обеих копиях), ICP4 (в одной или в обеих копиях), ICP22, ICP47, UL41 и/или UL55. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения инактивирующая мутация представляет собой делецию кодирующей последовательности гена ICP27.

[0145] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене ICP47. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене ICP47 и дополнительно содержит инактивирующую мутацию в генах ICP0 (в одной или в обеих копиях), ICP4 (в одной или в обеих копиях), ICP22, ICP27, UL41 и/или UL55. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения инактивирующая мутация представляет собой делецию кодирующей последовательности гена ICP47.

[0146] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене UL41. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене UL41 и дополнительно содержит инактивирующую мутацию в генах ICP0 (в одной или в обеих копиях), ICP4 (в одной или в обеих копиях), ICP22, ICP27, ICP47 и/или UL55. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения инактивирующая мутация представляет собой делецию кодирующей последовательности гена UL41.

[0147] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене UL55. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене UL55 и дополнительно содержит инактивирующую мутацию в генах ICP0 (в одной или в обеих копиях), ICP4 (в одной или в обеих копиях), ICP22, ICP27, ICP47 и/или UL41. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения инактивирующая мутация представляет собой делецию кодирующей последовательности гена UL55.

[0148] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию (*например, делецию*) (объединенной) области внутренних повторов, содержащей длинную область внутренних повторов (IR_L) и короткую область внутренних повторов (IR_S). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная инактивация (*например, делеция*) объединенной области элиминирует по одной копии каждого из генов ICP4 и ICP0. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная инактивация (*например, делеция*) объединенной области дополнительно инактивирует (*например, делетирует*) промотор генов ICP22 и ICP47. При необходимости экспрессия одного или обоих этих генов может быть восстановлена путем инсерции немедленно-раннего промотора в геном рекомбинантного вируса простого герпеса (*см., например, Hill et al. (1995). Nature 375(6530): 411-415; Goldsmith et al. (1998). J Exp Med 187(3): 341-348*). Без связи с какой-либо теорией полагают, что инактивация (*например, делеция*) объединенной области может способствовать стабильности генома рекомбинантного вируса простого герпеса и/или позволять геному рекомбинантного вируса простого герпеса вмещать больше трансгенов и/или трансгены большего размера.

[0149] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в генах ICP4 (одной или обеих копиях), ICP22 и ICP27. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в генах ICP4 (в одной или в обеих копиях), ICP27 и UL55. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в генах ICP4 (в одной или в обеих копиях), ICP22, ICP27, ICP47 и UL55. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения инактивирующая мутация в генах ICP4 (в одной или в обеих копиях), ICP27 и/или UL55 представляет собой делецию кодирующей последовательности генов ICP4 (в одной или в обеих копиях), ICP27 и/или UL55. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения инактивирующая мутация в генах ICP22 и

ICP47 представляет собой делецию в промоторной области генов ICP22 и ICP47 (например, кодирующие последовательности ICP22 и ICP47 интактны, но не являются транскрипционно активными). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит делецию в кодирующей последовательности генов ICP4 (одной или обеих копий), ICP27 и UL55 и делецию в промоторной области генов ICP22 и ICP47. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса дополнительно содержит инактивирующую мутацию в генах ICP0 (в одной или в обеих копиях) и/или UL41.

[0150] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене ICP0 (в одной или в обеих копиях). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в генах ICP0 (в одной или в обеих копиях) и ICP4 (в одной или в обеих копиях). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в генах ICP0 (в одной или в обеих копиях), ICP4 (в одной или в обеих копиях) и ICP22. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в генах ICP0 (в одной или в обеих копиях), ICP4 (в одной или в обеих копиях), ICP22 и ICP27. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в генах ICP0 (в одной или в обеих копиях), ICP4 (в одной или в обеих копиях), ICP22, ICP27 и UL55. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в генах ICP0 (в одной или в обеих копиях), ICP4 (в одной или в обеих копиях), ICP22, ICP27 и/или UL55. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса дополнительно содержит инактивирующую мутацию в генах ICP47 и/или UL41.

[0151] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов по настоящему изобретению в пределах одного, двух, трех, четырех, пяти, шести, семи или более локусов вирусного гена. Примеры подходящих вирусных локусов могут включать, без ограничения, локусы гена вируса простого герпеса ICP0 (в одной или в обеих копиях), ICP4 (в одной или в обеих копиях), ICP22, ICP27, ICP47, tk, UL41 и UL55. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более

кодирующий иммуномодулирующий полипептид (такой как полипептид ГМ-КСФ человека), в локусе ICP22). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов согласно настоящему изобретению в одном или обоих локусах гена ICP4 вируса, и один или более полинуклеотидов согласно настоящему изобретению в локусе гена UL41 вируса (например, рекомбинантный вирус, содержащий полинуклеотид, кодирующий иммуномодулирующий полипептид (такой как полипептид ИЛ-12 человека), в одном или обоих локусах ICP4, и полинуклеотид, кодирующий иммуномодулирующий полипептид (такой как полипептид ГМ-КСФ человека), в локусе UL41). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов согласно настоящему изобретению в локусе гена ICP22 вируса, и один или более полинуклеотидов согласно настоящему изобретению в локусе гена UL41 вируса (например, рекомбинантный вирус, содержащий полинуклеотид, кодирующий иммуномодулирующий полипептид (такой как полипептид ИЛ-12 человека), в локусе ICP22, и полинуклеотид, кодирующий иммуномодулирующий полипептид (такой как полипептид ГМ-КСФ человека), в локусе UL41). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов согласно настоящему изобретению в одном или обоих локусах гена ICP4 вируса, один или более полинуклеотидов согласно настоящему изобретению в локусе гена ICP22 вируса, и один или более полинуклеотидов согласно настоящему изобретению в локусе гена UL41 вируса (например, рекомбинантный вирус, содержащий полинуклеотид, кодирующий иммуномодулирующий полипептид (такой как полипептид ИЛ-12 человека), в одном или обоих локусах ICP4, полинуклеотид, кодирующий иммуномодулирующий полипептид (такой как полипептид ГМ-КСФ человека), в локусе ICP22, и полинуклеотид, кодирующий иммуномодулирующий полипептид (такой как полипептид ИЛ-2 человека), в локусе UL41). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов согласно настоящему изобретению в пределах одного или обоих локусов гена ICP4 вируса, один или более полинуклеотидов согласно настоящему изобретению в пределах локуса гена ICP22 вируса, один или более полинуклеотидов согласно настоящему изобретению в пределах локуса гена UL41 вируса, один или более полинуклеотидов согласно настоящему изобретению в пределах локуса гена ICP27 вируса, один или более полинуклеотидов согласно настоящему изобретению в пределах локуса гена ICP47 вируса, один или более полинуклеотидов согласно

генома рекомбинантного ΔICP4 (одной или обеих копий) вируса простого герпеса по сравнению с геномом вируса простого герпеса дикого типа в клетке-мишени; при измерении относительной цитотоксичности рекомбинантного ΔICP4 (одной или обеих копий)/ΔICP22 вируса простого герпеса по сравнению с геномом простого герпеса дикого типа в клетке-мишени *и т.д.*). Согласно некоторым вариантам реализации цитотоксичность (*например, в клетке-мишени*) рекомбинантного генома герпеса (*например, генома рекомбинантного вируса простого герпеса*) снижается по меньшей мере приблизительно в 1,5 раза, по меньшей мере приблизительно в 2 раза, по меньшей мере приблизительно в 3 раза, по меньшей мере приблизительно в 4 раза, по меньшей мере приблизительно в 5 раз, по меньшей мере приблизительно в 6 раз, по меньшей мере приблизительно в 7 раз, по меньшей мере приблизительно в 8 раз, по меньшей мере приблизительно в 9 раз, по меньшей мере приблизительно в 10 раз, по меньшей мере приблизительно в 15 раз, по меньшей мере приблизительно в 20 раз, по меньшей мере приблизительно в 25 раз, по меньшей мере приблизительно в 50 раз, по меньшей мере приблизительно в по меньшей мере приблизительно в 75 раз, по меньшей мере приблизительно в 100 раз, по меньшей мере приблизительно в 250 раз, по меньшей мере приблизительно в 500 раз, по меньшей мере приблизительно в 750 раз, по меньшей мере приблизительно в 1000 раз или более по сравнению с соответствующим геномом вируса герпеса дикого типа (*например, при измерении относительной цитотоксичности рекомбинантного генома вируса простого герпеса ΔICP4 (одной или обеих копий) по сравнению с геномом вируса простого герпеса дикого типа в клетке-мишени; при измерении относительной цитотоксичности рекомбинантного генома вируса простого герпеса ΔICP4 (одной или обеих копий)/ΔICP22 по сравнению с геномом вируса простого герпеса дикого типа в клетке-мишени и т.д.*). Способы измерения цитотоксичности известны специалистам в данной области техники, в том числе, например, измерение с применением прижизненных красителей (формазановых красителей), биомаркеров протеазы, МТТ-анализа (или анализа с использованием родственных солей тетразолия, таких как ХТТ, МТС, водорастворимых солей тетразолия *и т. д.*), измерение содержания АТФ *и т. д.*

[0154] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантный геном (*например, геном рекомбинантного вируса простого герпеса*) сконструирован таким образом, чтобы уменьшить его влияние на пролиферацию клеток-мишеней после воздействия рекомбинантного генома на клетку-мишень по сравнению с соответствующим геномом дикого типа (*например, геномом вируса простого герпеса дикого типа*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения клетка-мишень представляет собой клетку человека

(первичные клетки или линию клеток, происходящую от них). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения клетка-мишень представляет собой клетку дыхательных путей (первичные клетки или линию клеток, происходящую от них). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения клетка-мишень представляет собой эпителиальную клетку дыхательных путей (первичные клетки или линию клеток, происходящую от них). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения клетка-мишень представляет собой клетку легкого (первичные клетки или линию клеток, происходящую от них). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения пролиферация клеток-мишеней после воздействия рекомбинантного генома происходит по меньшей мере приблизительно на 5%, по меньшей мере приблизительно на 10%, по меньшей мере приблизительно на 15%, по меньшей мере приблизительно на 20%, по меньшей мере приблизительно на 25%, по меньшей мере приблизительно на 30%, по меньшей мере приблизительно на 35%, по меньшей мере приблизительно на 40%, по меньшей мере приблизительно на 45%, по меньшей мере приблизительно на 50%, по меньшей мере приблизительно на 55%, по меньшей мере приблизительно на 60%, по меньшей мере приблизительно на 65%, по меньшей мере приблизительно на 70%, по меньшей мере приблизительно на 75%, по меньшей мере приблизительно на 80%, по меньшей мере приблизительно на 85%, по меньшей мере приблизительно на 90%, по меньшей мере приблизительно на 95% или по меньшей мере приблизительно на 99% быстрее относительно пролиферации клеток-мишеней после воздействия соответствующего генома дикого типа (*например*, при измерении относительной клеточной пролиферации после воздействия генома рекомбинантного вируса простого герпеса ΔICP4 (одной или обеих копий) по сравнению с клеточной пролиферацией после воздействия генома вируса простого герпеса дикого типа в клетках-мишенях; при измерении относительной клеточной пролиферации после воздействия рекомбинантного генома вируса простого герпеса ΔICP4 (одной или обеих копий)/ΔICP22 по сравнению с клеточной пролиферацией после воздействия генома вируса простого герпеса дикого типа в клетках-мишенях, *и т. д.*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения пролиферация клеток-мишеней после воздействия рекомбинантным геномом происходит по меньшей мере приблизительно в 1,5 раза, по меньшей мере приблизительно в 2 раза, по меньшей мере приблизительно в 3 раза, по меньшей мере приблизительно в 4 раза, по меньшей мере приблизительно в 5 раз, по меньшей мере приблизительно в 6 раз, по меньшей мере приблизительно в 7 раз, по меньшей мере приблизительно в 8 раз, по меньшей мере приблизительно в 9 раз, по меньшей мере приблизительно в 10 раз, по меньшей мере приблизительно в 15 раз, по меньшей мере приблизительно в 20 раз, по меньшей мере

приблизительно в 25 раз, по меньшей мере приблизительно в 50 раз, по меньшей мере приблизительно в 75 раз, по меньшей мере приблизительно в 100 раз, по меньшей мере приблизительно в 250 раз, по меньшей мере приблизительно в 500 раз, по меньшей мере приблизительно в 750 раз или по меньшей мере приблизительно в 1000 раз быстрее по сравнению с пролиферацией клеток-мишеней после воздействия соответствующего генома дикого типа (*например*, при измерении относительной клеточной пролиферации после воздействия рекомбинантного генома вируса простого герпеса Δ ICP4 (одной или обеих копий) по сравнению с клеточной пролиферацией после воздействия генома вируса простого герпеса дикого типа в клетках-мишенях; при измерении относительной клеточной пролиферации после воздействия рекомбинантного генома вируса простого герпеса Δ ICP4 (одной или обеих копий)/ Δ ICP22 по сравнению с клеточной пролиферацией после воздействия генома вируса простого герпеса дикого типа в клетках-мишенях, *и т. д.*). Способы измерения клеточной пролиферации известны специалистам в данной области техники, в том числе, *например*, с помощью анализа пролиферации клеток Ki67, анализа пролиферации клеток BrdU *и т. д.*

[0155] Вектор (*например*, герпесвирусный вектор) может включать один или более полинуклеотидов по настоящему изобретению в форме, подходящей для экспрессии полинуклеотида в клетке-хозяине. Векторы могут включать одну или более регуляторных последовательностей, функционально связанных с экспрессируемым полинуклеотидом (*например*, как описано выше).

[0156] Согласно некоторым вариантам реализации настоящее изобретение относится к одному или более гетерологичным полинуклеотидам (*например*, бактериальной искусственной хромосоме (BAC)), содержащим любую из рекомбинантных нуклеиновых кислот, описанных в настоящей заявке.

[0157] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота (*например*, геном рекомбинантного вируса простого герпеса) по настоящему изобретению содержит один или более полинуклеотидов, описанных в настоящей заявке, инсертированных в указанную рекомбинантную нуклеиновую кислоту в любой ориентации. Если указанная рекомбинантная нуклеиновая кислота содержит два или более полинуклеотидов, описанных в настоящей заявке (*например*, два или более, три или более *и т. д.*), полинуклеотиды могут быть инсертированы в одной и той же ориентации или во взаимно противоположной ориентации. Без связи с конкретной теорией, встраивание двух полинуклеотидов (*например*, двух трансгенов) в рекомбинантную нуклеиновую кислоту (*например*, вектор) в антисмысловой ориентации может помочь избежать сквозного чтения и обеспечить надлежащую экспрессию каждого полинуклеотида.

[0158] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению не содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид цепи альфа-1 (VII) коллагена (COL7). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению не содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид лизилгидроксилазы 3 (LH3). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению не содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид кератина цитоскелета 17 типа I (KRT17). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению не содержит полинуклеотида, кодирующего полипептид трансглутаминазы (TGM) (*например*, полипептид трансглутаминазы человека, такой как полипептид TGM1 человека и/или полипептид TGM5 человека). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению не содержит полинуклеотид, кодирующий косметический белок (*например*, белки коллагена, фибронектины, эластины, люмиканы, рецепторы витронектинов/витронектины, ламинины, нейромодуляторы, фибриллины, дополнительные белки дермального внеклеточного матрикса и т.д.). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению не содержит полинуклеотид, кодирующий антитело (*например*, полноразмерное антитело, фрагмент антитела и т.д.). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению не содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид ингибитора сериновой протеазы типа Kazal (SPINK) (*например*, полипептид SPINK человека, такой как полипептид SPINK5). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению не содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид филагрина или филагрина 2 (*например*, полипептид филагрина или филагрина 2 человека). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению не содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид – регулятор трансмембранной проводимости при муковисцидозе (CFTR) (*например*, полипептид CFTR человека). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению не содержит полинуклеотид, кодирующий ассоциированный с ихтиозом полипептид (*например*, полипептид – член 12 подсемейства А АТФ-связывающих кассет, полипептид 1-ацилглицерин-3-фосфат-О-ацилтрансферазы ABHD5, полипептид – член А2 семейства 3 альдегиддегидрогеназ,

полипептид арахидонат-12-липоксигеназы типа 12R, полипептид гидропероксид-изомеразы ALOXE3, полипептид субъединицы сигма-1A комплекса AP-1, полипептид арилсульфатазы E, полипептид каспазы-14, полипептид корнеодесмозина, полипептид церамидсинтазы 3, полипептид карбогидратсульфотрансферазы 8, полипептид клаудина-1, полипептид цистатина-A, полипептид цитохрома P450 4F22, полипептид 3-бета-гидроксистероид-дельта (8), полипептид дельта(7)-изомеразы, полипептид ELOVL4 (белка 4 удлинения жирных кислот с очень длинной цепью), полипептид филагрина, полипептид филагрина 2, полипептид семейства белков межклеточных щелевых контактов бета-2, полипептид семейства белков межклеточных щелевых контактов бета-3, полипептид семейства белков межклеточных щелевых контактов бета-4, полипептид семейства белков межклеточных щелевых контактов бета-6, полипептид 3-кетодигидросфингозинредуктазы, полипептид кератина цитоскелета 1 типа II, эпидермальный полипептид кератина цитоскелета 2 типа II, полипептид кератина цитоскелета 9 типа I, полипептид кератина цитоскелета 10 типа I, полипептид члена N семейства липаз, полипептид лорикрина, полипептид протеазы сайта-2 мембраносвязанного фактора транскрипции, полипептид транспортера магния NIPA4, стерол-4-альфа-карбоксилат-3-дегидрогеназу, декарбоксилирующий полипептид, полипептид рецептора сигнала нацеливания на пероксисому 2, полипептид D-3-фосфоглицератдегидрогеназы, фитаноил-КоА-диоксигеназу, пероксисомальный полипептид, полипептид белка 1, содержащего домен пататин-подобной фосфолипазы, полипептид белка созревания протеасом, полипептид фосфосерин-аминотрансферазы, полипептид члена 7 семейства 9C короткоцепочечных дегидрогеназ/редуктаз, полипептид серпина B8, полипептид транспортного белка 4 длинноцепочечных жирных кислот, полипептид белка 29, ассоциированного с синапсомой, полипептид белка-супрессора туморогенности 14, полипептид стерилсульфатазы, полипептид 33B, ассоциированный с вакуолярной сортировкой белка, и гомологичный полипептид СААХ пренилпротеазы 1). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению не содержит полинуклеотида, кодирующего полипептид альфа-1 (VII) цепи коллагена, полипептид лизилгидроксилазы 3, полипептид 17 кератина цитоскелета типа I и/или любые содержащие перечисленное химерные полипептиды. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота согласно настоящему изобретению не содержит полинуклеотид, кодирующий полипептид цепи альфа-1 (VII) коллагена, полипептид лизилгидроксилазы 3, полипептид 17 кератина цитоскелета типа I, полипептид транслутаминазы (TGM), полипептид филагрина, косметический белок, антитело, полипептид SPINK, полипептид CFTR, полипептид, ассоциированный с ихтиозом, полипептид альфа-1-

антитрипсина, полипептид натрий-зависимого белка-транспортера фосфата 2В, полипептида тяжелой цепи аксонемного динеина 5, полипептида тяжелой цепи аксонемного динеина 11, полипептида белка 39, содержащего суперспиральный домен, полипептида промежуточной цепи аксонемного динеина 1, полипептида 40, содержащего суперспиральный домен, полипептида 103, содержащего суперспиральный домен, полипептида антигена 1, ассоциированного со спермой, полипептида белка 10, содержащего домен MYND цинкового пальца, полипептида белка 4, содержащего повтор Armadillo, полипептида белка 151, содержащего суперспиральный домен, полипептида промежуточной цепи аксонемного динеина 2, полипептида гомолога белка 1 головки радиальных спиц, полипептида 114, содержащего суперспиральный домен, полипептида гомолога А белка 4 головки радиальных спиц, полипептида фактора сборки аксонемного динеина 1, полипептида фактора сборки аксонемного динеина 2, полипептида белка 6, содержащего богатый лейцином повтор, полипептида белка В, ассоциированного с легочным сурфактантом, полипептида белка С, ассоциированного с легочным сурфактантом, полипептида гомеобокс-белка Nkx-2.1, полипептида члена 3 подсемейства А АТФ-связывающих кассет, полипептида общей бета-субъединицы рецептора цитокинов, полипептида субъединицы альфа рецептора гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора, полипептида рецептора костного морфогенетического белка 2 типа, полипептида кальциевой АТФазы 2 саркоплазматического/эндоплазматического ретикулума, полипептида рецептора серин/треонин-протеинкиназы R3, полипептида эндоглина, полипептида SMAD9, полипептида кавеолина-1, полипептида – члена 3 подсемейства К калиевых каналов, полипептида eIF-2-альфа-киназы GCN2, полипептида, ассоциированного с легочным сурфактантом белка А2, полипептида обратной транскриптазы теломеразы, полипептида дискерина, полипептида регулятора удлинения теломер геликазы 1, полипептида поли(А)-специфической рибонуклеазы PARN, полипептида ядерного фактора 2, взаимодействующего с TERF1, полипептида некоровой субъединицы NAF1 рибонуклеопротеидного комплекса H/ACA, полипептида муцина-5В, полипептида десмоплакина, полипептида субъединицы STN1 комплекса CST, полипептида дипептидилпептидазы 9; и/или любых содержащих перечисленные полипептиды химерных полипептидов.

IV. Вирусы

[0159] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к вирусам, содержащим любой из полинуклеотидов и/или рекомбинантных нуклеиновых кислот, описанных в настоящей заявке. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус

способен инфицировать одну или более клеток-мишеней субъекта (*например*, человека). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус подходит для доставки полинуклеотидов и/или рекомбинантных нуклеиновых кислот в одну или более клеток-мишеней субъекта (*например*, человека). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения одна или более клеток-мишеней представляют собой клетки человека. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения одна или более клеток-мишеней представляют собой одну или более эпителиальных клеток дыхательных путей. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения одна или более клеток-мишеней представляют собой одну или более клеток дыхательных путей (*например*, эпителиальные клетки дыхательных путей (такие как бокаловидные клетки, реснитчатые клетки, клетки Клары, нейроэндокринные клетки, базальные клетки, промежуточные или парабазальные клетки, серозные клетки, щеточные клетки, онкоциты, необлученные столбчатые клетки и/или метапластические клетки); альвеолярные клетки (такие как пневмоциты типа 1, пневмоциты типа 2 и/или кубовидные нереснитчатые клетки); клетки слюнных желез в бронхах (такие как серозные клетки, слизистые клетки и/или проточные клетки); и *т.д.*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения одна или более клеток-мишеней представляют собой одну или более клеток легкого.

[0160] Может быть использован любой подходящий вирус, известный в данной области техники, включая, например, аденовирус, аденоассоциированный вирус, ретровирус, лентивирус, вирус Сендай, вирус папилломы, вирус герпеса (*например*, вирус простого герпеса), вирус осповакцины; и/или любые их гибридные или производные вирусы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус аттенуирован. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус является репликативно-компетентным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус является репликативно-дефектным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус не является онколитическим. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус был модифицирован для изменения его тканевого тропизма относительно тканевого тропизма соответствующего немодифицированного вируса дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус обладает пониженной цитотоксичностью (*например*, в клетке-мишени) по сравнению с соответствующим вирусом дикого типа. Способы получения вируса, содержащего рекомбинантные нуклеиновые кислоты, хорошо известны специалисту в данной области техники.

[0161] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус является членом семейства ДНК-вирусов Herpesviridae, включая, например, вирус простого герпеса, вирус ветряной оспы, цитомегаловирус человека, герпесвирус 6А, герпесвирус 6В, герпесвирус 7, вирус Эпштейна-Барра, герпесвирус, ассоциированный с саркомой Капоши, и *т.д.* Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус герпеса аттенуирован. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус герпеса является репликативно-дефектным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус герпеса является репликативно-компетентным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус герпеса сконструирован для снижения или элиминации экспрессии одного или более генов вируса герпеса (*например*, одного или более токсичных генов вируса герпеса). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус герпеса обладает пониженной цитотоксичностью по сравнению с соответствующим вирусом герпеса дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус герпеса не является онколитическим.

[0162] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус представляет собой вирус простого герпеса. Вирусы простого герпеса, содержащие рекомбинантные нуклеиновые кислоты, могут быть получены способом, описанным, например, в US 10,174,341, US 2019/0276845, US 9,877,990, US 10,155,016, US 10,441,614, US 11,185,564, US 2020/0093874, US 10,525,090, US 2020/0197456, US 2021/0261649, US 2021/0395775, US 10,829,529, US 2021/0087245, US 2021/0189427, US 10,786,438, US 2021/0045988 и/или WO2021/046131, все из которых полностью включены в настоящее описание посредством ссылки. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус простого герпеса аттенуирован. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус простого герпеса является репликативно-дефектным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус простого герпеса является репликативно-компетентным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус простого герпеса сконструирован для снижения или элиминации экспрессии одного или более генов вируса простого герпеса (*например*, одного или более токсичных генов вируса простого герпеса). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус простого герпеса обладает пониженной цитотоксичностью по сравнению с соответствующим вирусом простого герпеса дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус простого герпеса не является онколитическим. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус простого герпеса представляет собой ВПГ-1, ВПГ-2 или любые их производные. Согласно некоторым вариантам

реализации изобретения указанный вирус простого герпеса представляет собой вирус ВПГ-1. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный ВПГ-1 аттенуирован. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный ВПГ-1 является репликативно-дефектным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный ВПГ-1 является репликативно-компетентным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный ВПГ-1 сконструирован для снижения или элиминации экспрессии одного или более генов ВПГ-1 (*например*, одного или более токсичных генов ВПГ-1). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный ВПГ-1 обладает пониженной цитотоксичностью по сравнению с соответствующим ВПГ-1 дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный ВПГ-1 не является онколитическим.

[0163] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус простого герпеса модифицирован для изменения его тканевого тропизма относительно тканевого тропизма немодифицированного вируса простого герпеса дикого типа. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус простого герпеса содержит модифицированную оболочку. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная модифицированная оболочка содержит один или более (*например*, один или более, два или более, три или более, четыре или более *и т.д.*) мутантных гликопротеинов вируса простого герпеса. Примеры гликопротеинов вируса простого герпеса могут включать, не ограничиваясь перечисленными, гликопротеины gB, gC, gD, gH и gL. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная модифицированная оболочка изменяет тканевой тропизм вируса простого герпеса по сравнению с вирусом простого герпеса дикого типа.

[0164] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения эффективность трансдукции (*in vitro* и/или *in vivo*) вирусом согласно настоящему изобретению (*например*, вирусом герпеса, таким как вирус простого герпеса) одной или более клеток-мишеней (*например*, одной или более клеток дыхательных путей) составляет по меньшей мере около 25%. Например, эффективность трансдукции вирусом одной или более клеток-мишеней может составлять по меньшей мере приблизительно 25%, по меньшей мере приблизительно 30%, по меньшей мере приблизительно 35%, по меньшей мере приблизительно 40%, по меньшей мере приблизительно 45%, по меньшей мере приблизительно 50%, по меньшей мере приблизительно 55%, по меньшей мере приблизительно 60%, по меньшей мере приблизительно 65%, по меньшей мере приблизительно 70%, по меньшей мере приблизительно 75%, по меньшей мере приблизительно 80%, по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере

приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 99%, по меньшей мере приблизительно 99,5% или более. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус представляет собой вирус простого герпеса, и эффективность трансдукции указанным вирусом одной или более клеток-мишеней (*например*, одной или более клеток дыхательных путей) составляет от около 85% до около 100%. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения вирус представляет собой вирус простого герпеса, и эффективность трансдукции вирусом для одной или более клеток-мишеней (*например*, одной или более клеток дыхательных путей) составляет по меньшей мере приблизительно 85%, по меньшей мере приблизительно 86%, по меньшей мере приблизительно 87%, по меньшей мере приблизительно 88%, по меньшей мере приблизительно 89%, по меньшей мере приблизительно 90%, по меньшей мере приблизительно 91%, по меньшей мере приблизительно 92%, по меньшей мере приблизительно 93%, по меньшей мере приблизительно 94%, по меньшей мере приблизительно 95%, по меньшей мере приблизительно 96%, по меньшей мере приблизительно 97%, по меньшей мере приблизительно 98%, по меньшей мере приблизительно 99% или 100%. Способы измерения эффективности вирусной трансдукции *in vitro* или *in vivo* хорошо известны специалистам в данной области техники, включая, например, кПЦР-анализ, глубокое секвенирование, вестерн-блоттинг, флуориметрический анализ (такой как флуоресцентная гибридизация *in situ* (FISH), экспрессия флуоресцентного репортерного гена, иммунофлуоресценция, FACS) и т. д.

[0165] Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения предложены рекомбинантные вирусы, которые могут быть или могут не быть псевдотипированы, которые продуцируют один или более терапевтических полипептидов для лечения рака, включая солидные опухоли (например, распространенные солидные опухоли) и гематологические злокачественные новообразования. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный рекомбинантный вирус является неонколитическим. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения один или более терапевтических полипептидов, продуцируемых рекомбинантными вирусами, описанными в настоящей заявке, опосредуют или усиливают противоопухолевый эффект, например, путем опосредованного эффекторными клетками лизиса опухолевых клеток. В настоящем описании дополнительно предложены терапевтические композиции, содержащие рекомбинантные вирусы, и способы их применения для лечения солидных опухолей и гематологических злокачественных новообразований.

[0166] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный терапевтический полипептид представляет собой иммуномодулирующий полипептид.

Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный иммуномодулирующий полипептид модулирует активность одного или более типов клеток, таких как регуляторные Т-клетки (Treg), супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC), дендритные клетки, Т-клетки, макрофаги, нейтрофилы и/или NK-клетки.

V. Фармацевтические композиции и составы

[0167] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к фармацевтическим композициям или составам, содержащим любую из рекомбинантных нуклеиновых кислот (*например*, геном рекомбинантного вируса герпеса) и/или вирусов (*например*, вирус герпеса, содержащий рекомбинантный геном), описанных в настоящей заявке (таких как вирус простого герпеса, содержащий геном рекомбинантного вируса простого герпеса), и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество или носитель.

[0168] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция или указанный фармацевтический состав содержит любой один или более из вирусов (*например*, вирусов герпеса), описанных в настоящей заявке. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция или указанный фармацевтический состав содержит от приблизительно 10^4 до приблизительно 10^{12} бляшкообразующих единиц (БОЕ)/мл вируса. Например, указанная фармацевтическая композиция или указанный фармацевтический состав может содержать от приблизительно 10^4 до приблизительно 10^{12} , от приблизительно 10^5 до приблизительно 10^{12} , от приблизительно 10^6 до приблизительно 10^{12} , от приблизительно 10^7 до приблизительно 10^{12} , от приблизительно 10^8 до приблизительно 10^{12} , от приблизительно 10^9 до приблизительно 10^{12} , от приблизительно 10^{10} до приблизительно 10^{12} , от приблизительно 10^{11} до приблизительно 10^{12} , от приблизительно 10^4 до приблизительно 10^{11} , от приблизительно 10^5 до приблизительно 10^{11} , от приблизительно 10^6 до приблизительно 10^{11} , от приблизительно 10^7 до приблизительно 10^{11} , от приблизительно 10^8 до приблизительно 10^{11} , от приблизительно 10^9 до приблизительно 10^{11} , от приблизительно 10^{10} до приблизительно 10^{11} , от приблизительно 10^4 до приблизительно 10^{10} , от приблизительно 10^5 до приблизительно 10^{10} , от приблизительно 10^6 до приблизительно 10^{10} , от приблизительно 10^7 до приблизительно 10^{10} , от приблизительно 10^8 до приблизительно 10^{10} , от приблизительно 10^9 до приблизительно 10^{10} , от приблизительно 10^4 до приблизительно 10^9 , от приблизительно 10^5 до приблизительно 10^9 , от приблизительно 10^6 до приблизительно 10^9 , от приблизительно 10^7 до приблизительно 10^9 , от приблизительно 10^8 до приблизительно 10^9 , от приблизительно 10^4 до приблизительно 10^8 , от приблизительно 10^5 до приблизительно 10^8 , от приблизительно

10^6 до приблизительно 10^8 , от приблизительно 10^7 до приблизительно 10^8 , от приблизительно 10^4 до приблизительно 10^7 , от приблизительно 10^5 до приблизительно 10^7 , от приблизительно 10^6 до приблизительно 10^7 , от приблизительно 10^4 до приблизительно 10^6 , от приблизительно 10^5 до приблизительно 10^6 или от приблизительно 10^4 до приблизительно 10^5 БОЕ/мл вируса. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция или указанный фармацевтический состав содержит примерно 10^4 , примерно 10^5 , примерно 10^6 , примерно 10^7 , примерно 10^8 , примерно 10^9 , примерно 10^{10} , примерно 10^{11} или примерно 10^{12} БОЕ/мл вируса.

[0169] Фармацевтические композиции и составы могут быть получены путем смешивания активного ингредиента(ингредиентов) (такого как рекомбинантная нуклеиновая кислота и/или вирус), имеющего желаемую степень чистоты, с одним или более фармацевтически приемлемыми носителями или вспомогательными веществами. Фармацевтически приемлемые носители или вспомогательные вещества, как правило, нетоксичны для реципиентов в используемых дозировках и концентрациях и могут включать, не ограничиваясь перечисленным: буферы (такие как фосфатный, цитратный, ацетатный, и другие органические кислоты); антиоксиданты (такие как аскорбиновая кислота и метионин); консерванты (такие как октадецилдиметилбензиламмония хлорид, бензалкония хлорид, бензетония хлорид, фенол, бутиловый или бензиловый спирт, алкилпарабены, катехол, резорцин, циклогексанол, 3-пентанол и м-крезол); аминокислоты (такие как глицин, глутамин, аспарагин, гистидин, аргинин или лизин); полипептиды с низкой молекулярной массой (менее чем приблизительно 10 остатков); белки (такие как сывороточный альбумин, желатин или иммуноглобулины); полиолы (такие как глицерин, *например*, составы, содержащие 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15% и т. д. глицерин); гидрофильные полимеры (такие как поливинилпирролидон); моносахариды, дисахариды и другие углеводы (включая глюкозу, маннозу или декстрины); хелатирующие агенты (такие как ЭДТА); сахара (такие как сахароза, маннит, трегалоза или сорбит); солеобразующие противоионы (такие как натрий); комплексы металлов (такие как комплексы Zn с белками); и/или неионогенные поверхностно-активные вещества (такие как полиэтиленгликоль (ПЭГ)). Подробное обсуждение фармацевтически приемлемых носителей можно найти в руководстве REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES (Mack Pub. Co., N.J. 1991).

[0170] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция или указанный фармацевтический состав содержит один или более липидных (*например*, катионных липидных) носителей. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция или указанный

фармацевтический состав содержит один или более носителей на основе наночастиц. Наночастицы представляют собой носители (основу) субмикронного (менее чем приблизительно 1000 нм) размера для доставки лекарственных средств, которые могут нести инкапсулированные лекарственные средства (такие как синтетические малые молекулы, белки, пептиды, клетки, вирусы и биотерапевтические средства на основе нуклеиновых кислот) для быстрого или контролируемого высвобождения. Различные молекулы (например, белки, пептиды, рекомбинантные нуклеиновые кислоты и т. д.) могут быть эффективно инкапсулированы в наночастицах с использованием способов, хорошо известных в данной области техники. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения молекула, «инкапсулированная» в наночастице, может относиться к молекуле (такой как вирус), которая содержится в наночастице или присоединена к поверхности наночастицы и/или связана с ней, или к любой комбинации перечисленного. Наночастицы для применения в композициях или составах, описанных в настоящей заявке, могут представлять собой биосовместимые наночастицы любого типа, известные в данной области техники, включая, например, наночастицы, содержащие поли(молочную кислоту), поли(гликолевую кислоту), PLGA, PLA, PGA и любые их комбинации (см., например, источники: Vauthier *et al.* Adv Drug Del Rev. (2003) 55: 519-48; US 2007/0148074; US 2007/0092575; US 2006/0246139; US 5,753,234; US 7,081,483; и US 2008/0260851, все из которых полностью включены в настоящую заявку посредством ссылки).

[0171] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения фармацевтически приемлемый носитель или фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество может быть адаптирован(о) или может подходить для любого пути введения, известного в данной области техники, включая, например, внутривенное, внутримышечное, подкожное, кожное, пероральное, интраназальное, интратрахеальное, подъязычное, буккальное, местное, чрескожное, внутрикожное, внутрибрюшинное, внутриорбитальное, интравитреальное, субретинальное, трансмукозальное, внутрисуставное, путем имплантации, путем ингаляции, интратекальное, внутрижелудочковое и/или интраназальное введение. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения фармацевтически приемлемый носитель или фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество адаптирован(о) или подходит для перорального, интраназального, интратрахеального и/или ингаляционного введения. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения фармацевтически приемлемый носитель или фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество адаптирован(о) или подходит для интраназального и/или ингаляционного введения. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения фармацевтически приемлемый носитель или фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество адаптирован(о) или подходит для ингаляционного введения.

[0172] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция или указанный фармацевтический состав адаптированы или подходят для любого пути введения, известного в данной области техники, включая, например, внутривенное, внутримышечное, подкожное, кожное, пероральное, интраназальное, интратрахеальное, подъязычное, буккальное, местное, чрескожное, внутрикожное, внутрибрюшинное, интраорбитальное, интравитреальное, субретинальное, трансмукозальное, внутрисуставное, путем имплантации, путем ингаляции, интратрахеальное, внутрижелудочковое или интраназальное введение. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция или указанный фармацевтический состав адаптированы или подходят для перорального, интраназального, интратрахеального и/или ингаляционного введения. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция или указанный фармацевтический состав адаптированы или подходят для интраназального и/или ингаляционного введения. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция или указанный фармацевтический состав адаптированы или подходят для ингаляционного введения.

[0173] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция или указанный фармацевтический состав дополнительно содержит один или более дополнительных компонентов. Примеры дополнительных компонентов могут включать, не ограничиваясь перечисленным, связывающие агенты (*например*, прежелатинизированный кукурузный крахмал, поливинилпирролидон или гидроксипропилметилцеллюлозу *и т. д.*); наполнители (*например*, лактозу и другие сахара, микрокристаллическую целлюлозу, пектин, желатин, сульфат кальция, этилцеллюлозу, полиакрилаты или гидрофосфат кальция *и т. д.*); смазывающие вещества (*например*, стеарат магния, тальк, кремнезем, коллоидный диоксид кремния, стеариновая кислота, стеараты металлов, гидрогенизированные растительные масла, кукурузный крахмал, полиэтиленгликоли, бензоат натрия, ацетат натрия *и т. д.*); разрыхлители (*например*, крахмал, гликолят крахмала натрия *и т. д.*); смачивающие агенты (*например*, лаурилсульфат натрия *и т. д.*); солевые растворы; спирты; полиэтиленгликоли; желатин; лактозу; амилазу; магния стеарат; тальк; кремниевую кислоту; вязкий парафин; гидроксиметилцеллюлозу; поливинилпирролидон; подсластители; ароматизаторы; ароматизаторы; красители; увлажнители; солнцезащитные кремы; антибактериальные агенты; агенты, способные стабилизировать полинуклеотиды или предотвращать их разложение; и т.п. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция или

указанный фармацевтический состав содержит метилцеллюлозный гель (*например, гидроксипропилметилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу и т.д.*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция или указанный фармацевтический состав содержит фосфатный буфер. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция или указанный фармацевтический состав содержит глицерин (*например, приблизительно 1%, приблизительно 2%, приблизительно 3%, приблизительно 4%, приблизительно 5%, приблизительно 6%, приблизительно 7%, приблизительно 8%, приблизительно 9%, приблизительно 10%, приблизительно 11%, приблизительно 12%, приблизительно 13%, приблизительно 14%, приблизительно 15%; и т.д.*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная фармацевтическая композиция или указанный фармацевтический состав содержит фосфатный буфер и глицерин.

[0174] Фармацевтические композиции и составы, применяемые для введения *in vivo*, как правило, являются стерильными. Стерильность может быть легко достигнута, *например, путем фильтрации через мембраны для стерилизующей фильтрации.*

[0175] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любую из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, можно применять для доставки одного или более полинуклеотидов, кодирующих полипептид (*например, иммуномодулирующий полипептид, такой как полипептид ИЛ-2 или ИЛ-12*), в одну или более клеток субъекта (*например, одну или более клеток дыхательных путей субъекта*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект страдает раком. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения рака. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения карциномы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения лимфомы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения бластомы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов,

и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения саркомы. Согласно некоторым вариантам реализации любые из описанных в настоящей заявке рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов могут быть использованы для лечения нейроэндокринной опухоли. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения мезотелиомы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения шванномы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения менингиомы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения аденокарциномы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения меланомы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения лейкоза. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения лимфоидного злокачественного новообразования.

[0176] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любую из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, можно применять для доставки одного или более полинуклеотидов, кодирующих полипептид (*например*, иммуномодулирующий полипептид, такой как полипептид ИЛ-2 или ИЛ-12), в одну или более клеток субъекта (*например*, одну или более клеток дыхательных путей субъекта). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект страдает раком. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть

использованы для лечения лимфомы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения миеломы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения рака шеи. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения рака яичников. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения меланомы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения рака поджелудочной железы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения рака почки. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения рака слюнной железы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения рака кожи (*например*, меланомы, базально-клеточной карциномы, плоскоклеточной карциномы, актинического кератоза, атипичного родимого пятна и/или карциномы из клеток Меркеля). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения рака желудка. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения эпителиального рака вилочковой железы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть

использованы для лечения рака щитовидной железы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения остеосаркомы.

[0177] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любую из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, можно применять для доставки одного или более полинуклеотидов, кодирующих полипептид (*например*, иммуномодулирующий полипептид, такой как полипептид ИЛ-2 или ИЛ-12), в одну или более клеток субъекта (*например*, одну или более клеток дыхательных путей субъекта). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект страдает раком легкого. Рак легкого часто подразделяют на широкие категории мелкоклеточного рака легкого (МРЛ), также называемого овсяноклеточным раком, и немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ). Кроме того, НМРЛ далее подразделяют на три основных типа: плоскоклеточная карцинома (ПКР), аденокарцинома и крупноклеточные карциномы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения мелкоклеточного рака легкого. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения аденокарциномы легкого. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, могут быть использованы для лечения плоскоклеточной карциномы легкого. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения любые из описанных в настоящей заявке рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов и/или фармацевтических композиций или составов могут быть использованы для лечения немелкоклеточного рака легкого.

VI. Способы

[0178] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к способу доставки иммуномодулирующего полипептида в одну или более клеток субъекта (*например*, одну или более клеток дыхательных путей, таких как эпителиальные клетки дыхательных путей (бокаловидные клетки, реснитчатые клетки, клетки Клара, нейроэндокринные клетки, базальные клетки, промежуточные или парабазальные клетки, серозные клетки, клетки щетки,

онкоциты, нереснитчатые столбчатые клетки и/или метапластические клетки); альвеолярные клетки (пневмоциты типа 1, пневмоциты типа 2 и/или кубовидные нереснитчатые клетки); клетки слюнных желез в бронхах (серозные клетки, слизистые клетки и/или протоковые клетки); и т.д.), включающему введение субъекту фармацевтической композиции, содержащей любой из вирусов, описанных в настоящей заявке (*например*, вирус простого герпеса, такой как ВПГ-1), содержащий любую из рекомбинантных нуклеиновых кислот, описанных в настоящей заявке (*например*, геном рекомбинантного вируса простого герпеса, такой как геном ВПГ-1), содержащих один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, и фармацевтически приемлемый носитель. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту местно, чрескожно, подкожно, эпикутанно, внутрикожно, перорально, сублингвально, буккально, ректально, вагинально, внутривенно, внутриартериально, внутримышечно, внутрикостно, внутрисердечно, внутрибрюшинно, трансмукозально, интравитреально, субретинально, внутрисуставно, периартикулярно, внутрь опухоли, локально или путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту перорально, интраназально, интратрахеально или путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту интраназально или путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанную фармацевтическую композицию вводят субъекту путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят с использованием ингалятора сухого порошка, дозирующего ингалятора под давлением, ингалятора, генерирующего мягкий туман, небулайзера или электрогидродинамического аэрозольного устройства. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанные вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят с использованием небулайзера. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения небулайзер представляет собой небулайзер на основе вибрирующего сита. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус герпеса (*например*, вирус простого герпеса) является репликативно-компетентным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус герпеса (*например*, вирус простого герпеса) не является условно репликативно-компетентным. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус герпеса (*например*, вирус простого герпеса) не реплицируется в раковых клетках. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус герпеса (*например*, вирус простого герпеса) является репликативно-дефектным. Согласно

некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус герпеса (*например*, вирус простого герпеса) не является онколитическим.

[0179] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект представляет собой человека. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект страдает раком. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рак выбран из острого миелоидного лейкоза (LAML или ОМЛ), острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), аденокарциномы (АКК), уротелиального рака мочевого пузыря (ВLСA), глиомы ствола головного мозга, низкоккачественной глиомы головного мозга (LGG), опухоли головного мозга, рака молочной железы (BRCA), бронхиальных опухолей, лимфомы Беркитта, рака неизвестной первичной локализации, карциноидной опухоли, карциномы неизвестной первичной локализации, атипичной тератоидной/рабдоидной опухоли центральной нервной системы, эмбриональных опухолей центральной нервной системы, плоскоклеточной карциномы шейки матки, рака эндоцервикальной аденокарциномы (CESC), рака детского возраста, холангиокарциномы (CHOL), хордомы, хронического лимфоцитарного лейкоза, хронического миелоидного лейкоза, хронических миелопролиферативных расстройств, рака толстой кишки (аденокарциномы) (COAD), рака прямой и толстой кишки, краниофарингиомы, кожной Т-клеточной лимфомы, эндокринных островковых опухолей поджелудочной железы, рака эндометрия, эпендимобластомы, эпендимомы, рака пищевода (ESCA), эстеziонейробластомы, саркомы Юинга, экстракраниальной герминоклеточной опухоли, экстрагонадальной герминоклеточной опухоли, внепеченочного рака желчных протоков, рака желчного пузыря, рака желудка, карциноидной опухоли желудочно-кишечного тракта, стромально-клеточной опухоли желудочно-кишечного тракта, стромальной опухоли желудочно-кишечного тракта (GIST), гестационной трофобластной опухоли, мультиформной глиобластомы (GBM), лейкоза ворсистых клеток, рака головы и шеи (HNSD), рака сердца, лимфомы Ходжкина, рака гортани, интраокулярной меланомы, опухолей островковых клеток, саркомы Капоши, рака почки, гистиоцитоза из клеток Лангерганса, рака гортани, рака губы, рака печени, лимфоидного новообразования, диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), злокачественной фиброзной гистиоцитомы кости, медуллобластомы, медуллоэпителиомы, меланомы, карциномы из клеток Меркеля, карциномы кожи из клеток Меркеля, мезотелиомы (MESO), метастатического плоскоклеточного рака шеи с нелокализуемым первичным очагом, рака ротовой полости, синдромов множественной эндокринной неоплазии, множественной миеломы, множественной миеломы/плазмноклеточной опухоли, грибковидного микоза, миелодиспластических синдромов, миелопролиферативных новообразований, рака носовой полости, рака

носоглотки, нейробластомы, неходжкинской лимфомы, немеланомного рака кожи, немелкоклеточного рака легкого, рака полости рта, орофарингеального рака, остеосаркомы, других опухолей головного и спинного мозга, рака яичников, эпителиального рака яичников, герминогенной опухоли яичников, опухоли яичника с низким злокачественным потенциалом, рака поджелудочной железы, папилломатоза, рака околоносовых пазух, рака парашитовидной железы, рака таза, рака полового члена, рака глотки, феохромоцитомы и параганглиомы (PCPG), паренхиматозных опухолей шишковидной железы с промежуточным уровнем дифференцировки, пинеобластомы, опухоли гипофиза, плазмноклеточного новообразования/множественной миеломы, плевропульмональной бластомы, первичной лимфомы центральной нервной системы (ЦНС), первичного гепатоцеллюлярного рака печени, рака предстательной железы, такого как аденокарцинома предстательной железы (PRAD), рака прямой кишки, рака почки, почечно-клеточного рака, рака дыхательных путей, ретинобластомы, рабдомиосаркомы, рака слюнной железы, саркомы (SARC), синдрома Сезари, меланомы кожи (SKCM), мелкоклеточного рака легкого, рака тонкого кишечника, саркомы мягких тканей, плоскоклеточной карциномы, плоскоклеточного рака шеи, рака желудка, супратенториальных примитивных нейроэктодермальных опухолей, Т-клеточной лимфомы, рака яичка, герминогенных опухолей яичка (TGCT), рака горла, карциномы вилочковой железы, тимомы (THYM), рака щитовидной железы (THCA), переходно-клеточного рака, переходно-клеточного рака почечной лоханки и мочеточника, трофобластной опухоли, рака мочеточника, рака уретры, рака матки, увеальной меланомы (UVM), рака влагалища, рака вульвы, макроглобулинемии Вальденстрома и/или опухоли Вильмса. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный рак представляет собой рак, ассоциированный с вирусом. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный рак представляет собой рак, ассоциированный с вирусом папилломы человека (ВПЧ) (*например*, ассоциированный с ВПЧ рак задней стенки горла, шейки матки, ануса, вульвы, полового члена и/или влагалища). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный рак не представляет собой рак кожи (*например*, меланому, базально-клеточную карциному, плоскоклеточную карциному, актинический кератоз, атипичное родимое пятно и/или карциному из клеток Меркеля). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный рак не представляет собой меланому. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект страдает одним или более из: карциномы, лимфомы, бластомы, саркомы, нейроэндокринной опухоли, мезотелиомы, шванномы, менингиомы, аденокарциномы, меланомы, лейкоза и лимфоидного злокачественного новообразования. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект страдает одним или более

из: солидной опухоли, ракового заболевания системы крови, рака мочевого пузыря, рака мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака желудка, глиомы, рака головы, лейкоза, рака печени, рака легких, лимфомы, миеломы, рака шеи, рака яичника, меланомы, рака поджелудочной железы, рака почки, рака слюны, рака кожи, рака желудка, эпителиального рака вилочковой железы и рака щитовидной железы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект страдает одним или более из мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, аденокарциномы легкого или плоскоклеточной карциномы легкого. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект страдает остеосаркомой.

[0180] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения введение субъекту рекомбинантной нуклеиновой кислоты, вируса, лекарственного средства и/или фармацевтической композиции или состава повышает уровни иммуномодулирующего полипептида (уровни транскрипта или белка) по меньшей мере приблизительно в 2 раза в одной или более приведенных в контакт или обработанных клетках субъекта по сравнению с эндогенными уровнями полипептида в одной или более соответствующих необработанных клетках у субъекта. Например, введение рекомбинантной нуклеиновой кислоты, вируса, лекарственного средства и/или фармацевтической композиции или состава может увеличивать уровни иммуномодулирующего полипептида (уровни транскрипта или белка) по меньшей мере приблизительно в 2 раза, по меньшей мере приблизительно в 3 раза, по меньшей мере приблизительно в 4 раза, по меньшей мере приблизительно в 5 раз, по меньшей мере приблизительно в 6 раз, по меньшей мере приблизительно в 7 раз, по меньшей мере приблизительно в 8 раз, по меньшей мере приблизительно в 9 раз, по меньшей мере приблизительно в 10 раз, по меньшей мере приблизительно в 15 раз, по меньшей мере приблизительно в 20 раз, по меньшей мере приблизительно в 25 раз, по меньшей мере приблизительно в 50 раз, по меньшей мере приблизительно в 75 раз, по меньшей мере приблизительно в 100 раз, по меньшей мере приблизительно в 250 раз, по меньшей мере приблизительно в 500 раз, по меньшей мере приблизительно в 750 раз, по меньшей мере приблизительно в 1000 раз или более в одной или более приведенных в контакт или обработанных клетках субъекта по сравнению с эндогенными уровнями полипептида в одной или более соответствующих необработанных клетках субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения одна или более контактирующих или обработанных клеток представляют собой одну или более клеток дыхательных путей (*например*, одну или более клеток эпителия дыхательных путей). Способы измерения уровней транскрипта или

белка в образце хорошо известны специалистам в данной области техники, включая, например, кПЦР, вестерн-блоттинг, масс-спектрометрию и т. д.

[0181] Другие аспекты настоящего изобретения относятся к способу обеспечения профилактического, паллиативного или терапевтического облегчения одного или более признаков или симптомов рака у субъекта, нуждающегося в этом, включающему введение субъекту эффективного количества любой из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, лекарственных средств и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект представляет собой человека. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект страдает раком. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рак выбран из острого миелоидного лейкоза (LAML или ОМЛ), острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ), аденокарциномы (АКК), уротелиального рака мочевого пузыря (BLCA), глиомы ствола головного мозга, низкоклеточной глиомы головного мозга (LGG), опухоли головного мозга, рака молочной железы (BRCA), бронхиальных опухолей, лимфомы Беркитта, рака неизвестной первичной локализации, карциноидной опухоли, карциномы неизвестной первичной локализации, атипичной тератоидной/рабдоидной опухоли центральной нервной системы, эмбриональных опухолей центральной нервной системы, плоскоклеточной карциномы шейки матки, рака эндоцервикальной аденокарциномы (CESC), рака детского возраста, холангиокарциномы (CHOL), хордомы, хронического лимфоцитарного лейкоза, хронического миелогенного лейкоза, хронических миелопролиферативных расстройств, рака толстой кишки (аденокарциномы) (COAD), рака прямой и толстой кишки, краниофарингиомы, кожной Т-клеточной лимфомы, эндокринных островковых опухолей поджелудочной железы, рака эндометрия, эпендимобластомы, эпендимомы, рака пищевода (ESCA), эстезионеробластомы, саркомы Юинга, экстракраниальной герминоклеточной опухоли, экстрагонадальной герминоклеточной опухоли, внепеченочного рака желчных протоков, рака желчного пузыря, рака желудка, карциноидной опухоли желудочно-кишечного тракта, стромально-клеточной опухоли желудочно-кишечного тракта, стромальной опухоли желудочно-кишечного тракта (GIST), гестационной трофобластной опухоли, мультиформной глиобластомы (GBM), лейкоза ворсистых клеток, рака головы и шеи (HNSD), рака сердца, лимфомы Ходжкина, рака гортани, интраокулярной меланомы, опухолей островковых клеток, саркомы Капоши, рака почки, гистиоцитоза из клеток Лангерганса, рака гортани, рака губы, рака печени, лимфоидного новообразования, диффузной В-крупноклеточной лимфомы (DLBCL), злокачественной фиброзной гистиоцитомы кости, медуллобластомы, медуллоэпителиомы, меланомы, карциномы из клеток Меркеля, карциномы кожи из клеток

Меркеля, мезотелиомы (MESO), метастатического плоскоклеточного рака шеи с нелокализуемым первичным очагом, рака ротовой полости, синдромов множественной эндокринной неоплазии, множественной миеломы, множественной миеломы/плазмноклеточной опухоли, грибовидного микоза, миелодиспластических синдромов, миелопролиферативных новообразований, рака носовой полости, рака носоглотки, нейробластомы, неходжкинской лимфомы, немеланомного рака кожи, немелкоклеточного рака легкого, рака полости рта, орофарингеального рака, остеосаркомы, других опухолей головного и спинного мозга, рака яичников, эпителиального рака яичников, герминогенной опухоли яичников, опухоли яичника с низким злокачественным потенциалом, рака поджелудочной железы, папилломатоза, рака околоносовых пазух, рака парашитовидной железы, рака таза, рака полового члена, рака глотки, феохромоцитомы и параганглиомы (PCPG), паренхиматозных опухолей шишковидной железы с промежуточным уровнем дифференцировки, пинеобластомы, опухоли гипофиза, плазмноклеточного новообразования/множественной миеломы, плевропальмональной бластомы, первичной лимфомы центральной нервной системы (ЦНС), первичного гепатоцеллюлярного рака печени, рака предстательной железы, такого как аденокарциномы предстательной железы (PRAD), рака прямой кишки, рака почки, почечно-клеточного рака, рака дыхательных путей, ретинобластомы, рабдомиосаркомы, рака слюнной железы, саркомы (SARC), синдрома Сезари, меланомы кожи (SKCM), мелкоклеточного рака легкого, рака тонкого кишечника, саркомы мягких тканей, плоскоклеточной карциномы, плоскоклеточного рака шеи, рака желудка, супратенториальных примитивных нейроэктодермальных опухолей, Т-клеточной лимфомы, рака яичка, герминогенных опухолей яичка (TGCT), рака горла, карциномы вилочковой железы, тимомы (THYM), рака щитовидной железы (THCA), переходно-клеточного рака, переходно-клеточного рака почечной лоханки и мочеточника, трофобластной опухоли, рака мочеточника, рака уретры, рака матки, увеальной меланомы (UVM), рака влагалища, рака вульвы, макроглобулинемии Вальденстрема и/или опухоли Вильмса. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный рак представляет собой рак, ассоциированный с вирусом. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный рак представляет собой рак, ассоциированный с вирусом папилломы человека (ВПЧ) (например, ассоциированный с ВПЧ рак задней стенки горла, шейки матки, ануса, вульвы, полового члена и/или влагалища). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный рак не представляет собой рак кожи (например, меланому, базально-клеточную карциному, плоскоклеточную карциному, актинический кератоз, атипичное родимое пятно и/или карциному из клеток Меркеля). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения

указанный рак не представляет собой меланому. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект страдает одним или более из: карциномы, лимфомы, бластомы, саркомы, нейроэндокринной опухоли, мезотелиомы, шванномы, менингиомы, аденокарциномы, меланомы, лейкоза и лимфоидного злокачественного новообразования. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект страдает одним или более из: солидной опухоли, ракового заболевания системы крови, рака мочевого пузыря, рака мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака желудка, глиомы, рака головы, лейкоза, рака печени, рака легких, лимфомы, миеломы, рака шеи, рака яичника, меланомы, рака поджелудочной железы, рака почки, рака слюны, рака желудка, рака эпителия вилочковой железы и рака щитовидной железы. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект страдает одним или более из мелкоклеточного рака легкого, немелкоклеточного рака легкого, аденокарциномы легкого или плоскоклеточной карциномы легкого. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения субъект страдает остеосаркомой.

[0182] Рекомбинантные нуклеиновые кислоты, вирусы, лекарственные средства и/или фармацевтические композиции или составы, описанные в настоящей заявке, можно вводить любым подходящим способом или способом, известным в данной области техники, в том числе, без ограничения, перорально, интраназально, интратрахеально, сублингвально, буккально, местно, ректально, посредством ингаляции, чрескожно, подкожно, внутривожно, внутривенно, внутривенно, внутриартериально, внутримышечно, внутрисердечно, внутрикостно, внутрибрюшинно, трансмукозально, вагинально, интравитреально, внутриорбитально, субретинально, внутрисуставно, периартикулярно, локально, эпикутанно; или с применением любых комбинаций перечисленного. Таким образом, настоящее изобретение охватывает способы доставки любой из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, лекарственных средств или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке, индивидууму (*например, индивидууму, страдающему раком*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантные нуклеиновые кислоты, вирусы, лекарственные средства и/или фармацевтические композиции или составы, описанные в настоящей заявке, вводят перорально, интраназально, интратрахеально и/или путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантные нуклеиновые кислоты, вирусы, лекарственные средства и/или фармацевтические композиции или составы, описанные в настоящей заявке, вводят интраназально или путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантные нуклеиновые кислоты, вирусы, лекарственные средства и/или фармацевтические композиции или составы,

описанные в настоящей заявке, вводят путем ингаляции. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантные нуклеиновые кислоты, вирусы, лекарственные средства и/или фармацевтические композиции или составы, описанные в настоящей заявке, вводят с использованием ингалятора с сухим порошком, дозирующего ингалятора под давлением, ингалятора, генерирующего мягкий туман, небулайзера или электрогидродинамического аэрозольного устройства. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантные нуклеиновые кислоты, вирусы, лекарственные средства и/или фармацевтические композиции или составы, описанные в настоящей заявке, вводят с использованием небулайзера. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения небулайзер представляет собой небулайзер на основе вибрирующего сита.

[0183] Способы доставки лекарственных средств в дыхательные пути и/или легкие пероральным, интраназальным, интратрахеальным и/или ингаляционным путями введения, как правило, известны специалистам в данной области техники (*см., например, Gardenhire et al. A Guide to Aerosol Delivery Devices for Respiratory Therapists, 4th Edition, American Association for Respiratory care, 2017; Patil et al. Pulmonary Drug Delivery Strategies: A Concise, Systematic Review, Lung India. 2012. 29(1): 44-9; Marx et al. Intranasal Drug Administration – An Attractive Delivery Route for Some Drugs, 2015*).

[0184] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантные нуклеиновые кислоты, вирусы, лекарственные средства и/или композиции или составы доставляют в легкие путем ингаляции аэрозольного состава. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантные нуклеиновые кислоты, вирусы, лекарственные средства и/или композиции или составы доставляют в легкие путем ингаляции аэрозольного состава после резекции опухоли легкого. Ингаляция может происходить через нос и/или рот субъекта. Примеры устройств для доставки рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, лекарственных средств и/или фармацевтических композиций или составов в легкие могут включать, без ограничения, ингаляторы сухого порошка, дозирующие ингаляторы под давлением, ингаляторы, генерирующие мягкий туман, небулайзеры (*например, струйные небулайзеры, ультразвуковые небулайзеры, небулайзеры на основе вибрирующего сита*), с соударением струй, экструзией струй, распылением на основе микрожидкостных поверхностных волн, капиллярной генерацией аэрозоля; электрогидродинамические аэрозольные устройства и *т. д.* (*см., например, Carvalho and McConville. The function and performance of aqueous devices for inhalation therapy. (2016) Journal of Pharmacy and Pharmacology*).

[0185] Жидкие составы могут быть введены в легкие субъекта, *например*, с использованием дозирующего ингалятора под давлением (pMDI). pMDI обычно содержат по меньшей мере два компонента: баллон, в котором жидкий состав удерживается под давлением в комбинации с одним или более пропеллентами, и приемное устройство, используемое для удержания и приведения в действие баллона. Баллон может содержать одну дозу или несколько доз препарата. Баллон может содержать клапан, как правило, дозирующий клапан, из которого может выходить содержимое баллона. Аэрозолированное лекарственное средство поступает из pMDI при прикладывании силы к баллону для проталкивания содержимого в приемное устройство, в результате чего открывается клапан и происходит перемещение частиц лекарственного средства из клапана через выпускное отверстие приемного устройства. После выхода из баллона происходит распыление жидкого состава с образованием аэрозоля. В pMDI обычно используют один или более пропеллентов для повышения давления содержимого баллона и выталкивания жидкого состава из выпускного отверстия приемного устройства с образованием аэрозоля. Могут быть использованы любые подходящие пропелленты, которые могут принимать различные формы, включая, например, сжатый газ или сжиженный газ.

[0186] Жидкие составы могут быть введены в легкие субъекта, *например*, с использованием небулайзера. Небулайзеры представляют собой генераторы жидкого аэрозоля, которые преобразуют жидкий состав в туман или облака из мелких капель, часто имеющих массовый медианный аэродинамический диаметр менее чем приблизительно 5 мкм, которые могут при вдыхании попадать в нижние дыхательные пути. Эти капли переносят активный агент (агенты) в нос, верхние дыхательные пути и/или глубокие области легких при вдыхании аэрозольного облака. Любой тип небулайзера, известный в данной области техники, может быть использован для введения состава пациенту, включая, без ограничения, пневматические (струйные) небулайзеры, электромеханические небулайзеры (*например*, ультразвуковые небулайзеры, небулайзеры на основе вибрирующего сита) и т.д. Пневматические (струйные) небулайзеры используют подачу газа под давлением в качестве движущей силы для распыления жидкого состава. Сжатый газ подается через сопло или форсунку для создания поля низкого давления, которое захватывает окружающий жидкий состав и разрезает его на тонкие пленки или нити. Пленка или нити нестабильны и распадаются на мелкие капли, которые переносятся потоком сжатого газа во вдыхаемый объем. Перегородки, размещенные на пути шлейфа капель, отсеивают более крупные капли и возвращают их в общий резервуар для жидкости. Электромеханические небулайзеры используют генерируемую электрическим способом механическую силу для распыления

жидких составов. Электромеханическая движущая сила может быть применена, например, путем вибрации жидкого состава на ультразвуковых частотах или путем пропускания объема жидкости через небольшие отверстия в тонкой пленке. Описанные силы генерируют тонкие жидкие пленки или потоки нитей, которые распадаются на мелкие капли с образованием медленно движущегося аэрозольного потока, который может увлекаться потоком на вдохе. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения небулайзер представляет собой небулайзер на основе вибрирующего сита. Примеры небулайзеров на основе вибрирующих сит включают, например, Phillips InnoSpire, Aerogen Solo, PARI eFlow и т. д.

[0187] Жидкие составы могут быть введены в легкие субъекта, например, с использованием электрогидродинамического (EHD) аэрозольного устройства. Аэрозольные EHD-устройства используют электрическую энергию для аэрозолирования жидких лекарственных растворов или суспензий.

[0188] Составы в форме сухого порошка можно вводить в легкие субъекта, например, с использованием ингалятора сухого порошка (DPI). DPI обычно используют такой механизм, как выделение газа, для создания облака сухого порошка внутри контейнера, которое затем может вдохнуть субъект. В DPI доза, подлежащая введению, хранится в форме сухого порошка не под давлением, и при приведении в действие ингалятора частицы порошка вдыхаются субъектом. В некоторых случаях для дозирования порошка может быть использован сжатый газ, аналогично рMDI. В некоторых случаях DPI может приводиться в действие дыханием (генерация аэрозоля происходит точно в ответ на вдох). Как правило, ингаляторы сухого порошка обеспечивают доставку дозы, составляющей менее нескольких десятков миллиграммов на каждую ингаляцию, чтобы избежать провоцирования кашля. Примеры DPI включают, например, ингалятор Turbohaler® (AstraZeneca), ингалятор Clickhaler® (Innovata), ингалятор Diskus® (Glaxo), EasyHaler® (Orion), ингалятор Exubera® (Pfizer) и т. д.

[0189] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантные нуклеиновые кислоты, вирусы, лекарственные средства и/или фармацевтические композиции или составы вводят субъекту один раз. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанным субъекту вводят рекомбинантные нуклеиновые кислоты, вирусы, лекарственные средства и/или фармацевтические композиции по меньшей мере дважды (например, по меньшей мере 2 раза, по меньшей мере 3 раза, по меньшей мере 4 раза, по меньшей мере 5 раз, по меньшей мере 10 раз и т. д.). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения между введениями проходит по меньшей мере приблизительно 1 час (например, по меньшей мере приблизительно 1 час, по меньшей мере приблизительно 6 часов, по меньшей мере приблизительно 12 часов, по меньшей мере приблизительно 18

часов, по меньшей мере приблизительно 1 день, по меньшей мере приблизительно 2 дня, по меньшей мере приблизительно 3 дня, по меньшей мере приблизительно 4 дня, по меньшей мере приблизительно 5 дней, по меньшей мере приблизительно 6 дней, по меньшей мере приблизительно 7 дней, по меньшей мере приблизительно 15 дней, по меньшей мере приблизительно 20 дней, по меньшей мере приблизительно 30 дней, по меньшей мере приблизительно 40 дней, по меньшей мере приблизительно 50 дней, по меньшей мере приблизительно 60 дней, по меньшей мере приблизительно 70 дней, по меньшей мере приблизительно 80 дней, по меньшей мере приблизительно 90 дней, по меньшей мере приблизительно 100 дней, по меньшей мере приблизительно 120 дней и *т.д.*) (*например*, между первым и вторым введениями, между вторым и третьим введениями и *т.д.*). Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантные нуклеиновые кислоты, вирусы, лекарственные средства и/или фармацевтические композиции или составы вводят субъекту один, два, три, четыре, пять или более раз в сутки. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантные нуклеиновые кислоты, вирусы, лекарственные средства и/или фармацевтические композиции или составы вводят субъекту один, два, три, четыре, пять или более раз в месяц.

VII. Клетки-хозяева

[0190] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к одной или более клеткам-хозяевам, содержащим любую из рекомбинантных нуклеиновых кислот, описанных в настоящей заявке. Может быть использована любую подходящую клетку-хозяина (прокариотическую или эукариотическую), известную в данной области техники, включая, например: прокариотические клетки, включая эубактерии, такие как грамотрицательные или грамположительные организмы, например, Enterobacteriaceae, такие как *Escherichia* (*например, E. coli*), *Enterobacter*, *Erminia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella* (*например, S. typhimurium*), *Serratia* (*например, S. marcescans*) и *Shigella*, а также бациллы, такие как *B. subtilis* и *B. licheniformis*; клетки грибов (*например, S. cerevisiae*); клетки насекомых (*например, клетки S2 и т. д.*); и клетки млекопитающих, включая линию CV1 почки обезьяны, трансформированную SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651), линию эмбриональной почки человека (клетки 293 или 293, субклонированные для роста в суспензионной культуре), клетки почки детеныша хомяка (ВНК, ATCC CCL 10), клетки Сертоли мыши (ТМ4), клетки почки обезьяны (CV1 ATCC CCL 70), клетки почки африканской зеленой обезьяны (VERO-76, ATCC CRL-1587), клетки карциномы шейки матки человека (HELA, ATCC CCL 2), клетки почки собаки (MDCK, ATCC CCL 34), клетки печени крысы линии Buffalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442), клетки легкого человека

(W138, ATCC CCL 75), клетки печени человека (Hep G2, HB 8065), опухоли молочной железы мыши (MMT 060562, ATCC CCL51), клетки TRI, клетки MRC5, клетки FS4, клетки линии гепатомы человека (Hep G2), клетки яичника китайского хомячка (CHO), в том числе клетки DHFR^r CHO, и линии клеток миеломы, такие как NS0 и Sp2/2. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения клетка-хозяин представляет собой клетку человека или примата, не являющегося человеком. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения клетки-хозяева представляют собой клетки клеточной линии. Примеры подходящих клеток-хозяев или клеточных линий могут включать, не ограничиваясь перечисленным, 293, HeLa, SH-Sy5y, Hep G2, CACO-2, A549, L929, 3T3, K562, CHO-K1, MDCK, HUVEC, Vero, N20, COS-7, PSN1, VCaP, клетки CHO и т.п.

[0191] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота представляет собой вектор на основе вируса простого герпеса. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота представляет собой ампликон вируса простого герпеса. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения рекомбинантная нуклеиновая кислота представляет собой ампликон ВПГ-1 или гибридный ампликон ВПГ-1. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения клетку-хозяина, содержащую хелперный вирус, приводят в контакт с ампликоном ВПГ-1 или гибридным ампликоном ВПГ-1, описанным в настоящей заявке, с получением вируса, содержащего одну или более рекомбинантных нуклеиновых кислот, описанных в настоящей заявке. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус собирают из супернатанта приведенной в контакт клетки-хозяина. Способы получения вируса путем контактирования клеток-хозяев, содержащих хелперный вирус, с ампликоном ВПГ-1 или гибридным ампликоном ВПГ-1, известны в данной области техники.

[0192] Согласно некоторым вариантам реализации изобретения клетка-хозяин представляет собой дополняющую клетку-хозяина. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанная дополняющая клетка-хозяин экспрессирует один или более генов, инактивированных в любом из вирусных векторов, описанных в настоящей заявке. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения дополняющую клетку-хозяина приводят в контакт с геномом рекомбинантного вируса герпеса (*например*, геномом рекомбинантного вируса простого герпеса), описанным в настоящей заявке. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения приведение в контакт дополняющей клетки-хозяина с геномом рекомбинантного вируса герпеса приводит к продуцированию вируса герпеса, содержащего одну или более рекомбинантных нуклеиновых кислот, описанных в настоящей заявке. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения указанный вирус

собирают из супернатанта приведенной в контакт клетки-хозяина. Способы получения вируса путем приведения в контакт дополняющих клеток-хозяев с рекомбинантным вирусом простого герпеса, в целом, описаны в US 10,174,341, US 2019/0276845, US 9,877,990, US 10155016, US 10,441,614, US 11,185,564, US 2020/0093874, US 10,525,090, US 2020/0197456, US 2021/0261649, US 2021/0395775, US 10,829,529, US 2021/0087245, US 2021/0189427, US 10,786,438, US 2021/0045988 и/или WO2021/046131, все из которых полностью включены в настоящую заявку посредством ссылки.

VIII. Готовые изделия или наборы

[0193] Некоторые аспекты настоящего изобретения относятся к готовому изделию или набору, содержащему любую из рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, лекарственных средств и/или фармацевтических композиций или составов, описанных в настоящей заявке. Согласно некоторым вариантам реализации изобретения готовое изделие или набор содержит листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению рекомбинантной нуклеиновой кислоты, вируса, лекарственного средства и/или фармацевтической композиции или состава.

[0194] Подходящие контейнеры для рекомбинантных нуклеиновых кислот, вирусов, лекарственных средств и/или фармацевтических композиций или составов могут включать, например, бутылки, флаконы, пакеты, пробирки и шприцы. Контейнер может быть изготовлен из множества материалов, таких как стекло, пластик (такой как поливинилхлорид или полиолефин) или металлический сплав (такой как нержавеющая сталь или хастеллой). Согласно некоторым вариантам реализации контейнер содержит этикетку, расположенную на контейнере или связанную с контейнером, причем указанная этикетка содержит указания по применению. Готовое изделие или набор могут дополнительно включать другие материалы, желательные с коммерческой и пользовательской точки зрения, в том числе другие буферы, разбавители, фильтры, ингаляторы, небулайзеры, устройства для интраназального введения, вкладыш в упаковку и т. п.

IX. Пронумерованные варианты реализации изобретения

[0195] Вариант реализации 1: геном рекомбинантного вируса герпеса, содержащий один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид.

[0196] Вариант реализации 2: геном рекомбинантного вируса герпеса согласно варианту реализации 1, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса герпеса является репликативно-компетентным.

[0197] Вариант реализации 3: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1 или 2, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса герпеса является дефектным по репликации.

[0198] Вариант реализации 4: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–3, причем геном рекомбинантного вируса герпеса выбран из группы, состоящей из генома рекомбинантного вируса простого герпеса, генома рекомбинантного вируса ветряной оспы, генома рекомбинантного цитомегаловируса человека, генома рекомбинантного вируса герпеса 6А, генома рекомбинантного вируса герпеса 6В, генома рекомбинантного вируса герпеса 7, генома рекомбинантного вируса Эпштейна-Барр, генома рекомбинантного вируса герпеса, ассоциированного с саркомой Капоши, и любых их производных.

[0199] Вариант реализации 5: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–4, где геном рекомбинантного вируса герпеса представляет собой геном рекомбинантного вируса простого герпеса.

[0200] Вариант реализации 6: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–5, при этом геном рекомбинантного вируса простого герпеса представляет собой геном рекомбинантного вируса простого герпеса типа 1 (ВПГ-1), геном рекомбинантного вируса простого герпеса типа 2 (ВПГ-2) или любые его производные.

[0201] Вариант реализации 7: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–6, при этом геном рекомбинантного вируса простого герпеса представляет собой геном рекомбинантного вируса простого герпеса типа 1 (ВПГ-1).

[0202] Вариант реализации изобретения 8: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации изобретения 1–7, при этом геном рекомбинантного вируса простого герпеса представляет собой геном рекомбинантного вируса простого герпеса типа 2 (ВПГ-2).

[0203] Вариант реализации 9: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–8, при этом геном рекомбинантного вируса простого герпеса был сконструирован для снижения или элиминации экспрессии одного или более токсичных генов вируса простого герпеса.

[0204] Вариант реализации 10: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–9, при этом геном рекомбинантного вируса простого герпеса сконструирован для снижения и элиминации экспрессии одного или более токсичных генов вируса простого герпеса.

- [0205]** Вариант реализации 11: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–10, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию.
- [0206]** Вариант реализации 12: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–11, причем в гене вируса простого герпеса находится инактивирующая мутация.
- [0207]** Вариант реализации 13: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–12, при этом инактивирующая мутация представляет собой делецию кодирующей последовательности гена вируса простого герпеса.
- [0208]** Вариант реализации 14: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–13, при этом ген вируса простого герпеса выбран из группы, состоящей из белка инфицированных клеток (ICP) 0, ICP4, ICP22, ICP27, ICP47, тимидинкиназы (tk), длиной уникальной области (UL) 41 и UL55.
- [0209]** Вариант реализации 15: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–14, при этом указанный ген вируса простого герпеса представляет собой ICP4.
- [0210]** Вариант реализации 16: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–15, при этом указанный ген вируса простого герпеса представляет собой ICP22.
- [0211]** Вариант реализации 17: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–16, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в одной или обеих копиях гена ICP4.
- [0212]** Вариант реализации 18: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–17, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в одной или обеих копиях гена ICP4.
- [0213]** Вариант реализации 19: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–18, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене UL41.
- [0214]** Вариант реализации 20: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–19, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в одной или обеих копиях гена ICP0.
- [0215]** Вариант реализации 21: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–20, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в одной копии гена ICP0.

- [0216]** Вариант реализации 22: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–21: при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в обеих копиях гена ICP0.
- [0217]** Вариант реализации 23: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–22, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене ICP27.
- [0218]** Вариант реализации 24: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–23, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене UL55.
- [0219]** Вариант реализации 25: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–24, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса не содержит инактивирующей мутации в гене ICP47.
- [0220]** Вариант реализации 26: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–25, при этом указанный рекомбинантный вирус простого герпеса не содержит инактивирующей мутации в одной или обеих копиях гена ICP34.5.
- [0221]** Вариант реализации 27: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–26, при этом указанный рекомбинантный вирус простого герпеса не содержит инактивирующей мутации в одной копии гена ICP34.5.
- [0222]** Вариант реализации 28: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–27, при этом указанный рекомбинантный вирус простого герпеса не содержит инактивирующей мутации в обеих копиях гена ICP34.5.
- [0223]** Вариант реализации 29: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–28, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса включает один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в одном или обоих локусах вирусного гена ICP4.
- [0224]** Вариант реализации 30: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–29, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в одном из локусов вирусного гена ICP4.
- [0225]** Вариант реализации 31: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–30, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в обоих локусах вирусного гена ICP4.

[0226] Вариант реализации 32: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–31: при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в локусе вирусного гена ICP22.

[0227] Вариант реализации 33: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–32, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в локусе вирусного гена UL41.

[0228] Вариант реализации 34: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–33, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса включает один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в одном или обоих локусах вирусного гена ICP0.

[0229] Вариант реализации 35: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–34, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в одном из локусов вирусного гена ICP0.

[0230] Вариант реализации 36: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–35, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в обоих локусах вирусного гена ICP0.

[0231] Вариант реализации 37: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–36, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в локусе вирусного гена ICP27.

[0232] Вариант реализации 38: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–37, при этом указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в локусе вирусного гена UL55.

[0233] Вариант реализации 39: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–38, при этом указанный иммуномодулирующий полипептид представляет собой иммуномодулирующий полипептид человека.

[0234] Вариант реализации 40: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–39, при этом указанный иммуномодулирующий полипептид представляет собой цитокин или хемокин.

- [0235]** Вариант реализации 41: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–40, при этом указанный цитокин представляет собой провоспалительный цитокин.
- [0236]** Вариант реализации 42: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–42, при этом указанный цитокин выбран из группы, состоящей из интерлейкина (ИЛ)-1, ИЛ-2, ИЛ-7, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-28, ИЛ-32, ИЛ-33, ИЛ-34, фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерферона гамма (ИФН- γ), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ).
- [0237]** Вариант реализации 43: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–42, при этом указанный цитокин представляет собой ИЛ-2.
- [0238]** Вариант реализации 44: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–43, при этом указанный цитокин представляет собой ИЛ-12.
- [0239]** Вариант реализации 45: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–44, при этом указанный цитокин представляет собой Г-КСФ.
- [0240]** Вариант реализации 46: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–45, при этом указанный цитокин представляет собой ГМ-КСФ.
- [0241]** Вариант реализации 47: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–46, при этом указанный цитокин не является ГМ-КСФ.
- [0242]** Вариант реализации изобретения 48: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации изобретения 1–47, отличающийся тем, что ИЛ-2 содержит последовательность, имеющую 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 100% идентичность последовательности аминокислот SEQ ID NO: 3.
- [0243]** Вариант реализации изобретения 49: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации изобретения 1–48, отличающийся тем, что ИЛ-12 содержит последовательность, имеющую 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 100% идентичность последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 5, SEQ ID NO: 6 и SEQ ID NO: 85.

[0244] Вариант реализации изобретения 50: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации изобретения 1–49, при этом указанный хемокин представляет собой провоспалительный хемокин.

[0245] Вариант реализации 51: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–50, при этом указанный хемокин выбран из группы, состоящей из хемокинового лиганда (с C-X-C-мотивом) 1 (CXCL1), CXCL2, CXCL8, CXCL9, CXCL11, CXCL16, хемокинового лиганда с C-C-мотивом 2 (CCL2), CCL3, CCL4, CCL5 и CCL11.

[0246] Вариант реализации 52: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–51, отличающийся тем, что иммуномодулирующий полипептид содержит последовательность, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентичную последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1–30.

[0247] Вариант реализации 53: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–52, отличающийся тем, что иммуномодулирующий полипептид содержит последовательность, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентичную последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1–19.

[0248] Вариант реализации 54: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–53, отличающийся тем, что иммуномодулирующий полипептид содержит последовательность, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентичную последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 20–30.

[0249] Вариант реализации 55: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–54, при этом указанный геном рекомбинантного вируса герпеса

обладает пониженной цитотоксичностью при введении в клетку-мишень по сравнению с соответствующим геномом вируса герпеса дикого типа.

[0250] Вариант реализации 56: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–55, при этом клетка-мишень представляет собой клетку человека.

[0251] Вариант реализации 57: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–56, при этом клетка-мишень представляет собой клетку дыхательных путей.

[0252] Вариант реализации 58: геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–57, при этом клетка-мишень представляет собой эпителиальную клетку дыхательных путей.

[0253] Вариант реализации 59: вирус герпеса, содержащий геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–58.

[0254] Вариант реализации 60: вирус герпеса по варианту реализации 59, при этом указанный вирус герпеса является репликативно-компетентным.

[0255] Вариант реализации 61: вирус герпеса согласно варианту реализации 59 или 60, при этом указанный вирус герпеса является репликативно-дефектным.

[0256] Вариант реализации 62: вирус герпеса по любому из вариантов реализации 59–61, при этом указанный вирус герпеса не является онколитическим.

[0257] Вариант реализации 63: вирус герпеса по любому из вариантов реализации 59–62, характеризующийся пониженной цитотоксичностью по сравнению с соответствующим вирусом герпеса дикого типа.

[0258] Вариант реализации 64: вирус герпеса по любому из вариантов реализации 59–63, при этом указанный вирус герпеса выбран из группы, состоящей из вируса простого герпеса, вируса ветряной оспы, цитомегаловируса человека, вируса герпеса 6А, вируса герпеса 6В, вируса герпеса 7, вируса Эпштейна-Барра и вируса герпеса, ассоциированного с саркомой Капоши.

[0259] Вариант реализации 65: вирус герпеса по любому из вариантов реализации 59–64, при этом указанный вирус герпеса представляет собой вирус простого герпеса.

[0260] Вариант реализации 66: вирус герпеса по любому из вариантов реализации 59–65, при этом указанный вирус простого герпеса представляет собой вирус простого герпеса типа 1 (ВПГ-1), вирус простого герпеса типа 2 (ВПГ-2) или любые их производные.

[0261] Вариант реализации 67: вирус герпеса по любому из вариантов реализации 59–66, при этом указанный вирус простого герпеса представляет собой вирус простого герпеса типа 1 (ВПГ-1).

[0262] Вариант реализации 68: вирус герпеса по любому из вариантов реализации 59–67, при этом указанный вирус простого герпеса представляет собой вирус простого герпеса типа 2 (ВПГ-2).

[0263] Вариант реализации 69: вирус герпеса по любому из вариантов реализации 59–68, при этом указанный вирус простого герпеса не является онколитическим.

[0264] Вариант реализации 70: фармацевтическая композиция, содержащая геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из вариантов реализации 1–58 или вирус герпеса по любому из вариантов реализации 59–69, и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.

[0265] Вариант реализации 71: фармацевтическая композиция по варианту реализации 70, при этом указанная фармацевтическая композиция подходит для местного, чрескожного, подкожного, внутрикожного, перорального, интраназального, интратрахеального, сублингвального, буккального, ректального, вагинального, ингаляционного, внутривенного, внутриартериального, внутримышечного, внутрисердечного, внутрикостного, внутрибрюшинного, трансмукозального, интравитреального, субретинального, внутрисуставного, периартикулярного, местного или эпикутанного введения.

[0266] Вариант реализации 72: фармацевтическая композиция по варианту реализации 70 или 71, при этом указанная фармацевтическая композиция подходит для перорального, интраназального, интратрахеального или ингаляционного введения.

[0267] Вариант реализации 73: фармацевтическая композиция по любому из вариантов реализации 70–72, при этом указанная фармацевтическая композиция подходит для интраназального или ингаляционного введения.

[0268] Вариант реализации 74: фармацевтическая композиция по любому из вариантов реализации 70–73, при этом указанная фармацевтическая композиция подходит для ингаляционного введения.

[0269] Вариант реализации 75: фармацевтическая композиция по любому из вариантов реализации 70–74, при этом указанная фармацевтическая композиция подходит для интраназального введения.

[0270] Вариант реализации 76: фармацевтическая композиция по любому из вариантов реализации 70–75, при этом указанная фармацевтическая композиция подходит для применения в ингаляторе с сухим порошком, дозирующем ингаляторе под давлением, ингаляторе, генерирующем мягкий туман, небулайзере, электрогидродинамическом аэрозольном устройстве или в любых их комбинациях.

[0271] Вариант реализации 77: фармацевтическая композиция по любому из вариантов реализации 70–76, при этом указанная фармацевтическая композиция подходит для применения в небулайзере.

[0272] Вариант реализации 78: фармацевтическая композиция по любому из вариантов реализации 70–77, при этом указанный небулайзер представляет собой небулайзер на основе вибрирующего сита.

[0273] Вариант реализации 79: вирус герпеса по любому из вариантов реализации 59–69 или фармацевтическая композиция по любому из вариантов реализации 70–78 для применения в качестве лекарственного средства.

[0274] Вариант реализации 80: вирус герпеса по любому из вариантов реализации 59–69 или фармацевтическая композиция по любому из вариантов реализации 70–78 для применения в терапии.

[0275] Вариант реализации 81: применение вируса герпеса по любому из вариантов реализации 59–69 или фармацевтической композиции по любому из вариантов реализации 70–78 для получения лекарственного средства для лечения рака.

[0276] Вариант реализации 82: применение согласно варианту реализации 81, где указанный рак выбран из группы, состоящей из острого миелоидного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, аденокарциномы, уротелиального рака мочевого пузыря, глиомы ствола головного мозга, глиомы головного мозга низкой степени злокачественности, опухоли головного мозга, рака молочной железы, бронхиальных опухолей, лимфомы Беркитта, рака с неизвестной первичной локализацией, карциноидной опухоли, карциномы с неизвестной первичной локализацией, атипичной тератоидной/рабдоидной опухоли центральной нервной системы, эмбриональных опухолей центральной нервной системы, плоскоклеточной карциномы шейки матки, эндоцервикальной аденокарциномы, рака детского возраста, холангиокарциномы, хордомы, хронического лимфоцитарного лейкоза, хронического миелолейкоза, хронических миелопролиферативных заболеваний, рак толстой кишки, рака ободочной и прямой кишки, краниофарингиомы, кожной Т-клеточной лимфомы, эндокринных опухолей островковых клеток поджелудочной железы, рака эндометрия, эпендимобластомы, эпендимомы, рака пищевода, эстезионейробластомы, саркомы Юинга, экстракраниальной герминогенной опухоли, экстрагонадальной герминогенной опухоли, внепеченочного рака желчных протоков, рака желчного пузыря, рака желудка, карциноидной опухоли желудочно-кишечного тракта, стромально-клеточной опухоли желудочно-кишечного тракта, стромальной опухоли желудочно-кишечного тракта, гестационной трофобластной опухоли, мультиформной глиобластомы, лейкоза из ворсистых

клеток, рака головы и шеи, рака сердца, лимфомы Ходжкина, рака гортани, внутриглазной меланомы, опухолей островковых клеток, саркомы Капоши, рака почки, гистиоцитоза клеток Лангерганса, рака гортани, рака губы, рака печени, лимфоидной неопластической диффузной В-крупноклеточной лимфомы, злокачественной фиброзной гистиоцитомы кости, медуллобластомы, медуллоэпителиомы, меланомы, карциномы Меркеля, карциномы кожи Меркеля, мезотелиомы, метастатического плоскоклеточного рака шеи с неизвестным первичным очагом, рака ротовой полости, синдромов множественной эндокринной неоплазии, множественной миеломы, множественной миеломы/плазмноклеточного новообразования, фунгоидного микоза, миелодиспластических синдромов, миелолиферативных новообразований, рака носовой полости, рака носоглотки, нейробластомы, неходжкинской лимфомы, немеланомного рака кожи, немелкоклеточного рака легкого, рака полости рта, рака ротоглотки, остеосаркомы, других опухолей головного и спинного мозга, рака яичников, эпителиального рака яичников, герминогенной опухоли яичника, опухоли яичника с низким злокачественным потенциалом, рака поджелудочной железы, папилломатоза, рака околоносовых пазух, рака паращитовидной железы, рака таза, рака полового члена, рака глотки, феохромоцитомы и параганглиомы, паренхиматозных опухолей шишковидной железы с промежуточным уровнем дифференцировки, пинеобластомы, опухоли гипофиза, плазмноклеточного новообразования/множественной миеломы, плевропульмональной бластомы, первичной лимфомы центральной нервной системы, первичного гепатоцеллюлярного рака печени, рака предстательной железы, такого как аденокарцинома предстательной железы, рака прямой кишки, рака почки, почечно-клеточного рака, рака дыхательных путей, ретинобластомы, рабдомиосаркомы, рака слюнных желез, саркомы, синдрома Сезари, меланомы кожи, мелкоклеточного рака легких, рака тонкой кишки, саркомы мягких тканей, плоскоклеточной карциномы, плоскоклеточного рака шеи, рака желудка, супратенториальных примитивных нейроэктодермальных опухолей, Т-клеточной лимфомы, рака яичка, герминогенных опухолей яичка, рака горла, карциномы вилочковой железы, тимомы, рака щитовидной железы, переходно-клеточного рака, переходно-клеточного рака почечной лоханки и мочеточника, трофобластической опухоли, рака мочеточника, рака уретры, рака матки, рака матки, увеальной меланомы, рака влагалища, рака вульвы, макроглобулинемии Вальденстрема и опухоли Вильмса.

[0277] Вариант реализации 83: способ экспрессии, усиления, увеличения, облегчения и/или дополнения уровней иммуномодулирующего полипептида в одной или более клетках субъекта, включающий введение указанному субъекту эффективного количества вируса

герпеса по любому из вариантов реализации 59–69 или фармацевтической композиции по любому из вариантов реализации 70–78.

[0278] Вариант реализации 84: способ по варианту реализации 83, отличающийся тем, что указанные одна или более клеток представляют собой одну или более клеток дыхательных путей, эпителия дыхательных путей и/или легкого.

[0279] Вариант реализации 85: способ по любому из вариантов реализации 83 или 84, отличающийся тем, что указанные одна или более клеток представляют собой одну или более клеток дыхательных путей.

[0280] Вариант реализации 86: способ по любому из вариантов реализации 83–85, отличающийся тем, что указанные одна или более клеток представляют собой одну или более клеток эпителия дыхательных путей.

[0281] Вариант реализации 87: способ по любому из вариантов реализации 83–86, отличающийся тем, что указанные одна или более клеток представляют собой одну или более клеток легкого.

[0282] Вариант реализации 88: способ обеспечения профилактического, паллиативного или терапевтического облегчения одного или более признаков или симптомов рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение указанному субъекту эффективного количества вируса герпеса по любому из вариантов реализации 59–69 или фармацевтической композиции по любому из вариантов реализации 70–78.

[0283] Вариант реализации 89: способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение указанному субъекту эффективного количества вируса герпеса по любому из вариантов реализации 59–69 или фармацевтической композиции по любому из вариантов реализации 70–78.

[0284] Вариант реализации 90: способ по любому из вариантов реализации 88 или 89, где рак выбран из группы, состоящей из карциномы, лимфомы, бластомы, саркомы, нейроэндокринной опухоли, мезотелиомы, шванномы, менингиомы, аденокарциномы, меланомы, лейкоза и лимфоидного злокачественного новообразования.

[0285] Вариант реализации 91: способ по любому из вариантов реализации 88–90, отличающийся тем, что рак выбран из группы, состоящей из солидной опухоли, гематологического рака, рака мочевого пузыря, рака мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака желудка, глиомы, рака головы, лейкоза, рака печени, рака легких, лимфомы, миеломы, рака шеи, рака яичников, меланомы, рака поджелудочной железы, рака почки, рака слюны, рака желудка, эпителиального рака вилочковой железы и рака щитовидной железы.

- [0286]** Вариант реализации 92: способ по любому из вариантов реализации 88–91, отличающийся тем, что рак представляет собой мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого или плоскоклеточную карциному легкого.
- [0287]** Вариант реализации 93: способ по любому из вариантов реализации 88–92, отличающийся тем, что рак представляет собой мелкоклеточный рак легкого.
- [0288]** Вариант реализации 94: способ по любому из вариантов реализации 88–93, отличающийся тем, что рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого.
- [0289]** Вариант реализации 95: способ по любому из вариантов реализации 88–94, отличающийся тем, что рак представляет собой аденокарциному легкого.
- [0290]** Вариант реализации 96: способ по любому из вариантов реализации 88–95, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой плоскоклеточную карциному легкого.
- [0291]** Вариант реализации 97: способ по любому из вариантов реализации 88–96, отличающийся тем, что рак представляет собой остеосаркому.
- [0292]** Вариант реализации 98: способ по любому из вариантов реализации 88–97, отличающийся тем, что указанный субъект представляет собой человека.
- [0293]** Вариант реализации 99: способ по любому из вариантов реализации 88–98, отличающийся тем, что вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят субъекту местно, чрескожно, подкожно, эпикутанно, внутрикожно, перорально, сублингвально, буккально, ректально, вагинально, внутривенно, внутриартериально, внутримышечно, внутрикостно, внутрисердечно, внутрибрюшинно, трансмукозально, интравитреально, субретинально, внутрисуставно, периартикулярно, интратуморально, локально или путем ингаляции.
- [0294]** Вариант реализации изобретения 100: способ по любому из вариантов реализации изобретения 88–99, где вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят субъекту перорально, интраназально, интратрахеально или путем ингаляции.
- [0295]** Вариант реализации 101: способ по любому из вариантов реализации 88–100, отличающийся тем, что вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят субъекту интраназально или путем ингаляции.
- [0296]** Вариант реализации 102: способ по любому из вариантов реализации 88–101, отличающийся тем, что указанный вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят субъекту интраназально.

[0297] Вариант реализации 103: способ по любому из вариантов реализации 88–102, отличающийся тем, что вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят субъекту путем ингаляции.

[0298] Вариант реализации 104: способ по любому из вариантов реализации 88–103, отличающийся тем, что вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят с использованием ингалятора с сухим порошком, дозирующего ингалятора под давлением, ингалятора, генерирующего мягкий туман, небулайзера или электрогидродинамического аэрозольного устройства.

[0299] Вариант реализации 105: способ по любому из вариантов реализации 88–104, отличающийся тем, что вирус герпеса или фармацевтическую композицию вводят с использованием небулайзера.

[0300] Вариант реализации 106: способ по любому из вариантов реализации 88–105, отличающийся тем, что указанный небулайзер представляет собой небулайзер на основе вибрирующего сита.

[0301] Предположительно, настоящее описание достаточно для того, чтобы дать специалисту в данной области техники возможность реализации настоящего изобретения на практике. Различные модификации настоящего изобретения в дополнение к тем, которые проиллюстрированы и описаны в настоящей заявке, будут понятны специалистам в данной области техники из вышеприведенного описания, и такие модификации включены в объем прилагаемой формулы изобретения.

ПРИМЕРЫ

[0302] Настоящее изобретение может быть лучше понято после изучения приведенных ниже примеров. Однако это не должно быть истолковано как ограничение объема настоящего изобретения. Следует понимать, что примеры и варианты реализации, описанные в настоящей заявке, предназначены исключительно для иллюстрации, и что различные модификации или изменения на основе приведенных примеров и вариантов могут быть предложены специалистам в данной области техники и должны быть включены в сущность и сферу действия настоящего изобретения, и в объем прилагаемой формулы изобретения.

Пример 1: векторы на основе модифицированного вируса простого герпеса, кодирующие иммуномодулирующий полипептид

[0303] Для получения векторов на основе модифицированного генома вируса простого герпеса, способных экспрессировать иммуномодулирующие полипептиды в клетке-мишени

млекопитающего (например, в клетках дыхательных путей), геном вируса простого герпеса (**Фиг. 1А**) сначала модифицируют для инактивации одного или более генов вируса простого герпеса. Такие модификации могут снижать токсичность генома в клетках млекопитающих. Затем получают варианты этих модифицированных/ослабленных рекомбинантных вирусных конструкций, несущие один или более полинуклеотидов, кодирующих нужный иммуномодулирующий полипептид. Эти варианты включают: рекомбинантный Δ ICP4-модифицированный геном ВПГ-1, содержащий экспрессионные кассеты, содержащие кодирующую последовательность иммуномодулирующего полипептида (например, SEQ ID NO: 3) под контролем гетерологичного промотора, интегрированного в каждый локус ICP4 (**Фиг. 1В**); рекомбинантный Δ ICP4/ Δ UL41-модифицированный геном ВПГ-1, содержащий экспрессионные кассеты, содержащие кодирующую последовательность иммуномодулирующего полипептида (например, SEQ ID NO: 3) под контролем гетерологичного промотора, интегрированного в каждый локус ICP4 (**Фиг. 1С**); рекомбинантный Δ ICP4/ Δ UL41-модифицированный геном ВПГ-1, содержащий экспрессионную кассету, содержащую кодирующую последовательность иммуномодулирующего полипептида (например, SEQ ID NO: 3) под контролем гетерологичного промотора, встроенного в локус UL41 (**Фиг. 1D**); рекомбинантный геном Δ ICP4/ Δ ICP22-модифицированного ВПГ-1, содержащий экспрессионные кассеты, содержащие кодирующую последовательность иммуномодулирующего полипептида (например, SEQ ID NO: 3) под контролем гетерологичного промотора, встроенного в каждый локус ICP4 (**Фиг. 1Е**); рекомбинантный геном Δ ICP4/ Δ ICP22-модифицированного ВПГ-1, содержащий экспрессионную кассету, содержащую кодирующую последовательность иммуномодулирующего полипептида (например, SEQ ID NO: 3) под контролем гетерологичного промотора, встроенного в локус ICP22 (**Фиг. 1F**); рекомбинантного генома Δ ICP4/ Δ UL41/ Δ ICP22-модифицированного ВПГ-1, содержащего экспрессионные кассеты, содержащие кодирующую последовательность иммуномодулирующего полипептида (например, SEQ ID NO: 3), под контролем гетерологичного промотора, встроенного в каждый локус ICP4 (**Фиг. 1G**); рекомбинантного генома Δ ICP4/ Δ UL41/ Δ ICP22-модифицированного ВПГ-1, содержащего экспрессионную кассету, содержащую кодирующую последовательность иммуномодулирующего полипептида (например, SEQ ID NO: 3), под контролем гетерологичного промотора, встроенного в локус UL41 (**Фиг. 1H**); и рекомбинантного генома Δ ICP4/ Δ UL41/ Δ ICP22-модифицированного ВПГ-1, содержащего экспрессионную кассету, содержащую кодирующую последовательность иммуномодулирующего полипептида (например, SEQ ID NO: 3), под контролем гетерологичного промотора, встроенного в локус ICP22 (**Фиг. 1G**).

[0304] Этими векторами на основе модифицированного генома вируса простого герпеса трансфицируют сконструированные клетки, которые модифицируют для экспрессии одного или более генов вируса простого герпеса. Указанные сконструированные клетки секретируют в супернатант клеточной культуры репликативно-дефектный вирус простого герпеса с упакованными модифицированными геномами. Затем супернатант собирают, концентрируют и стерилизуют фильтрацией.

[0305] Векторы на основе модифицированного генома вируса простого герпеса, описанные в настоящей заявке, могут экспрессировать любой один или более из примеров иммуномодулирующих полипептидов, приведенных в таблице 1 ниже, в любой подходящей комбинации.

Таблица 1. Репрезентативные иммуномодулирующие полипептиды

Последовательность аминокислот т SEQ ID NO:	Название белка	Номер доступа UniProt	Последовательность нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:	Название гена;	Идентификационный номер гена в NCBI
1	ИЛ-1 α	P01583	31	IL1A	3552
2	ИЛ-1 β	P01584	32	IL1B	3553
3	ИЛ-2	P60568	33	IL2	3558
4	ИЛ-7	P13232	34	IL7	3574
5	Субъединица α ИЛ-12	P29459	35	IL12A	3592
6	Субъединица β ИЛ-12	P29460	36	IL12B	3593
7	ИЛ-13	P35225	37	IL13	3596
8	ИЛ-15	P40933	38	IL15	3600
9	ИЛ-17A	Q16552	39	IL17A	3605
10	ИЛ-18	Q14116	40	IL18	3606
11	ИЛ-28A Интерферон лямбда-2	Q8IZJ0	41	IFNL2	282616
12	ИЛ-28B Интерферон лямбда-3	Q8IZI9	42	IFNL3	282617
13	ИЛ-32	P24001	43	IL32	9235
14	ИЛ-33	O95760	44	IL33	90865
15	ИЛ-34	Q6ZMJ4	45	IL34	146433
16	ФНО- α	P01375	46	TNF	7124
17	ИФН- γ	P01579	47	IFNG	3458
18	Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ)	P09919	48	CSF3	1440
19	Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ)	P04141	49	CSF2	1437

Последовательность аминокислот т SEQ ID NO:	Название белка	Номер доступа UniProt	Последовательность нуклеиновой кислоты SEQ ID NO:	Название гена;	Идентификационный номер гена в NCBI
20	Хемокиновый (с C-X-C-мотивом) лиганд 1 (CXCL1)	P09341	50	CXCL1	2919
21	CXCL2	P19875	51	CXCL2	2920
22	CXCL8	P10145	52	CXCL8	3576
23	CXCL9	Q07325	53	CXCL9	4283
24	CXCL11	O14625	54	CXCL11	6373
25	CXCL16	Q9H2A7	55	CXCL16	58191
26	Хемокиновый лиганд с C-C-мотивом 2 (CCL2)	P13500	56	CCL2	6347
27	CCL3	P10147	57	CCL3	6348
28	CCL4	P13236	58	CCL4	388372 6351
29	CCL5	P13501	59	CCL5	6352
30	CCL11	P51671	60	CCL11	6356

Пример 2: конструирование модифицированного вектора на основе вируса простого герпеса, кодирующего ИЛ-12, ИЛ-2 и ГМ-КСФ человека

[0306] В приведенном ниже примере описано конструирование рекомбинантного вируса простого герпеса 1 типа (ВПГ-1), который успешно кодировал ИЛ-12 человека (см., например, SEQ ID NO: 35 и 36; ВПГ-ИЛ12), ИЛ-2 (см., например, SEQ ID NO: 33; ВПГ-ИЛ2) или ГМ-КСФ (см., например, SEQ ID NO: 49; ВПГ-ГМКФС) и экспрессировал полноразмерный белок ИЛ-12 человека (см., например, SEQ ID NO: 5 и 6), ИЛ-2 (см., например, SEQ ID NO: 3) или ГМ-КСФ (см., например, SEQ ID NO: 19).

[0307] Рекомбинантный ВПГ-1 конструировали так, чтобы он включал экспрессионную кассету с *IL-12*, *IL-2* или *GM-CSF* человека, содержащую гетерологичный промотор и последовательность поли-А (см. пример 1). Вирусные бляшки, предположительно содержащие кассету с *IL-12*, *IL-2* или *GM-CSF* человека, отбирали и подвергали скринингу путем инфицирования дополняющей клеточной линии для тестирования экспрессии белка ИЛ-12, ИЛ-2 и ГМ-КСФ человека, используя вестерн-блоттинг (данные не показаны). Затем для дополнительного анализа *in vitro* выбирали высокоэкспрессирующие клоны, названные ВПГ-ИЛ12, ВПГ-ИЛ2 и ВПГ-ГМКФС.

[0308] Дополняющие клетки инфицировали контролем–основой или инфицировали ВПГ-ИЛ12, ВПГ-ИЛ2 или ВПГ-ГМКСФ при множественности заражения (МОИ) = 1, в бессывороточной среде для культивирования клеток. Через 24 часа или 48 часов после инфицирования клеточный осадок собирали, лизировали в буфере RIPA, содержащем ингибиторы протеазы, и количественно определяли содержание белка с помощью анализа ВСА. По 30–40 мкг каждого образца загружали и анализировали на 4–20% акриламидном геле, и оценивали экспрессию белка человека, кодируемого ВПГ, с помощью вестерн-блоттинга (**Фиг. 2А–2В**).

Рекомбинантный ИЛ-12 или ИЛ-2 человека загружали на гель в качестве положительного контроля. В то время как в неинфицированных контрольных клетках не было обнаружено ни ИЛ-12, ни ИЛ-2 человека, после инфицирования ВПГ-ИЛ12 и ВПГ-ИЛ2, соответственно, в клетках наблюдалась устойчивая экспрессия ИЛ-12 человека (**Фиг. 2А**) и ИЛ-2 (**Фиг. 2В**).

[0309] Поскольку ИЛ-12, ИЛ-2 и ГМ-КСФ являются естественно секретируемыми белками, супернатанты клеточной культуры также собирали и тестировали на присутствие белка человека с помощью ИФА ELISA. В соответствии с данными вестерн-блоттинга, ИЛ-12 человека (2,01 мкг/мл и 2,58 мкг/мл), ИЛ-2 (0,531 мкг/мл, 0,850 мкг/мл и 1,200 мкг/мл) и ГМ-КСФ (643,427 нг/мл, 513,56 нг/мл и 200,167 нг/мл) были обнаружены в супернатантах клеток, инфицированных ВПГ-ИЛ12, ВПГ-ИЛ2 и ВПГ-ГМКСФ, соответственно, при протестированных МОИ, что позволяет предположить, что полноразмерный белок человека надлежащим образом был процессирован/секретировался после экспрессии с рекомбинантного вектора.

[0310] В совокупности данные, представленные в этом примере, показали, что рекомбинантные векторы на основе ВПГ-1 ВПГ-ИЛ12, ВПГ-ИЛ2 и ВПГ-ГМКСФ эффективно инфицировали несколько типов клеток и были способны экспрессировать кодируемый ими трансген человека. Кроме того, эти данные указывали на то, что экзогенный человеческий белок впоследствии (надлежащим образом) секретировался из инфицированных клеток. Без связи с какой-либо теорией, эти данные предположительно дополнительно подтверждают возможность использования сконструированных вирусов простого герпеса в качестве новых нацеливаемых применимых в широком диапазоне геннотерапевтических векторов для лечения различных видов рака (*например*, остеосаркомы).

Пример 3: анализ биологической активности ИЛ-12 человека и мыши *in vitro*

[0311] Цель этого исследования состояла, в частности, в том, чтобы определить, является ли рекомбинантный белок ИЛ-12 человека и/или мыши, полученный из рекомбинантного вируса простого герпеса типа 1 (ВПГ-1), таким же биологически активным, как коммерчески доступный рекомбинантный белок ИЛ-12.

[0312] Клетки эмбриональной почки человека 293 (HEK293) инфицировали при MOI=1 ВПГ-ИЛ12 в течение 48 часов. Концентрации ИЛ-12 в супернатантах от инфицированных HEK293 определяли с помощью ИФА ELISA. МКПК человека и спленоциты мыши культивировали в полной среде RPMI или DMEM, соответственно, и поддерживали при 37 ° C при 5% CO₂ во влажной среде. Коммерчески доступные гранулы, покрытые αCD3/αCD28 человека или мыши, промывали и добавляли к культурам МКПК или спленоцитов, соответственно, в количестве 2 мкл на лунку. Как показано на **Фиг. 3А–3В**, серийные разведения супернатантов от инфицированных ВПГ-ИЛ12 человека или мыши HEK293 добавляли в культуры МКПК или спленоцитов в сочетании с гранулами, покрытыми αCD3/αCD28. Для сравнения к некоторым культурам добавляли коммерчески доступный рекомбинантный белок ИЛ-12 в аналогичных концентрациях. Через 24 часа после стимуляции супернатанты культуры МКПК или спленоцитов мыши собирали и анализировали с помощью ИФА ELISA на продуцирование ИФН-γ.

[0313] Как показано на **Фиг. 3А–3В**, добавление гранул, покрытых αCD3/αCD28, приводило к высвобождению ИФН-γ как из МКПК человека (**Фиг. 3А**), так и из спленоцитов мыши (**Фиг. 3В**). Для сравнения, добавление вирусного супернатанта как от ВПГ-ИЛ12 человека, так и от ВПГ-ИЛ12 мыши к стимулированным αCD3/αCD28 МКПК человека (**Фиг. 3А**) и спленоцитам мыши (**Фиг. 2В**) индуцировало более высокие уровни секреции ИФН-γ по сравнению со стимуляцией только αCD3/αCD28. Кроме того, зависимое от ВПГ-ИЛ12 высвобождение ИФН-γ было сопоставимо с высвобождением, зависимым от рекомбинантного ИЛ-12 (**Фиг. 3А–3В**).

[0314] В совокупности эти результаты свидетельствуют о том, что рекомбинантный белок ИЛ-12 человека и мыши, полученный из рекомбинантного вируса простого герпеса, был таким же биологически активным, как и коммерчески доступный рекомбинантный белок ИЛ-12.

Пример 4: интратрахеальное введение и оценка ВПГ-ИЛ12 *in vivo* у здоровых мышей

[0315] В последнее время в лечении рака были продемонстрированы большие перспективы использования иммунотерапии или нацеливания на иммунную систему для снижения опухолевой нагрузки. В частности, оценивали введение рекомбинантного белка интерлейкина(ИЛ)-12, мощного провоспалительного цитокина. ИЛ-12 представляет собой гетеродимерный цитокин, состоящий из субъединиц p35 и p40, соединенных тремя дисульфидными мостиками. В качестве провоспалительного цитокина ИЛ-12 в основном продуцируется активированными антигенпрезентирующими клетками (*например*, макрофагами и дендритными клетками), стимулируя повышенную продукцию интерферона-γ (ИФН-γ) Т-клетками и естественными киллерными клетками (NK). В свою очередь, ИФН-γ

способен инициировать апоптоз опухолевых клеток, стимулировать антигенную презентацию опухолевых клеток и индуцировать туморицидную активность макрофагов, помимо других эффектов. Исследования за последние несколько десятилетий показали, что ИЛ-12 является мощным стимулятором противоопухолевых иммунных реакций, что поддерживает идею его использования в качестве терапии рака. Однако предыдущие клинические испытания показали, что системное лечение ИЛ-12 у пациентов с раковыми заболеваниями приводит к высоким уровням токсичности.

[0316] Авторы настоящего изобретения использовали нереплицирующийся геннотерапевтический вектор на основе ВПГ-1 для разработки модифицированного вектора, который кодирует гены *il12a* и *il12b* (ВПГ-ИЛ12) для субъединиц р35 и р40, соответственно. Инфицирование ВПГ-ИЛ12 приводило к экспрессии гетеродимера р70 ИЛ-12, где субъединицы ковалентно связаны линкером G4S. Исследования *in vitro*, в которых сравнивали продуцированный с помощью вируса и рекомбинантный белок ИЛ-12, показали аналогичную эффективность индуцирования экспрессии ИФН- γ (см. пример 3 выше) во время активации Т-клеток селезенки мыши.

[0317] Поскольку эти исследования подтвердили биоактивность трансгена, следующим этапом было тестирование ВПГ-ИЛ12 *in vivo*. В настоящем исследовании оценивали экспрессию ИЛ-12 в сочетании с токсичностью после однократного введения дозы ВПГ-ИЛ12 интратрахеально (и/т) молодым (8–10 недель) животным BALB/c. Три различные дозы ВПГ-ИЛ12 оценивали на экспрессию ИЛ-12 с помощью анализа на нуклеиновую кислоту и белок в ткани легких, жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ) и сыворотке. Токсичность измеряли по снижению общей массы тела в ходе исследования (через 24 и 48 часов после введения). Кроме того, группа животных получала рекомбинантный белок ИЛ-12 системно (подкожно; п/к) в качестве способа сравнения локальной доставки ВПГ-ИЛ12 с ранее исследованными путями введения.

[0318] Все проведенные процедуры соответствовали применимым законам о благополучии животных и были одобрены местным Институциональным комитетом по содержанию и использованию животных (IACUC). В этом исследовании использовали 22–28 здоровых самок мышей BALB/c в возрасте 8 недель.

[0319] Седацию мышей проводили путем внутрибрюшинного введения смеси телазола и дексдомитора. Седацию определяли с помощью теста на рефлекторное отдергивание лапы при щипке за палец. Глазную мазь (Puralube Vet) наносили на глаза для предотвращения сухости. Животных помещали на металлический поддон на вспомогательном столе для дозирования.

[0320] Интратрахеальное (и/т) введение осуществляли путем размораживания вирусного вектора на влажном льду, разведения в основе для получения соответствующих титров и введения в дозах 50 мкл. Нижнюю челюсть и язык аккуратно отодвигали пинцетом, чтобы обнажить надгортанник и гортань. Трубку катетера размером ~ 4,5 см вставляли в трахею до половины глубины, и иглу калибра 23G, соединенную со шприцем, присоединяли к верхней части катетера для введения дозы. Мышам в группе отрицательного контроля инъецировали и/т только основу. После введения проводили мониторинг животных во время восстановления после анестезии.

[0321] Кроме того, группа животных получала подкожную (п/к) инъекцию рекомбинантного белка ИЛ-12 (0,5 мг, разведенные в 1х ФСБ) в качестве системного способа введения. Эта доза была выбрана, поскольку было продемонстрировано, что она токсична для мышей. Для введения бодрствующих животных фиксировали за загривок и вводили дозу в область за шеей с использованием шприца объемом 1 мл и иглы калибра 27G.

[0322] В заданные моменты времени после и/т или п/к проведения вышеописанного лечения животных умерщвляли путем CO₂-асфиксии, и выполняли сердечную пункцию для сбора крови в пробирки для отделения сыворотки (BD Biosciences). Пробирки центрифугировали для осаждения эритроцитов, извлекали сыворотку и мгновенно замораживали в пробирках Эппендорф. Затем животных перфузировали 40 мл холодного 1х ФСБ со скоростью 20 мл в минуту. Проводили брохоальвеолярный лаваж (BAL) с использованием 2 мл 1х ФСБ. Полученные объемы регистрировали для каждого животного. Образцы БАЛ центрифугировали для удаления клеток и собирали жидкость БАЛ (ЖБАЛ) для анализа. Добавляли 100х раствор ингибиторов протеаз (Fisher Scientific) ко всем образцам ЖБАЛ до конечной концентрации 1х. Затем вырезали левое и правое легкое и замораживали в жидком азоте для анализа на белок и нуклеиновую кислоту.

[0323] Ресуспандированный клеточный осадок БАЛ центрифугировали при 2000 об/мин в течение 5 минут, а супернатанты удаляли и утилизировали. Остаточные эритроциты лизировали с использованием 1х буфера для лизиса эритроцитов (Sigma) (инкубировали при комнатной температуре в течение 2 минут). Добавляли 500 мкл 1х ФСБ для остановки реакции лизиса и клетки центрифугировали, как описано выше. Супернатанты удаляли, а клетки ресуспандировали в 100–500 мкл 1х ФСБ в зависимости от размера клеточного осадка. Аликвоту каждого образца разводили в трипановом синем (Fisher Scientific) и оценивали количество и жизнеспособность клеток с помощью гемоцитометра.

[0324] Замороженные легкие хранили при -80°C до обработки. В день обработки готовили биоптаты замороженных легких, используя бритвенное лезвие, быстро взвешивали и

возвращали в сухой лед. Вырезали два биоптата, один для анализа РНК/ДНК и один для получения гомогенатов для ИФА ELISA. Биоптаты для анализа на нуклеиновую кислоту немедленно ресуспендировали в 350 мкл буфера RLT, приготовленного со свежим DTT, в соответствии с протоколом производителя (Qiagen). Биоптаты для анализа белка ресуспендировали в 300 мкл реагента Пирса TPER (Fisher Scientific), дополненного 1x ингибиторами протеазы (Fisher Scientific). В каждую пробирку добавляли металлический шарик размером 5 мм и гомогенизировали образцы с помощью гомогенизатора Tissue Lyser (Qiagen) при 25 Гц в течение 3 минут. Нуклеиновые кислоты немедленно экстрагировали и гомогенаты белка обрабатывали следующим образом: образцы центрифугировали в течение 5 минут при 10 000 g для осаждения дебриса; супернатанты собирали и аликвотировали в пробирки Эппендорф. Гомогенаты хранили при -20°C до ИФА ELISA и анализа методом бицинхониновой кислоты (BCA).

[0325] Экстракцию ДНК и РНК проводили с применением набора для экстракции ДНК/РНК Qiagen AllPrep в соответствии с протоколом производителя. Образцы ДНК и РНК элюировали в дистиллированную деионизированную не содержащую РНКаз воду. Остаточную геномную ДНК удаляли из образцов РНК с использованием набора TURBO DNA kit (Invitrogen) в соответствии с инструкциями производителя. Все нуклеиновые кислоты количественно определяли спектрофотометрически с помощью инструмента Nanodrop (BioTek). Абсолютную количественную оценку ДНК-геномов и РНК-транскриптов *il12* проводили с помощью ПЦР-анализа в реальном времени TaqMan с использованием кастомизированных трансген-специфических пар праймеров/зондов. Смесь 20X праймеров/зондов *il12*, содержащую по 45 нмоль прямого и обратного праймеров и 12,5 нмоль зонда, разбавляли до 1x в каждой реакции до достижения конечных концентраций праймера и зонда. РНК подвергали обратной транскрипции в кДНК с использованием обратной транскриптазы MultiScribe Reverse Transcriptase (Applied Biosystems) перед анализом кРВ-ПЦР.

[0326] Мастер-микс Taqman® Fast Advanced Master Mix (Applied Biosystems) использовали для количественного определения ДНК (кПЦР) и РНК (кРВ-ПЦР). Для кПЦР- и кРВ-анализов использовали 50 нг ДНК или кДНК, соответственно. Все образцы анализировали в двух повторностях, и определяли количество копий, используя стандартную кривую, полученную на основе серии разведений стандарта gBlock, содержащих известное количество копий трансгена *il12*.

[0327] До проведения ИФА ELISA концентрацию белка в гомогенатах легких определяли с помощью BCA-анализа (Pierce). Все используемые для ИФА ELISA реагенты были получены от R&D Systems. Гомогенаты легких, ЖБАЛ и сыворотку затем анализировали в планшетах для

ELISA, которые покрывали в течение ночи антителом для захвата α -ИЛ-12 в соответствии с инструкциями производителя. После блокирования планшетов 1х разбавителем для реагентов в течение 1 часа при комнатной температуре образцы и стандарты разбавляли надлежащим образом в растворителе для реагентов и анализировали в двух повторностях (50 мкл на лунку). Образцы инкубировали в планшетах в течение 2 часов при комнатной температуре при встряхивании. После инкубации планшеты промывали 1х промывочным буфером 3 раза, осушая промакиванием между всеми промываниями.

[0328] Биотинилированное антитело для детекции разбавляли в разбавителе для реагентов до рабочей концентрации, указанной в протоколе, и добавляли по 100 мкл в каждую лунку. Образцы инкубировали при комнатной температуре в течение 2 часов при встряхивании. После инкубации планшеты промывали, как описано выше, и разводили 40х стрептавидин в разбавителе для реагентов до 1х. В каждую лунку добавляли по 100 мкл и инкубировали планшеты при комнатной температуре в темноте в течение 20 минут. Планшеты повторно промывали, а затем обрабатывали с использованием субстрата TMB в течение 20 минут в темноте. Реакции останавливали 2N H₂SO₄. Планшеты считывали на спектрофотометре SpectraMax с использованием программного обеспечения SoftMax Pro. Из всех значений OD вычитали фон, определенный по холостому планшету, и определяли концентрации с помощью 4-точечной стандартной кривой.

[0329] Для анализа гомогенатов легких концентрации ИЛ-12, определенные с помощью ИФА ELISA, нормировали по концентрациям общего белка, полученным в BCA-анализе, и рассчитывали количество ИЛ-12 в пг на мкг белка.

Пример 4а: Однократная доза ВПГ-ИЛ12

[0330] Цели этого исследования заключались в следующем: (1) оценка кинетики опосредованной ВПГ-ИЛ12 экспрессии ИЛ-12 мыши на уровне транскрипта и белка, локально и системно, при интратрахеальном введении здоровым мышам BALB/c; (2) оценка токсичности ВПГ-ИЛ12 в различных дозах; и (3) сравнение токсичности и локализации ИЛ-12 для ВПГ-ИЛ12, вводимого интратрахеально, и рекомбинантного белка ИЛ-12, вводимого системно.

[0331] Проводили исследование *in vivo* для оценки опосредованной ВПГ-ИЛ12 экспрессии ИЛ-12 мыши у здоровых иммунокомпетентных мышей при и/т доставке вирусного вектора. В этом исследовании использовали в общей сложности двадцать восемь мышей BALB/c. В таблице 2 представлен краткий обзор дизайна эксперимента. В заданные моменты времени после и/т или п/к введения активных или контрольных исследуемых препаратов животных умерщвляли, и легкие мгновенно замораживали для последующего анализа.

Таблица 2. Дизайн исследования и введение тестируемого препарата (ТП)

№ группы	Общ. количество животных	Животное №	Название ТП	БОЕ или доза	Общий объем ТП/животное	Путь введения	День дозирования	Прекращение
1	2	1, 2	Основа	-	50 мл	и/т	День 0	24 ч после И/Т введения
2	2	3, 4						48 часов после И/Т введения
3	3	5, 6, 7	Высокая доза	9,5Е8 БОЕ	50 мл	и/т	День 0	24 ч после И/Т введения
4	3	8, 9, 10						48 часов после И/Т введения
5	3	11, 12, 13	Средняя доза	1,9Е8 о.е.	50 мл	и/т	День 0	24 ч после И/Т введения
6	3	14, 15, 16						48 часов после И/Т введения
7	3	17, 18, 19	Низкая доза	3,8Е7 БОЕ	50 мл	и/т	День 0	24 ч после И/Т введения
8	3	20, 21, 22						48 часов после И/Т введения
9	3	23, 24, 25	Рекомбинантный МИЛ-12	0,5 мг	50 мл	п/к	День 0	24 ч после И/Т введения
10	3	26, 27, 28						48 часов после И/Т введения
ч – час; и/т – интратрахеальное введение; п/к – подкожное введение								

[0332] Перед введением, а также перед умерщвлением всех животных взвешивали для оценки токсичности тестируемого агента. Данные показали, что животные в группе высокой

дозы (9,5Е8 БОЕ) демонстрировали резкое снижение массы тела через 48 часов после проведения лечения (~16%), что указывает на токсичность либо вируса, либо ИЛ-12, либо и того, и другого (Фиг. 4А). Животные в других группах не демонстрировали изменения массы тела после лечения, что указывает на отсутствие токсического эффекта от введения дозы.

[0333] кПЦР-анализ ткани легких после умерщвления показал, что геномы *il12* демонстрируют прямую связь с введенной дозой как через 24, так и через 48 часов после обработки (Фиг. 4В). Кроме того, уровни ДНК были относительно стабильны между двумя точками времени во всех группах дозирования. Хотя геномы *il12* различались в разных группах лечения, уровни транскриптов *il12* были сопоставимыми, независимо от дозы (Фиг. 4С). Эти данные свидетельствуют о том, что уровни транскриптов могут выходить на плато при определенном уровне геномов, при этом наличие большего количества геномов не приводит к увеличению уровня транскриптов. Это должно означать, что максимальный уровень экспрессии трансгена (без разведения, высокая доза) достигим даже при разведении вируса 1:25 (низкая доза). П/к введение рИЛ-12 не приводило к заметным уровням геномов или транскриптов *il12* (Фиг. 4В–4С), что было ожидаемым, поскольку они получали белок ИЛ-12, а не ДНК и/или РНК. Также, как и ожидалось, реципиенты контроля – основы демонстрировали уровни генома/транскрипта *il12*, приближающиеся к пределу детекции для проведенных анализов (Фиг. 4В–4С). Группа высокой дозы продемонстрировала >0,08 мкг/мл белка ИЛ-12 в сыворотке (Фиг. 4D), что, по всей видимости, способствовало токсичности (Фиг. 4А). Тем не менее, этот уровень резко снижался в группах средних и низких доз (в диапазоне нг/мл) (Фиг. 4D). ИЛ-12 также был детектирован в ЖБАЛ (Фиг. 4Е) в группе средней дозы. Кроме того, значительно большее количество ИЛ-12 наблюдалось в ЖБАЛ в группе, получавшей ВПГ-ИЛ12, по сравнению с группой, получавшей рекомбинантный ИЛ-12, что свидетельствует об эффективной локальной доставке ВПГ-ИЛ12.

[0334] В дополнение к сыворотке и ЖБАЛ для ИФА ELISA на ИЛ-12 гомогенизировали биоптаты легких. После нормирования по общему белку результаты показали отсутствие существенной разницы в концентрации белка ИЛ-12 для основы и введенного п/к рекомбинантного белка (Фиг. 4F). Кроме того, гомогенаты из групп средней и низкой дозы действительно содержали детектируемые уровни белка ИЛ-12.

[0335] В настоящем исследовании оценивали: (1) кинетику опосредованной ВПГ-ИЛ12 экспрессии ИЛ-12 мыши при интратрахеальном введении здоровым мышам BALB/c; (2) токсичность ВПГ-ИЛ12 в различных дозах; и (3) переносимость ВПГ-ИЛ12 по сравнению с рекомбинантным белком ИЛ-12 при системном введении. Измерение массы тела мышей при умерщвлении показало, что переносимость высокой дозы (9,5Е8 БОЕ) в этом исследовании не

была хорошей, поскольку животные потеряли около 20% массы тела через 48 часов после введения (Фиг. 4А). Однако при дальнейшем исследовании было определено, что рекомбинантный белок ИЛ-12 на высоком уровне был совместно очищен и введен и/т вместе с ВПГ-ИЛ12, что потенциально способствовало токсичности. Значительное снижение массы тела не наблюдалось ни в одной из других групп лечения, что указывает на переносимость. Хотя предполагалось, что п/к введение дозы рИЛ-12 было в определенной степени токсичным, животные в этом исследовании получали только одну дозу; в этом заключается отличие от предыдущих исследований, когда токсичность наблюдалась после последовательного ежедневного дозирования.

[0336] Данные КРВ-ПЦР показали, что уровни транскрипта *il12* были сопоставимыми в группах дозирования через 24 часа и 48 часов после лечения (Фиг. 4С), даже несмотря на то, что уровни геномов *il12* снижались в соответствии с дозами тестируемого агента (Фиг. 4В). Эти результаты указывают на то, что транскрипция *il12* может быть более эффективной при более низких дозах тестируемого агента и должна быть дополнительно исследована. Это также предполагает возможность введения более низких доз вируса, что, тем не менее, приведет к высоким уровням экспрессии трансгена. Это было бы предпочтительно в условиях, когда пациенту вводят ВПГ-ИЛ12 путем распыления.

[0337] Было обнаружено, что уровни белка ИЛ-12 в сыворотке (Фиг. 4D) и ЖБАЛ (Фиг. 4E) несколько изменялись при введении дозы ВПГ-ИЛ12. Концентрации белка ИЛ-12 были довольно вариабельными в гомогенатах легких (Фиг. 4F), что указывает на необходимость дальнейших исследований для понимания экспрессии белка при лечении ВПГ-ИЛ12.

Пример 4b: Ежедневное дозирование ВПГ-ИЛ12

[0338] Цель этого исследования состояла отчасти в том, чтобы оценить опосредованную ВПГ-ИЛ12 экспрессию ИЛ-12 мыши и его токсичность у здоровых иммунокомпетентных мышей. Основу и дозы интратрахеального ВПГ-ИЛ12 вместе с п/к рИЛ-12 вводили один раз в неделю в течение трех последовательных недель. В этом исследовании использовали в общей сложности двадцать две мыши BALB/c. В таблице 3 представлен краткий обзор дизайна эксперимента.

Таблица 3. Дизайн исследования и введение тестируемого препарата (ТП)

№ группы	Общее кол-во животных	Животное №	Название ТП	БОЕ или доза	Общий объем ТП/животное	Путь введения	День дозирования	Преграждение

1	2	1, 2	Основа	--	50 мл	и/т	День 0	День 15
2	2	3, 4						
3	3	5, 6, 7	Доза №1	1,9Е8	50 мл	и/т		
4	3	8, 9, 10						
5	3	11, 12, 13	Доза №2	3,8Е7	50 мл	и/т		
6	3	14, 15, 16						
7	3	17, 18, 19	Доза №3	7,6Е6	50 мл	и/т		
8	3	20, 21, 22						
9	3	23, 24, 25	РИЛ-12	0,5 мг	50 мл	п/к		
10	3	26, 27, 28						
и/т – интратрахеальный; п/к – подкожный								

[0339] Перед каждым введением и перед умерщвлением при завершении исследования регистрировали массу тела животных. Умерщвление при окончании исследования осуществляли через 24 часа после последней дозы (день 15). ЖБАЛ и связанные с ним клетки, сыворотку и легкие собирали для последующего анализа.

[0340] Перед каждым еженедельным введением дозы и умерщвлением при окончании исследования всех животных взвешивали для оценки токсичности тестируемого агента. После введения второй еженедельной дозы все животные в группе с самой высокой дозой ВПГ-ИЛ12 (доза №1) умерли, что указывает на сильную токсичность при этой дозе (**Фиг. 4G**). Напротив, животные во всех других группах сохраняли практически неизменную массу тела и после получения второй дозы. Однако в период после получения второй и до получения третьей дозы животные в группе дозы №2 (3,8Е7 БОЕ) потеряли в среднем 10% массы тела, что свидетельствует о токсичности при многократном введении. Одно животное из этой группы также умерло после второго введения. Животные в группе дозы №3 не проявляли заметных признаков токсичности (значения массы тела были аналогичны значениям в группах, получавших основу и рИЛ-12), демонстрируя, что введение 7,6Е6 БОЕ один раз в неделю было самой высокой из переносимых доз в этой модели.

[0341] кПЦР-анализ ткани легких показал, что различия в уровнях геномов *il12* в группах дозирования ВПГ-ИЛ12 не были статистически значимыми (Фиг. 4Н). Аналогичные тенденции наблюдались с транскриптами *il12*, то есть у животных из группы дозы №2 происходило незначительное увеличение количества копий транскриптов (Фиг. 4I). Тем не менее, это отличие относительно общего количества копий у животных, получавших дозу №3, не было статистически значимым. Вместе эти результаты позволяют предположить, что, хотя животным в группе дозы №3 (7,6Е6 БОЕ) вводили 5-кратно меньшее количество БОЕ, чем животным в группе №2 (3,8Е7 БОЕ), это не приводило к более высоким уровням копий генома или транскрипта *il12*, что позволяет предположить эффективную экспрессию трансгена даже при более низких вирусных дозах.

[0342] Кроме того, как также показано на Фиг. 4J-4K, уровни белка ИЛ-12 в ЖБАЛ и гомогенатах легких демонстрировали прямую зависимость от дозирования. В дополнение к сыворотке и ЖБАЛ для ИФА ELISA на ИЛ-12 гомогенизировали биоптаты легких. После нормирования по общему белку результаты показали, что существенного различия в концентрации белка ИЛ-12 при введении основы и п/к введении рекомбинантного белка (Фиг. 4L-4M) не было. Кроме того, гомогенаты из групп средней и низкой дозы действительно содержали детектируемые уровни белка ИЛ-12.

[0343] В совокупности эти данные указывают на то, что интратрахеальное введение низкой дозы (7,6Е6 БОЕ) ВПГ-ИЛ12 один раз в неделю в течение трех последовательных недель хорошо переносилось здоровыми мышами.

Пример 5. Интратрахеальное введение и оценка ВПГ-ИЛ2 *in vivo* у здоровых мышей

[0344] Интерлейкин-2 (ИЛ-2) представляет собой мономерный цитокин, который преимущественно продуцируется активированными Т-клетками и НК-клетками. Для этих клеток сигналы ИЛ-2, часто паракринным образом, стимулируют рост и деление клеток. В частности, для Т-клеток стимуляция ИЛ-2 после активации необходима для оптимальной клональной экспансии и стимулирующей регуляции антиапоптотических сигналов. Исследования подтвердили возможность применения ИЛ-2 в качестве иммунотерапевтического средства при раке. Однако одним из существенных недостатков монотерапии ИЛ-2 является его токсичность. Кроме того, ИЛ-2 имеет очень короткий период полужизни в сыворотке (несколько минут) и, следовательно, должен вводиться системно в чрезвычайно высоких дозах (более 600 000 МЕ/кг) и с высокой частотой (несколько раз в день), чтобы проявлять эффективность. При указанных дозах и частоте введения дозы лечение

ИЛ-2 может приводить, *например*, но не ограничиваясь перечисленным, к синдрому сосудистой утечки, гипотензии и токсичности для сердца.

Пример 5а: Однократная доза ВПГ-ИЛ2

[0345] Цель этого исследования заключалась отчасти в оценке экспрессии трансгена в легких и сыворотке через 24 часа после интратрахеального введения ВПГ-ИЛ2 по сравнению с введением рекомбинантного белка. Молодым (8–10 недель) животным BALB/c вводили однократную дозу ВПГ-ИЛ2 интратрахеально (и/т). Оценивали экспрессию ИЛ-2 для трех разных доз ВПГ-ИЛ2 с помощью анализа на нуклеиновую кислоту и белок в ткани легких, жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ) и сыворотке. Кроме того, одна группа животных получала рекомбинантный белок ИЛ-2 в качестве способа сравнения локальной доставки ВПГ-ИЛ2 с ранее изученными путями введения. Все процедуры были описаны выше (*например*, см. пример 4 выше). В таблице 4 представлен краткий обзор дизайна эксперимента.

Таблица 4. Дизайн исследования и введение тестируемого препарата (ТП)

№ группы	Общее количество животных	Животное №	Название ТП	БОЕ или доза	Общий объем ТП/животное	Путь введения	День дозирования	Прекрытие	Получение данных
1	3	1, 2, 3	Основа	-	50 мл	И/Т	День 0 День 1 (через 24 часа после лечения)		кПЦР, кРВ-ПЦР, ИФА ELISA
2	3	4, 5, 6	Высокая доза	2,1Е8 БОЕ	50 мл	И/Т			
3	3	7, 8, 9	Средняя доза	4,2Е7 БОЕ	50 мл	И/Т			
4	3	10, 11, 12	Низкая доза	8,4Е6 БОЕ	50 мл	И/Т			
5	3	13, 14, 15	И/Т рИЛ-2	48 нг	50 мл	И/Т			
6	3	16, 17, 18	В/в рИЛ-2	48 нг	100 мл	В/В			

И/Т – интратрахеальное введение; В/В – внутривенное введение

[0346] Результаты этого исследования предполагают отсутствие различий в массе тела между группами (**Фиг. 5А**). кПЦР-анализ ткани легкого после умерщвления показал, что уровни геномов *il2* демонстрируют прямую связь с введенной дозой через 24 часа после лечения (**Фиг. 5В**). Хотя уровни геномов *il2* различались в разных группах лечения, уровни транскрипта *il2* были сопоставимы независимо от дозы (**Фиг. 5С**). Эти результаты были аналогичны

результатам, наблюдаемым при введении однократной дозы ВПГ-ИЛ12 у здоровых мышей (Фиг. 4В–4С), что демонстрирует стабильность работы вектора независимо от инсертированного трансгена. Что касается уровней белка, хотя ИЛ-2 был детектирован в сыворотке (Фиг. 5D), уровни в легких, измеренные для ЖБАЛ (Фиг. 5Е), были более чем в 10 раз выше, что указывает на более выраженную экспрессию в целевой ткани при ограниченном системном воздействии. Хотя уровни белка ИЛ-2 в гомогенатах легких демонстрировали некоторую вариабельность у разных животных, эти уровни были детектируемыми и относительно высокими по сравнению с животными, получавшими рекомбинантный белок (Фиг. 5F). Кроме того, уровни белка ИЛ-2 были недетектируемыми в гомогенатах легких через 24 часа после в/в инъекции рекомбинантного ИЛ-2, наиболее вероятно, из-за его короткого периода полужизни. Эти данные свидетельствуют о длительном эффекторном воздействии ВПГ-ИЛ2 по сравнению с терапией рекомбинантным белком.

[0347] В совокупности эти данные показали, что инфицирование ВПГ-ИЛ2 приводило к экспрессии полноразмерного функционального ИЛ-2 мышца. Кроме того, и/т введение ВПГ-ИЛ2 приводило к высоким уровням белка ИЛ-2 в целевом органе (легком) при ограниченном системном воздействии (измеряемом по сыворотке).

Пример 5b: Фармакокинетика ВПГ-ИЛ2

[0348] Цель этого исследования заключалась отчасти в количественном измерении кинетики трансдукции вектором и экспрессии ИЛ-2 в тканях легких и жидкостях, собранных у здоровых мышей после введения однократной дозы ВПГ-ИЛ2 интратрахеально (и/т).

[0349] Все процедуры были описаны выше (например, см. пример 4 выше). В таблице 5 представлен краткий обзор дизайна эксперимента.

Таблица 5: Дизайн исследования и введение тестируемого препарата (ТП)

№ группы	Общ. количество животных	Животное №	Название ТП	БОЕ	Общий объем ТП/животное	Путь введения	День дозирования	Прекращение	Получение данных
1	3	1, 2, 3	Основа	-	50 мкл	и/т	День 0	48 ч. п. и/т День 2	кПЦР/Р В-кПЦР, ИФА ELISA
2	3	4, 5, 6	ВПГ-ИЛ2	4,2 Е7	50 мкл	и/т	День 0	4 ч. п. и/т (День 0)	кПЦР/Р В-кПЦР,

3	3	7, 8, 9		БОЕ				8 ч. п. и/т (День 0)	ИФА ELISA
4	3	10, 11, 12					24 ч. п. и/т (День 1)		
5	3	13, 14, 15					48 ч. п. и/т День 2		
6	3	16, 17, 18					72 ч. п. и/т (День 3)		
7	3	19, 20, 21					96 ч. п. и/т (День 4)		
и/т: интратрахеальное введение; ч. п. и/т: часы после интратрахеального введения									

[0350] Результаты этого исследования показаны на **Фиг. 5G-5I** и демонстрируют фармакокинетику экспрессии ИЛ-2 в сыворотке (**Фиг. 5G**), ЖБАЛ (**Фиг. 5H**) и лизате (**Фиг. 5I**) после интратрахеального введения одной дозы ВПГ-ИЛ2. В целом, эти результаты показали, что уровни белка ИЛ-2 достигают пика через 24 часа после и/т введения ВПГ-ИЛ2 и снижаются в период от 24 до 48 часов после введения, что может быть связано со снижением трансляции трансгена, коротким периодом полужизни ИЛ-2 или комбинацией перечисленного. Однако экспозиция белка ИЛ2 у этих животных было значительно более продолжительной при экспрессии с вектора по сравнению с терапией рекомбинантным белком.

Пример 6: интратрахеальное введение и *in vivo* оценка ВПГ-ГМКСФ у здоровых мышей

[0351] Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ) представляет собой мономерный цитокин, который играет критическую роль в активации и миграции миелоидных клеток в сайты воспаления. Что касается терапии рака, было показано, что ГМ-КСФ эффективно активировать противоопухолевые иммунные ответы, в частности, в случаях резистентности к химиотерапии, помимо улучшения восстановления нейтрофилов после химиотерапии. Что касается метастазирования ОС в легкие, в клиническом исследовании для изучения ингаляционной терапии ГМ-КСФ была установлена возможность введения разделенных на несколько приемов суточных доз у пациентов при ограниченной токсичности.

Пример 6а: Одна доза ВПГ-ГМКСФ

[0352] Цель этого исследования заключалась, в частности, в оценке экспрессии трансгена ГМ-КСФ через 24 и 48 часов после интратрахеального введения ВПГ-ГМКСФ по сравнению с рекомбинантным белком для определения оптимальной дозы, обеспечивающей ограниченную токсичность и устойчивую экспрессию ГМ-КСФ.

[0353] Молодым (8-10 недель) животным BALB/c вводили одну дозу ВПГ-ГМКСФ интратрахеально (и/т). Три разных дозы ВПГ-ГМКСФ оценивали на экспрессию ГМ-КСФ с помощью анализа на нуклеиновую кислоту и белок в легочной ткани, жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ) и сыворотке. Кроме того, группа животных получала рекомбинантный белок ГМ-КСФ в качестве способа сравнения местной доставки ВПГ-ГМКСФ с ранее изученными путями введения.

[0354] Все процедуры были описаны выше (например, см. пример 4 выше). В таблице 6 представлен краткий обзор дизайна эксперимента.

Таблица 6. Дизайн исследования и введение тестируемого препарата (ТП)

№ группы	Общ. количество животных	Животное №	Название ТП	БОЕ или доза	Общий объем ТП/животное	Путь введения	День дозирования	Прекращение	Получение данных
1	2	1, 2	Основа	-	50 мкл	И/Т	День 0	24 ч после И/Т введения	кПЦР, кРВ-ПЦР, ИФА ELISA
2	2	3, 4						48 часов после И/Т введения	
3	3	5, 6, 7	Высокая доза	4,88 Е8 БОЕ	50 мкл	И/Т	День 0	24 ч после И/Т введения	
4	3	8, 9, 10						48 часов после И/Т введения	
5	3	11, 12, 13	Средняя доза	9,75 Е7	50 мкл	И/Т	День 0	24 ч после И/Т	

				БОЕ				введения
6	3	14, 15, 16						48 часов после И/Т введения
7	3	17, 18, 19	Низкая доза	1,95 Е7 БОЕ	50 мкл	И/Т	День 0	24 ч после И/Т введения
8	3	20, 21, 22						48 часов после И/Т введения
9	3	23, 24, 25	рГМ- КСФ	0,6 мг	50 мкл	И/Т	День 0	24 ч после И/Т введения
10	3	26, 27, 28						48 часов после И/Т введения
ч – часы; и/т – интратрахеальное введение								

[0355] Результаты этого исследования показали, что животные в группах высокой (4,88Е8 БОЕ) и средней (9,75Е7 БОЕ) дозы продемонстрировали снижение массы тела через 48 часов после лечения (**Фиг. 6А**), что свидетельствует о токсичности. Животные в других группах не демонстрировали изменения массы тела после лечения, что указывает на отсутствие токсического эффекта от введения дозы. кПЦР-анализ ткани легких после умерщвления показал, что уровни геномов *gmcsf* демонстрировали прямую зависимость от введенной дозы как через 24 часа, так и через 48 часов после лечения (**Фиг. 6В**). Хотя уровни генома *gmcsf* различались в разных группах лечения, уровни транскрипта *gmcsf* были сопоставимыми независимо от дозы (**Фиг. 6С**). Кроме того, в сыворотке (**Фиг. 6D**) животных, получавших ВПГ-ГМКСФ, были детектированы низкие уровни ГМ-КСФ; однако эти уровни были примерно в 40 раз ниже, чем в ЖБАЛ (**Фиг. 6Е**), что, опять же, демонстрирует ограниченное системное воздействие. Анализ гомогенатов легких выявил детектируемые уровни ГМ-КСФ как через 24 часа, так и через 48 часов после введения, со снижением в период между двумя этими точками времени (**Фиг. 6F**).

[0356] В совокупности эти данные показали, что инфицирование ВПГ-ГМКСФ приводило к экспрессии полноразмерного ГМ-КСФ мышцы.

Пример 6b: Ежедневное дозирование ВПГ-ГМКСФ

[0357] Целью данного исследования отчасти была оценка токсичности однократного ежедневного интратрахеального введения ВПГ-ГМКСФ по сравнению с введением рекомбинантного белка ГМ-КСФ в течение трех недель. Все процедуры были описаны выше (например, см. пример 4 выше). В таблице 7 представлен краткий обзор дизайна эксперимента.

[0358] Перед каждым введением и перед умерщвлением при завершении исследования регистрировали массу тела животных. Умерщвление при окончании исследования осуществляли через 24 часа после последней дозы (день 15). ЖБАЛ и связанные с ним клетки, сыворотку и легкие собирали для последующего анализа.

Таблица 7. Дизайн исследования и введение тестируемого препарата (ТП)

№ группы	Общее кол-во животных	Животное №	Название ТП	БОЕ или доза	Общий объем ТП/животное	Путь введения	День дозирования	Преграждение	Получение данных
1	2	1, 2	Основа	--	50 мл	И/Т	День 0 День 7 День 14 День 15	День 15	БАЛ, ELISA, кПЦР/кРВ -ПЦР
2	2	3, 4							гистология
3	3	5, 6, 7	Доза №1	1,95Е7	50 мл	И/Т			БАЛ, ELISA, кПЦР/кРВ -ПЦР
4	3	8, 9, 10							гистология
5	3	11, 12, 13	Доза №2	3,9Е6	50 мл	И/Т			БАЛ, ELISA, кПЦР/кРВ -ПЦР
6	3	14, 15, 16							гистология
7	3	17, 18, 19	рГМ-	0,6 мг	50 мл	И/Т			БАЛ,

			КСФ суспе нзия						ELISA, кПЦР/кРВ -ПЦР
8	3	20, 21, 22							гистологи я
И/Т – Интратрахеальное введение									

[0359] Как показано на **Фиг. 6G**, у животных в группе дозы №1 или дозы №2 сохранялась приблизительно одинаковая масса тела на протяжении всего исследования, что указывает на хорошую переносимость как дозы №1, так и дозы №2. кПЦР-анализы легочной ткани показали, что различия в геномах и транскриптах *gmcsf* между группами дозирования ВПГ-ГМКСФ не были статистически значимыми (**Фиг. 6H-6I**). В совокупности эти результаты свидетельствуют об эффективной экспрессии трансгена для обеих вводимых доз.

[0360] При оценке уровней белка ГМ-КСФ было также определено, что, хотя при лечении ВПГ-ГМКСФ наблюдалось некоторое системное воздействие ГМ-КСФ (уровни в сыворотке; **Фиг. 6J**), оно было минимальным по сравнению с местной экспрессией/воздействием (ЖБАЛ; **Фиг. 6K**).

[0361] В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что ВПГ-ГМКСФ хорошо переносился после еженедельного интратрахеального введения в указанных дозах.

Пример 7: создание модели остеосаркомы *in vivo* на мышах

[0362] Остеосаркома (ОС) является наиболее распространенным типом рака кости, диагностируемым в клинике, в основном возникающим у детей и молодых людей. Что касается заболеваемости, ежегодно диагностируют 3,4 случая на миллион человек, что делает ОС относительно редким злокачественным новообразованием. Тем не менее, при заболеваемости 5,6 случаев на миллион детей (<15 лет) это третий по распространенности вид рака у молодых людей.

[0363] ОС происходит из злокачественных веретенообразных стромальных клеток, способных продуцировать костноподобные ткани. Обычно ОС относят к одной из трех групп: остеобластические, хондробластические или фибробластические ОС, на основе характеристик преобладающего типа клеток опухоли. 80% случаев начинаются в метафизе (локализация пластинки роста) длинных костей, включая проксимальный отдел большеберцовой кости, проксимальный отдел плечевой кости и дистальный отдел бедренной кости. Хотя и редко, случаи ОС также наблюдались в позвоночнике и тазовых костях.

[0364] Основным сайтом метастазирования ОС является легкое, где, по оценкам, у 20% пациентов с ОС имеется метастатическое заболевание на момент постановки диагноза. К сожалению, наличие метастазов в легкие существенно влияет на 5-летнюю выживаемость пациентов, снижая ее с 70% у пациентов без метастазов до 30%. Стандартным методом лечения при легочных метастазах ОС является резекция легкого; однако в клинических испытаниях исследуется применение других видов монотерапии и комбинированной терапии.

[0365] Для изучения прогрессирования опухоли и эффективности лечения было разработано несколько доклинических моделей на животных, включая модель опухоли K7M2 на мышах BALB/c. Клетки K7M2 являются производными клетками спонтанно возникающей остеосаркомы у мышей BALB/c; однако они отличаются от исходной линии тем, что их инокуляция приводит к летальным метастазам в легкие у >90% инокулированных животных. Так как это сингенная опухоль, ее инокуляция иммунокомпетентным животным BALB/c также позволяет изучать рост и регрессию опухоли при наличии полностью интактной иммунной системы. Вместе эти характеристики делают ее подходящей моделью метастазирования остеосаркомы человека в легкие, для предварительных исследований в рамках разработки лекарственных средств при этих показаниях.

[0366] Целью этого исследования было создание ранее описанной модели метастазирования остеосаркомы в легкие K7M2 BALB/c после внутривенного введения клеток K7M2 и изучение кинетики метастазирования опухоли. Все процедуры были описаны выше (например, см. пример 4 выше). В таблице 8 представлен краткий обзор дизайна эксперимента.

Таблица 8. Дизайн исследования и введение тестируемого препарата (ТП)

№ группы	Общее количество животных	Животное №	Название ТП	Дозирование ТП	Общий объем ТП на животное	Путь введения	День дозирования	Прекращение	Получение данных
1	2	1, 2	Основа	--	100 мкл	В/В	День 0	3 недели	Масса легких
2	2	3, 4							гистология
3	2	5, 6						6 недель	Масса легких
4	2	7, 8							гистология

									гия
5	5	9, 10, 11, 12, 13,	K7M2	Общее кол-во клеток 1Е6	100 мкл	В/В	День 0	3 недели	Масса легких
6	2	14, 15							гистоло гия
7	5	16, 17, 18, 19, 20,						6 недель	Масса легких
8	2	21, 22							гистоло гия

[0367] Как показано на **Фиг. 7А-7С**, хотя масса тела (**Фиг. 7А**) оставалась относительно неизменной во всех группах на протяжении всего исследования, масса легких увеличивалась у мышей-реципиентов опухоли как через 3 недели (**Фиг. 7В**), так и через 6 недель (**Фиг. 7С**) после инокуляции клеток K7M2. Кроме того, гистологический анализ в легких реципиента K7M2 через 6 недель после инокуляции выявил опухолевую нагрузку с признаками метастазирования опухоли более чем в 90% кровеносных сосудов, наряду с образованием частичных тромбов (**Фиг. 7D-7G**).

[0368] В совокупности эти данные указывают на формирование модели метастазирования остеосаркомы в легкие K7M2 BALB/c после внутривенного введения клеток K7M2 с увеличенной массой легких и подтвержденным образованием опухоли в легких.

Пример 8. Эффективность ВПГ-ИЛ12 в модели остеосаркомы на мышах *in vivo*

[0369] Цель этого исследования заключалась, в частности, в оценке эффективности интратрахеального введения ВПГ-ИЛ12 для ингибирования роста развитой метастатической опухоли остеосаркомы легкого. Все процедуры были описаны выше (*например, см. пример 4* выше). В таблице 9 представлен краткий обзор дизайна эксперимента.

Таблица 9. Дизайн исследования

№ группы	Общее кол-во животных	Животное №	Инокулирующий агент/Путь	День инокуляции	Название ТП/доза	Общий объем ТП/Путь введения	Дни дозирования ТП	Преграждение	Получение данных
----------	-----------------------	------------	--------------------------	-----------------	------------------	------------------------------	--------------------	--------------	------------------

						ния			
1	5	1, 2, 3, 4, 5,	1X ФСБ, в/в	День 0	--	--	День 21 День 28 День 35	День 42	Масса легких кПЦР кРВ- ПЦР
2	5	6, 7, 8, 9, 10,	К7М2, 1,0Е6 клеток, в/в		Основ а	50 мл			Масса легких кПЦР кРВ- ПЦР
3	5	11, 12, 13, 14, 15,	К7М2, 1,0Е6 клеток, в/в		ВПГ- ИЛ12 3,73Е7 БОЕ	И/Т			Масса легких кПЦР кРВ- ПЦР
4	5	16, 17, 18, 19, 20,	К7М2, 1,0Е6 клеток, в/в		рМИЛ- 12 0,5 мг	50 мл, в/в			Масса легких кПЦР кРВ- ПЦР
5	5	21, 22, 23, 24, 25,	К7М2, 1,0Е6 клеток, в/в		Суспен зия ИЛ-12 48 нг	50 мл, и/т			Масса легких кПЦР кРВ- ПЦР
И/Т – интратрахеальный; В/В - внутривенный									

[0370] Как показано на **Фиг. 8А-8В**, хотя масса тела (**Фиг. 8А**) оставалась относительно неизменной во всех группах на протяжении всего исследования, масса легких была увеличена у мышей через 6 недель после инокуляции клеток К7М2 (**Фиг. 8В**). Примечательно, что интратрахеальное введение ВПГ-ИЛ12 ослабляло опосредованное К7М2 увеличение массы легких (**Фиг. 8В**). Кроме того, хотя все пять животных, получавших ВПГ-ИЛ12, дожили до точки времени запланированного умерщвления, двое животных, получавших основу, умерли в начальный период исследования. ВПГ-ИЛ12, по-видимому, имел сопоставимую с терапией рекомбинантными белками эффективность.

[0371] В совокупности эти данные могут свидетельствовать о том, что ВПГ-ИЛ12 был эффективен для ингибирования роста сформировавшейся метастатической опухоли остеосаркомы легкого.

Пример 9: интратрахеальное введение и оценка *in vivo* комбинации ВПГ-ИЛ12 + ВПГ-ГМКСФ один раз в неделю у здоровых мышей

[0372] Цель этого исследования заключалась, в частности, в оценке токсичности введения один раз в неделю интратрахеально комбинации экспрессирующих цитокины (ИЛ-12 и ГМКСФ) нереплицирующихся векторов на основе ВПГ-1 у здоровых мышей. Все процедуры были описаны выше (*например, см. пример 4 выше*). В таблице 10 представлен краткий обзор дизайна эксперимента.

№ группы	Общее кол-во животных	Животное №	Группа дозирования	ТП	Доза (БОЕ)	Объем и Путь введения	День дозирования	Преграждение	Получение данных
1	2	1, 2	Основа	-	--				кПЦР/кРВ-ПЦР
2	3	3, 4							ИФА ELISA
3	3	5, 6, 7	Высокая доза	ВПГ-ИЛ12 +	3,73 Е7	50 мкл	День 0	День 9	кПЦР/кРВ-ПЦР
4	2	8, 9			1,95 Е7				и/т
5	3	10, 11, 12	Средняя доза	ВПГ-ГМКСФ	7,46 Е6				кПЦР/кРВ-ПЦР
6	2	13, 14			3,9Е6				гистология
7	3	15, 16, 17	Рекомбинантный белок	рИЛ-12	48 нг				кПЦР/кРВ-ПЦР ИФА

				+	+				ELISA
8	2	18, 19		pГМ- КСФ	2,5 нг				гистоло гия
и/т: интратрахеальное введение									

Таблица 10. Дизайн исследования

[0373] Результаты этого исследования показали, что животные в группе высоких доз продемонстрировали достаточно резкую потерю веса после каждой из еженедельных доз, вводимых на 0 и 7 дни (Фиг. 9А). Это было достаточно неожиданно, с учетом того, что при индивидуальном введении ни одна из высоких доз ВПГ-ГМКСФ и ВПГ-ИЛ12 не была токсичной после введений один раз в неделю. С другой стороны, животные в группе средней дозы не демонстрировали изменения массы тела после лечения, что указывает на отсутствие токсического эффекта указанной дозы. Белковый анализ для оценки экспрессии ИЛ-12 и ГМ-КСФ после комбинированного лечения выявил высокие уровни обоих цитокинов в ЖБАЛ (Фиг. 9В-9С) и гомогенатах легких (Фиг. 9D-9Е) у животных, получавших высокую дозу обоих вирусов. Наблюдалось снижение концентраций обоих цитокинов в каждом из образцов легких животных, получавших среднюю дозу, по сравнению с группой, получавшей высокую дозу (Фиг. 9В-9Е), что указывает на влияние дозы на экспрессию трансгенов. Наконец, подсчет клеток в клеточном инфильтрате в ЖБАЛ показал, что лечение высокими дозами приводило к большему притоку иммунных клеток в ткань (Фиг. 9F), потенциально способствуя токсичности, примером которой является снижение массы тела у этих животных (Фиг. 9G).

[0374] В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что введение один раз в неделю нереплицирующихся векторов на основе ВПГ-1 ВПГ-ИЛ12 + ВПГ-ГМКСФ приводило к экспрессии полноразмерных ИЛ-12 и ГМ-КСФ мыши, которые в дозах 7,46Е6 и 3,9Е6, соответственно, хорошо переносятся здоровыми животными.

Пример 10. Эффективность комбинации ВПГ-ИЛ12 и ВПГ-ГМКСФ в модели остеосаркомы на мышах *in vivo*

[0375] Цель этого исследования заключалась, в частности, в оценке эффективности комбинированной терапии путем интратрахеального введения ВПГ-ИЛ12 и ВПГ-ГМКСФ для ингибирования роста развившейся метастатической опухоли остеосаркомы легкого. Все процедуры были описаны выше (например, см. пример 4 выше). В таблице 11 представлен краткий обзор дизайна эксперимента.

Таблица 11. Дизайн исследования

№ группы	Общее количество животных	Животное №	Инокуляция	ТП	Доза	Объем и Путь введения	День дозирования	Прекращение	Получение данных
1	5	1, 2, 3, 4, 5,	--	--	--	--	--		
2	5	6, 7, 8, 9, 10,	Опухоли К7М2 100 мл 1,0Е6 клеток в/в день 0	Основа	--	50 мл и/т	День 21	День 42	Масса тела Масса легких
3	5	11, 12, 13, 14, 15,		Рекомбинантный белок	48 нг ИЛ-12 2,5 нг ГМ-КСФ		День 28 День 35		
4	5	16, 17, 18, 19, 20,		ВПГ-ИЛ12	7,46Е6 БОЕ		День 22		
5	5	21, 22, 23, 24, 25,		ВПГ-ГМКСФ	3,9Е6 БОЕ		День 29		
6	5	26, 27, 28, 29, 30,		ВПГ-ИЛ12 + ВПГ-ГМКСФ	7,46Е6 БОЕ 3,9Е6 БОЕ		День 36		
и/т: интратрахеальное введение; в/в: внутривенное введение									

[0376] Как показано на **Фиг. 10А**, в ходе исследования действительно наблюдались некоторые колебания массы тела животных, что указывает на развитие у животных заболевания (**Фиг. 10А**). Что касается выживаемости, введение ВПГ-ГМКСФ мышам-носителям опухолей приводило к значимому снижению показателя выживаемости по сравнению со всеми другими видами терапии, применяемыми у животных, которым инокулировали К7М2, включая введение только основы (**Фиг. 10В**). Результаты, показанные на **Фиг. 10В**, были неожиданными, учитывая одобрение применения у человека реплицирующегося вирусного вектора, кодирующего ГМ-КСФ, для лечения метастатической меланомы. Кроме того,

несмотря на видимую неэффективность терапии ВПГ-ГМКСФ, лечение ВПГ-ИЛ12 мышей-носителей опухоли улучшало выживаемость по сравнению с контрольными животными, получавшими основу, и продлевало выживаемость животных, подвергшихся воздействию экзогенного ГМ-КСФ (Фиг. 10В). Важно отметить, что одно животное в группе лечения ВПГ-ИЛ-12 было умерщвлено из соображений гуманности по причине опухолей, препятствующих подвижности; однако, когда указанное животное подвергли вскрытию, видимые опухоли в легких отсутствовали.

[0377] Эти данные свидетельствуют, что ВПГ-ИЛ12 потенциально способен ограничивать рост развившейся метастатической опухоли легкого.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Геном рекомбинантного вируса герпеса, содержащий один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид.
2. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 1, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса герпеса является репликативно-компетентным.
3. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 1, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса герпеса является репликативно-дефектным.
4. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 1–3, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса герпеса выбран из группы, состоящей из генома рекомбинантного вируса простого герпеса, генома рекомбинантного вируса ветряной оспы, генома рекомбинантного цитомегаловируса человека, генома рекомбинантного вируса герпеса 6А, генома рекомбинантного вируса герпеса 6В, генома рекомбинантного вируса герпеса 7, генома рекомбинантного вируса Эпштейна-Барр, генома рекомбинантного вируса герпеса, ассоциированного с саркомой Капоши, и любых их производных.
5. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 1–4, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса герпеса представляет собой геном рекомбинантного вируса простого герпеса.
6. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 5, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса представляет собой геном рекомбинантного вируса простого герпеса типа 1 (ВПГ-1), геном рекомбинантного вируса простого герпеса типа 2 (ВПГ-2) или любые их производные.
7. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 5 или п. 6, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса представляет собой геном рекомбинантного вируса простого герпеса типа 1 (ВПГ-1).
8. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 4–7, отличающийся тем, что геном рекомбинантного вируса простого герпеса сконструирован так, чтобы снижать или элиминировать экспрессию одного или более токсичных генов вируса простого герпеса.
9. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 4–8, отличающийся тем, что геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию.

10. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 9, отличающийся тем, что указанная инактивирующая мутация находится в гене вируса простого герпеса.
11. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 10, отличающийся тем, что указанная инактивирующая мутация представляет собой делецию кодирующей последовательности гена вируса простого герпеса.
12. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 10 или п. 11, отличающийся тем, что указанный ген вируса простого герпеса выбран из группы, состоящей из белка инфицированных клеток (ICP) 0, ICP4, ICP22, ICP27, ICP47, тимидинкиназы (tk), длиной уникальной области (UL) 41 и UL55.
13. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 12, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в одной или обеих копиях гена ICP4.
14. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 12 или п. 13, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене ICP22.
15. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 12–14, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене UL41.
16. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 12–15, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в одной или обеих копиях гена ICP0.
17. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 12–16, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене ICP27.
18. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 12–17, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит инактивирующую мутацию в гене UL55.
19. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 12–18, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса не содержит инактивирующей мутации в гене ICP47.

20. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 12–19, отличающийся тем, что указанный рекомбинантный вирус простого герпеса не содержит инактивирующей мутации в одной или обеих копиях гена ICP34.5.
21. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 4–20, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в одном или обоих локусах вирусного гена ICP4.
22. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 4–21, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в локусе вирусного гена ICP22.
23. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 4–22, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в локусе вирусного гена UL41.
24. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 4–23, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в одном или обоих локусах вирусного гена ICP0.
25. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 4–24, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в локусе вирусного гена ICP27.
26. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 4–25, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса простого герпеса содержит один или более полинуклеотидов, кодирующих иммуномодулирующий полипептид, в локусе вирусного гена UL55.
27. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 1–26, отличающийся тем, что указанный иммуномодулирующий полипептид представляет собой иммуномодулирующий полипептид человека.

28. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 1–27, отличающийся тем, что указанный иммуномодулирующий полипептид представляет собой цитокин или хемокин.
29. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 28, отличающийся тем, что указанный цитокин представляет собой провоспалительный цитокин.
30. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 28 или п. 29, отличающийся тем, что указанный цитокин выбран из группы, состоящей из интерлейкина (ИЛ)-1, ИЛ-2, ИЛ-7, ИЛ-12, ИЛ-13, ИЛ-15, ИЛ-17, ИЛ-18, ИЛ-28, ИЛ-32, ИЛ-33, ИЛ-34, фактора некроза опухоли альфа (ФНО- α), интерферона гамма (ИФН- γ), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) и гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ).
31. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 28 или п. 29, отличающийся тем, что указанный цитокин представляет собой ИЛ-2.
32. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 31, отличающийся тем, что указанный ИЛ-2 содержит последовательность, имеющую 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 100% идентичность последовательности аминокислот SEQ ID NO: 3.
33. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 28 или п. 29, отличающийся тем, что указанный цитокин представляет собой ИЛ-12.
34. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 33, отличающийся тем, что указанный ИЛ-12 содержит последовательность, которая по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или 100% идентична последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 5, 6 и 85.
35. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 28 или п. 29, отличающийся тем, что указанный цитокин не представляет собой гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (ГМ-КСФ).

36. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 28, отличающийся тем, что указанный хемокин представляет собой провоспалительный хемокин.
37. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 28 или п. 34, отличающийся тем, что указанный хемокин выбран из группы, состоящей из хемокинового (с С-Х-С-мотивом) лиганда 1 (CXCL1), CXCL2, CXCL8, CXCL9, CXCL11, CXCL16, хемокинового лиганда с С-С-мотивом 2 (CCL2), CCL3, CCL4, CCL5 и CCL11.
38. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 1–37, отличающийся тем, что указанный иммуномодулирующий полипептид содержит последовательность, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентичную последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1–30.
39. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 1–37, отличающийся тем, что указанный иммуномодулирующий полипептид содержит последовательность, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентичную последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 1–19.
40. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 1–37, отличающийся тем, что указанный иммуномодулирующий полипептид содержит последовательность, по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, по меньшей мере на 91%, по меньшей мере на 92%, по меньшей мере на 93%, по меньшей мере на 94%, по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98%, по меньшей мере на 99% или на 100% идентичную последовательности аминокислот, выбранной из группы, состоящей из последовательностей SEQ ID NO: 20–30.
41. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 1–40, отличающийся тем, что указанный геном рекомбинантного вируса герпеса обладает пониженной цитотоксичностью при введении в клетку-мишень по сравнению с соответствующим геномом вируса герпеса дикого типа.

42. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 41, отличающийся тем, что указанная клетка-мишень представляет собой клетку человека.
43. Геном рекомбинантного вируса герпеса по п. 41 или п. 42, отличающийся тем, что указанная клетка-мишень представляет собой клетку дыхательных путей.
44. Геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 41–43, отличающийся тем, что указанная клетка-мишень представляет собой эпителиальную клетку дыхательных путей.
45. Вирус герпеса, содержащий геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 1–44.
46. Вирус герпеса по п. 45, отличающийся тем, что указанный вирус герпеса является репликативно-компетентным.
47. Вирус герпеса по п. 45, отличающийся тем, что указанный вирус герпеса является репликативно-дефектным.
48. Вирус герпеса по любому из пп. 45–47, отличающийся тем, что указанный вирус герпеса не является онколитическим.
49. Вирус герпеса по любому из пп. 45–48, отличающийся тем, что указанный вирус герпеса обладает пониженной цитотоксичностью по сравнению с соответствующим вирусом герпеса дикого типа.
50. Вирус герпеса по любому из пп. 45–49, отличающийся тем, что указанный вирус герпеса выбран из группы, состоящей из вируса простого герпеса, вируса ветряной оспы, цитомегаловируса человека, вируса герпеса 6А, вируса герпеса 6В, вируса герпеса 7, вируса Эпштейна-Барр и вируса герпеса, ассоциированного с саркомой Капоши.
51. Вирус герпеса по любому из пп. 45–50, отличающийся тем, что указанный вирус герпеса представляет собой вирус простого герпеса.
52. Вирус герпеса по п. 50 или п. 51, отличающийся тем, что вирус простого герпеса представляет собой вирус простого герпеса типа 1 (ВПГ-1), вирус простого герпеса типа 2 (ВПГ-2) или любые их производные.
53. Вирус герпеса по любому из пп. 50–52, отличающийся тем, что вирус простого герпеса представляет собой вирус простого герпеса типа 1 (ВПГ-1).

54. Вирус герпеса по любому из пп. 50–53, отличающийся тем, что указанный вирус простого герпеса не является онколитическим.
55. Фармацевтическая композиция, содержащая геном рекомбинантного вируса герпеса по любому из пп. 1–44 или вирус герпеса по любому из пп. 45–54, и фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество.
56. Фармацевтическая композиция по п. 55, отличающаяся тем, что указанная фармацевтическая композиция подходит для местного, чрескожного, подкожного, внутрикожного, перорального, интраназального, интратрахеального, подъязычного, буккального, ректального, вагинального, ингаляционного, внутривенного, внутриартериального, внутримышечного, внутрисердечного, внутрикостного, внутрибрюшинного, трансмукозального, интравитреального, субретинального, внутрисуставного, периартикулярного, местного или эпикутанного введения.
57. Фармацевтическая композиция по п. 55 или п. 56, отличающаяся тем, что указанная фармацевтическая композиция подходит для перорального, интраназального, интратрахеального или ингаляционного введения.
58. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 55–57, отличающаяся тем, что указанная фармацевтическая композиция подходит для интраназального или ингаляционного введения.
59. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 55–58, отличающаяся тем, что указанная фармацевтическая композиция подходит для ингаляционного введения.
60. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 55–59, отличающаяся тем, что указанная фармацевтическая композиция подходит для применения в ингаляторе сухого порошка, дозирующем ингаляторе под давлением, ингаляторе, генерирующем мягкий туман, небулайзере, электрогидродинамическом аэрозольном устройстве или любых их комбинациях.
61. Фармацевтическая композиция по любому из пп. 55–60, отличающаяся тем, что указанная фармацевтическая композиция подходит для применения в небулайзере.
62. Фармацевтическая композиция по п. 61, отличающаяся тем, что указанный небулайзер представляет собой небулайзер на основе вибрирующего сита.

63. Вирус герпеса по любому из пп. 45–54 или фармацевтическая композиция по любому из пп. 55–62 для применения в качестве лекарственного средства.
64. Вирус герпеса по любому из пп. 45–54 или фармацевтическая композиция по любому из пп. 55–62 для применения в терапии.
65. Применение вируса герпеса по любому из пп. 45–54 или фармацевтической композиции по любому из пп. 55–62 при производстве лекарственного средства для лечения рака.
66. Применение по п. 65, отличающееся тем, что указанный рак выбран из группы, состоящей из острого миелоидного лейкоза, острого лимфобластного лейкоза, аденокарциномы, уротелиального рака мочевого пузыря, глиомы ствола головного мозга, глиомы головного мозга низкой степени злокачественности, опухоли головного мозга, рака молочной железы, бронхиальных опухолей, лимфомы Беркитта, рака с неизвестным первичным сайтом, карциноидной опухоли, карциномы с неизвестным первичным сайтом, атипичной тератоидной/рабдоидной опухоли центральной нервной системы, эмбриональных опухолей центральной нервной системы, плоскоклеточной карциномы шейки матки, эндоцервикальной аденокарциномы, рака детского возраста, холангиокарциномы, хордомы, хронического лимфоцитарного лейкоза, хронического миелолейкоза, хронических миелопролиферативных заболеваний, рак толстой кишки, рака ободочной и прямой кишки, краниофарингиомы, кожной Т-клеточной лимфомы, эндокринных опухолей островковых клеток поджелудочной железы, рака эндометрия, эпендимобластомы, эпендимомы, рака пищевода, эстезионеробластомы, саркомы Юинга, экстракраниальной герминогенной опухоли, экстрагонадальной герминогенной опухоли, внепеченочного рака желчных протоков, рака желчного пузыря, рака желудка, карциноидной опухоли желудочно-кишечного тракта, стромально-клеточной опухоли желудочно-кишечного тракта, стромальной опухоли желудочно-кишечного тракта, гестационной трофобластной опухоли, мультиформной глиобластомы, лейкоза из ворсистых клеток, рака головы и шеи, рака сердца, лимфомы Ходжкина, рака гортани, внутриглазной меланомы, опухолей островковых клеток, саркомы Капоши, рака почки, гистиоцитоза клеток Лангерганса, рака гортани, рака губы, рака печени, лимфоидной неопластической диффузной В-крупноклеточной лимфомы, злокачественной фиброзной гистиоцитомы кости, медуллобластомы, медуллоэпителиомы, меланомы, карциномы Меркеля, карциномы кожи Меркеля, мезотелиомы, метастатического плоскоклеточного рака шеи с неизвестным первичным очагом, рака ротовой полости,

синдромов множественной эндокринной неоплазии, множественной миеломы, множественной миеломы/плазмноклеточного новообразования, фунгоидного микоза, миелодиспластических синдромов, миелопролиферативных новообразований, рака носовой полости, рака носоглотки, нейробластомы, неходжкинской лимфомы, немеланомного рака кожи, немелкоклеточного рака легкого, рака полости рта, рака ротоглотки, остеосаркомы, других опухолей головного и спинного мозга, рака яичника, эпителиального рака яичника, герминогенной опухоли яичника, опухоли яичника с низким злокачественным потенциалом, рака поджелудочной железы, папилломатоза, рака околоносовых пазух, рака паразитовидной железы, рака таза, рака полового члена, рака глотки, феохромоцитомы и параганглиомы, паренхиматозных опухолей шишковидной железы с промежуточным уровнем дифференцировки, пинеобластомы, опухоли гипофиза, плазмноклеточного новообразования/множественной миеломы, плевропульмональной бластомы, первичной лимфомы центральной нервной системы, первичного гепатоцеллюлярного рака печени, рака предстательной железы, такого как аденокарцинома предстательной железы, рака прямой кишки, рака почки, почечно-клеточного рака, рака дыхательных путей, ретинобластомы, рабдомиосаркомы, рака слюнной железы, саркомы, синдрома Сезари, меланомы кожи, мелкоклеточного рака легких, рака тонкой кишки, саркомы мягких тканей, плоскоклеточной карциномы, плоскоклеточного рака шеи, рака желудка, супратенториальных примитивных нейроэктодермальных опухолей, Т-клеточной лимфомы, рака яичка, герминогенных опухолей яичка, рака горла, карциномы вилочковой железы, тимомы, рака щитовидной железы, переходно-клеточного рака, переходно-клеточного рака почечной лоханки и мочеточника, трофобластической опухоли, рака мочеточника, рака уретры, рака матки, рака матки, увеальной меланомы, рака влагалища, рака вульвы, макроглобулинемии Вальденстрема и опухоли Вильмса.

67. Способ экспрессии, усиления, повышения, увеличения и/или дополнения уровней иммуномодулирующего полипептида в одной или более клетках субъекта, включающий введение указанному субъекту эффективного количества вируса герпеса по любому из пп. 45–54 или фармацевтической композиции по любому из пп. 55–62.

68. Способ по п. 67, отличающийся тем, что одна или более клеток представляют собой одну или более клеток дыхательных путей, эпителия дыхательных путей и/или легкого.

69. Способ обеспечения профилактического, паллиативного или терапевтического облегчения одного или более признаков или симптомов рака у нуждающегося в этом

субъекта, включающий введение указанному субъекту эффективного количества вируса герпеса по любому из пп. 45–54 или фармацевтической композиции по любому из пп. 55–62.

70. Способ лечения рака у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение указанному субъекту эффективного количества вируса герпеса по любому из пп. 45–54 или фармацевтической композиции по любому из пп. 55–62.

71. Способ по п. 69 или п. 70, отличающийся тем, что указанный рак выбран из группы, состоящей из карциномы, лимфомы, бластомы, саркомы, нейроэндокринной опухоли, мезотелиомы, шванномы, менингиомы, аденокарциномы, меланомы, лейкоза и лимфоидного злокачественного новообразования.

72. Способ по любому из пп. 69–71, отличающийся тем, что указанный рак выбран из группы, состоящей из солидной опухоли, гематологического рака, рака мочевого пузыря, рака головного мозга, рака молочной железы, рака толстой кишки, рака желудка, глиомы, рака головы, лейкоза, рака печени, рака легкого, лимфомы, миеломы, рака шеи, рака яичника, меланомы, рака поджелудочной железы, рака почки, рака слюнной железы, рака желудка, эпителиального рака вилочковой железы и рака щитовидной железы.

73. Способ по любому из пп. 69–72, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой мелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого, аденокарциному легкого или плоскоклеточную карциному легкого.

74. Способ по любому из пп. 69–73, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого.

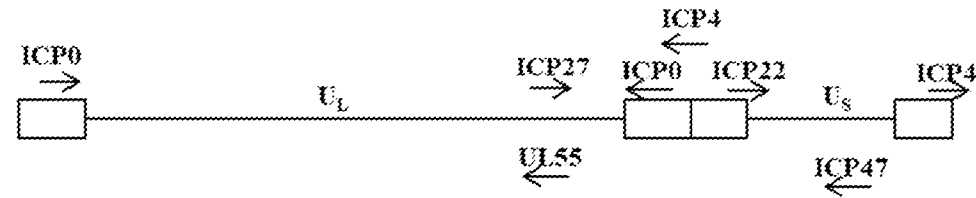
75. Способ по любому из пп. 69–72, отличающийся тем, что указанный рак представляет собой остеосаркому.

76. Способ по любому из пп. 67–75, отличающийся тем, что субъект представляет собой человека.

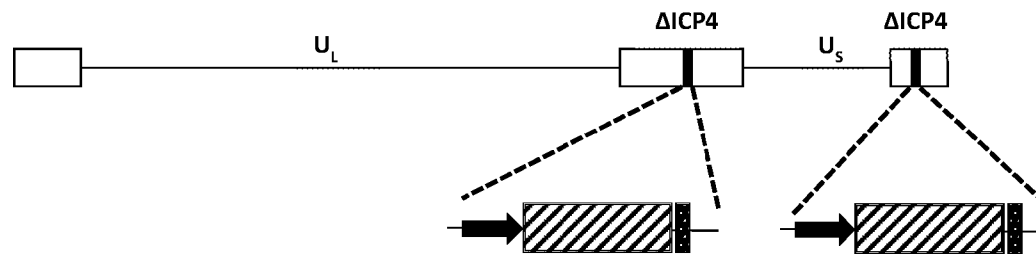
77. Способ по любому из пп. 67–76, отличающийся тем, что указанный вирус герпеса или указанную фармацевтическую композицию вводят указанному субъекту местно, чрескожно, подкожно, эпикутанно, внутрикожно, перорально, сублингвально, буккально, ректально, вагинально, внутривенно, внутриартериально, внутримышечно, внутрикостно, внутрисердечно, внутрибрюшинно, трансмукозально, интравитреально, субретинально, внутрисуставно, периартикулярно, интратуморально, локально или путем ингаляции.

78. Способ по любому из пп. 67–77, отличающийся тем, что указанный вирус герпеса или указанную фармацевтическую композицию вводят указанному субъекту перорально, интраназально, интратрахеально или путем ингаляции.
79. Способ по любому из пп. 67–78, отличающийся тем, что указанный вирус герпеса или указанную фармацевтическую композицию вводят указанному субъекту интраназально или путем ингаляции.
80. Способ по любому из пп. 67–79, отличающийся тем, что указанный вирус герпеса или указанную фармацевтическую композицию вводят указанному субъекту путем ингаляции.
81. Способ по любому из пп. 67–80, отличающийся тем, что указанный вирус герпеса или указанную фармацевтическую композицию вводят с использованием ингалятора с сухим порошком, дозирующего ингалятора под давлением, ингалятора, генерирующего мягкий туман, небулайзера или электрогидродинамического аэрозольного устройства.
82. Способ по любому из пп. 67–81, отличающийся тем, что указанный вирус герпеса или указанную фармацевтическую композицию вводят с использованием небулайзера.
83. Способ по п. 82, отличающийся тем, что указанный небулайзер представляет собой небулайзер на основе вибрирующего сита.

Фиг. 1А



Фиг. 1В

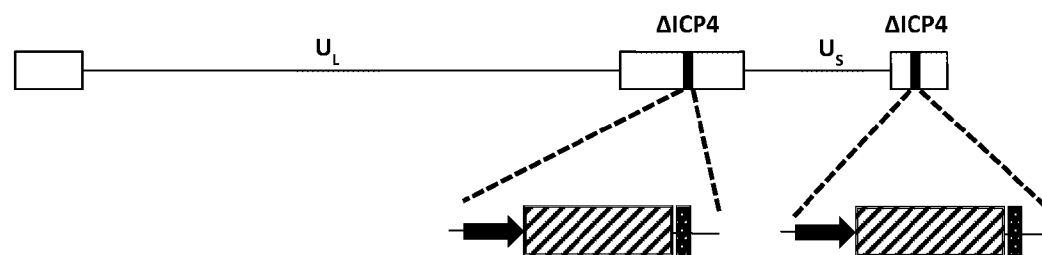


➔ = гетерологичный промотор

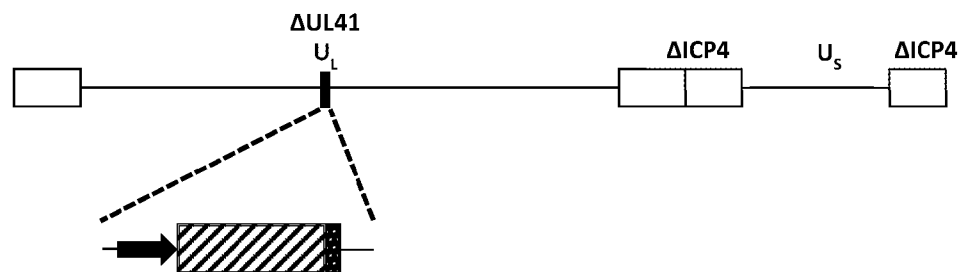
▨ = кодирующая последовательность иммуномодулирующего полипептида

▬ = регуляторные элементы

Фиг. 1С



Фиг. 1D

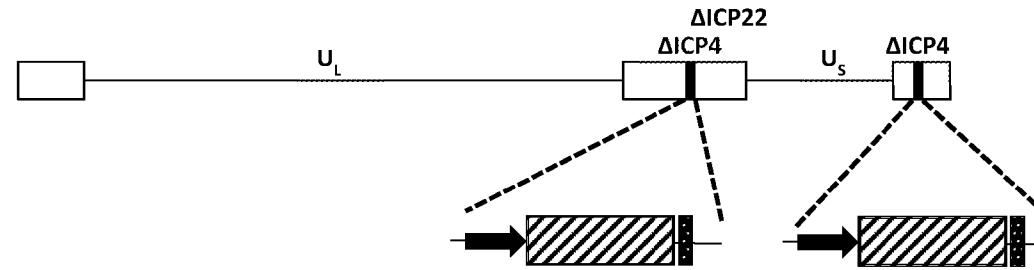


➔ = гетерологичный промотор

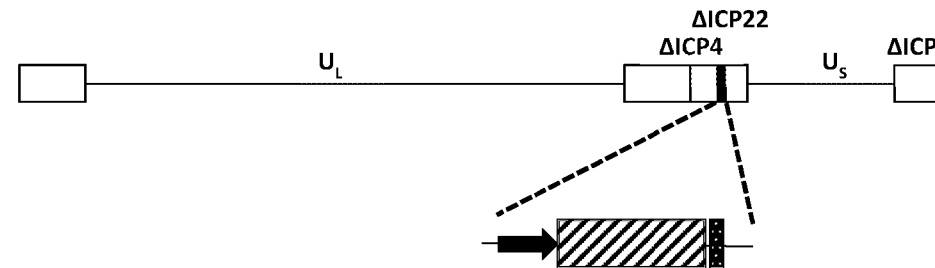
▨ = кодирующая последовательность иммуномодулирующего полипептида

▬ = регуляторные элементы

Фиг. 1Е



Фиг. 1F

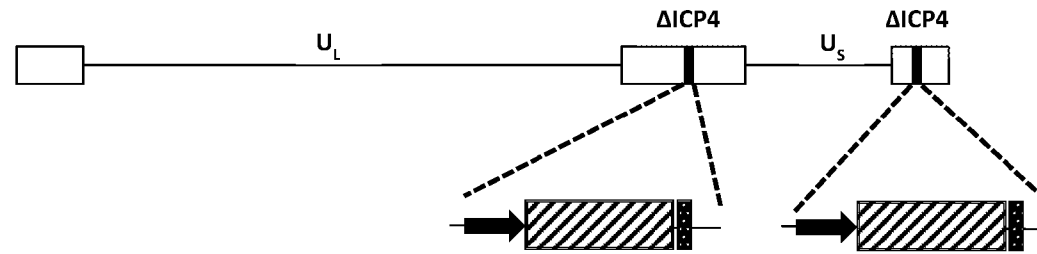


➔ = гетерологичный промотор

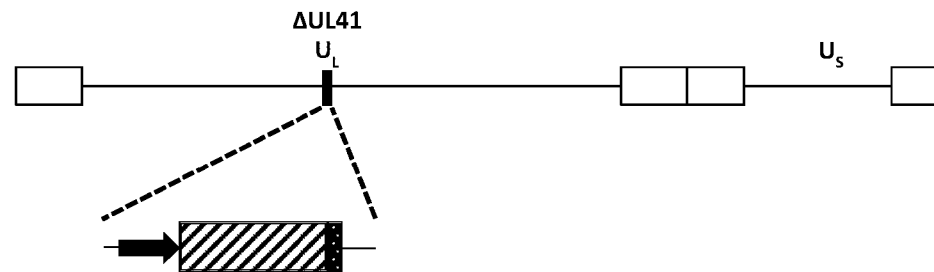
▨ = кодирующая последовательность иммуномодулирующего полипептида

▬ = регуляторные элементы

Фиг. 1G



Фиг. 1H

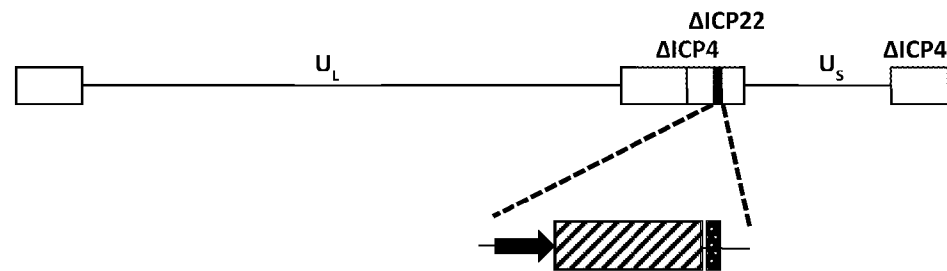


➔ = гетерологичный промотор

▨ = кодирующая последовательность иммуномодулирующего полипептида

▬ = регуляторные элементы

Фиг. 11

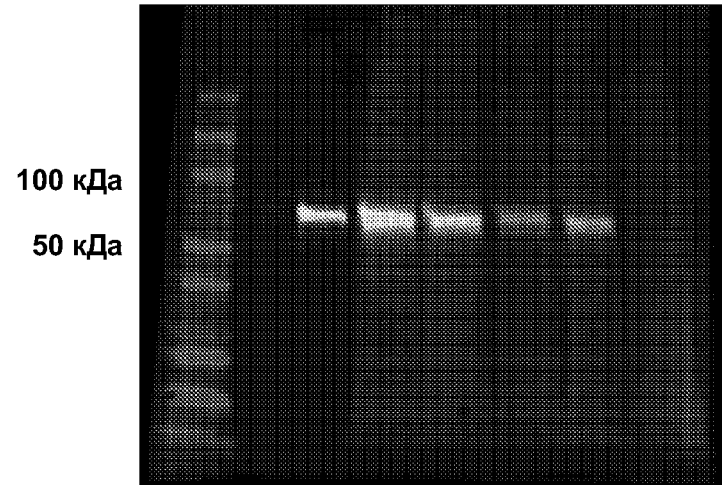


➔ = гетерологичный промотор

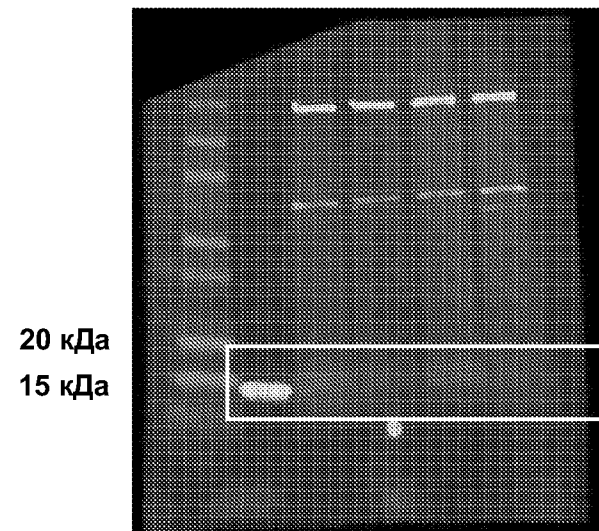
▨ = кодирующая последовательность иммуномодулирующего полипептида

▮ = регуляторные элементы

Фиг. 2А

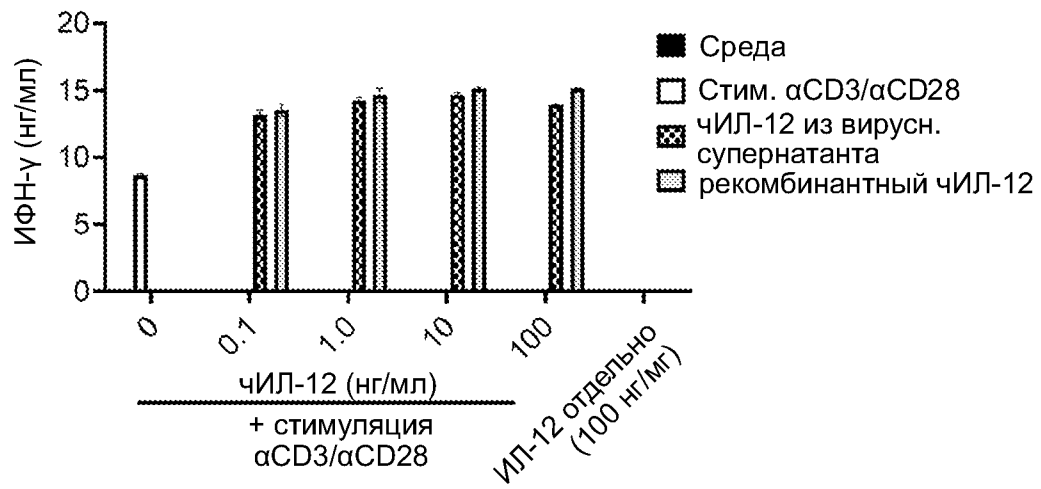


Фиг. 2В



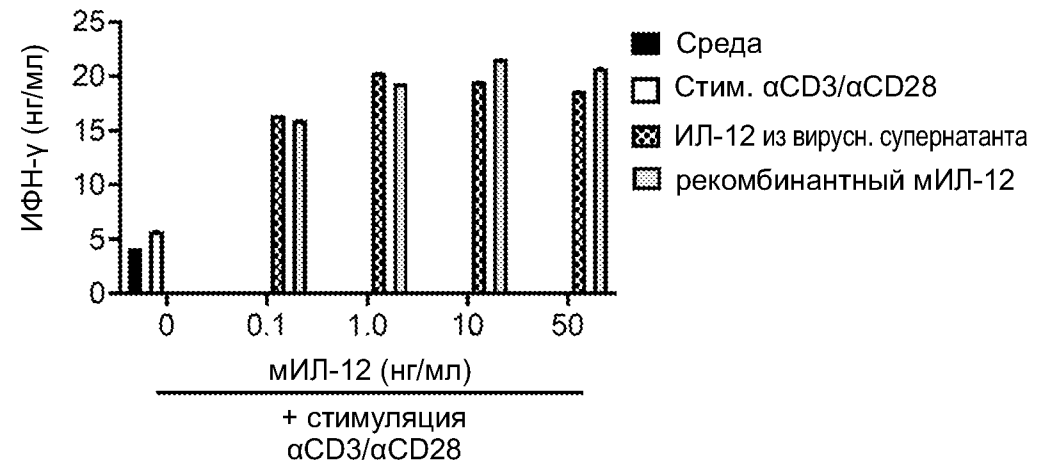
Фиг. 3А

МКПК человека
24 ч

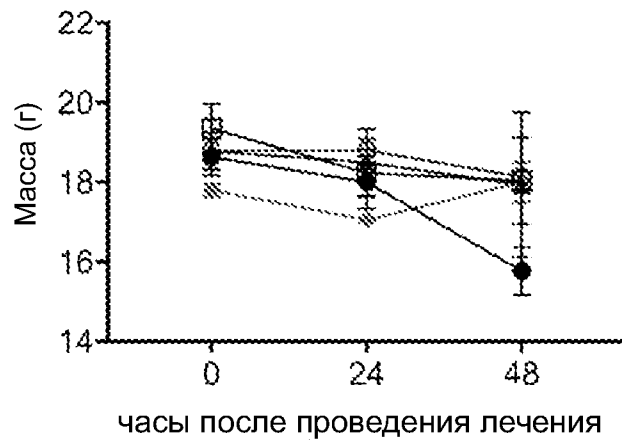


Фиг. 3В

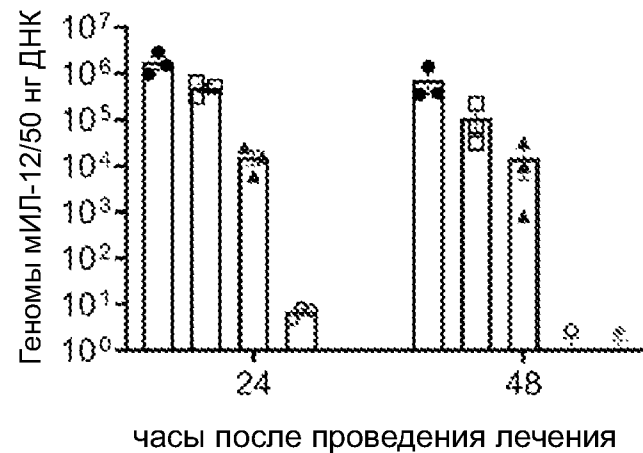
спленоциты мыши
24 ч



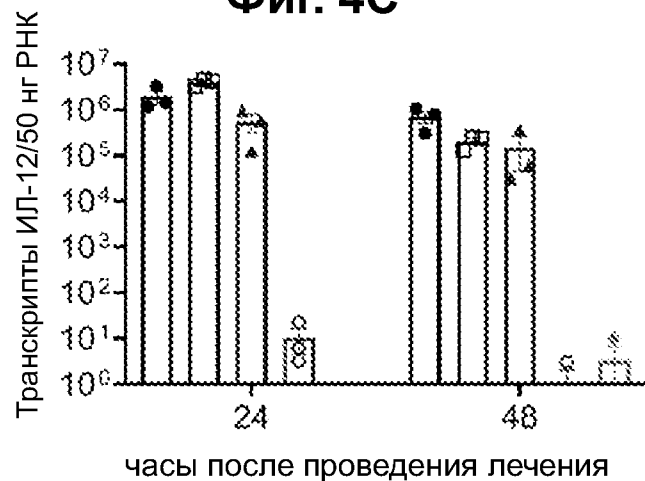
Фиг. 4А



Фиг. 4В

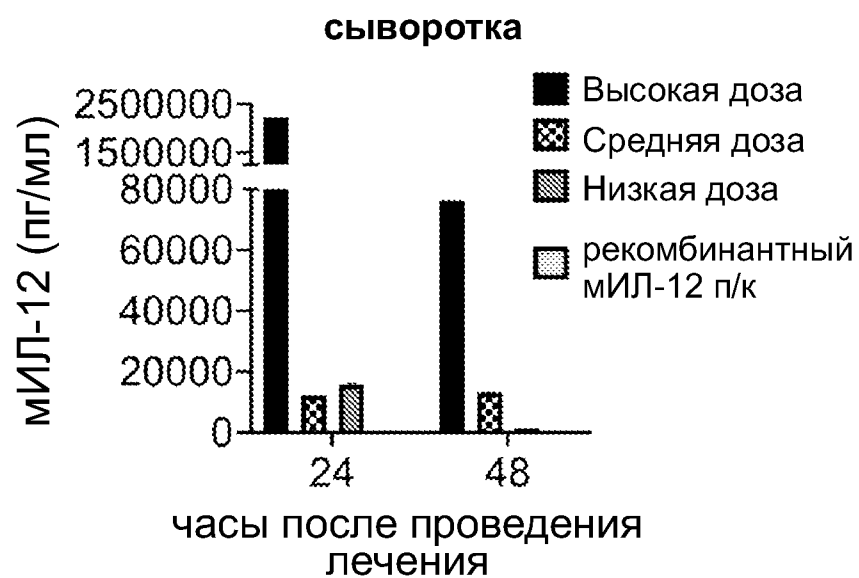


Фиг. 4С

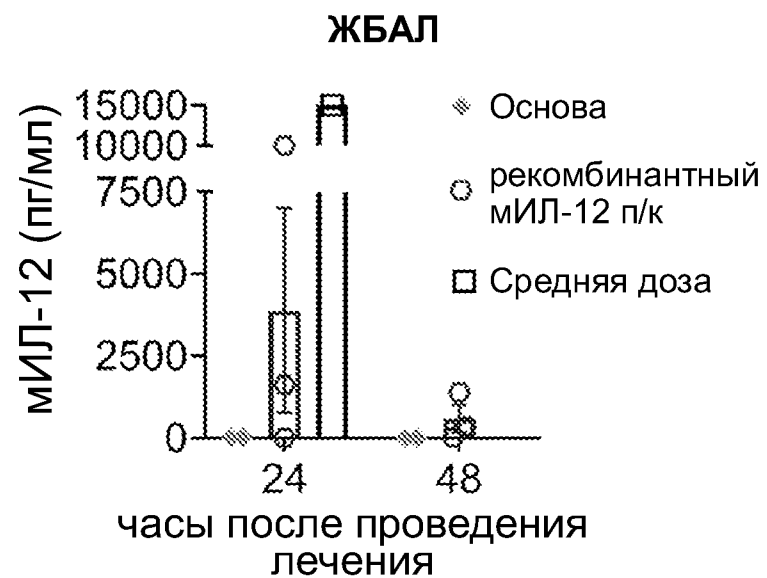


- Высокая доза – $9,5E8$ БОЕ
- Средняя доза – $1,9E8$ БОЕ
- ▲ Низкая доза – $3,8E7$ БОЕ
- rИЛ-12 п/к – 0,5 мкг
- ▨ Основа – контроль

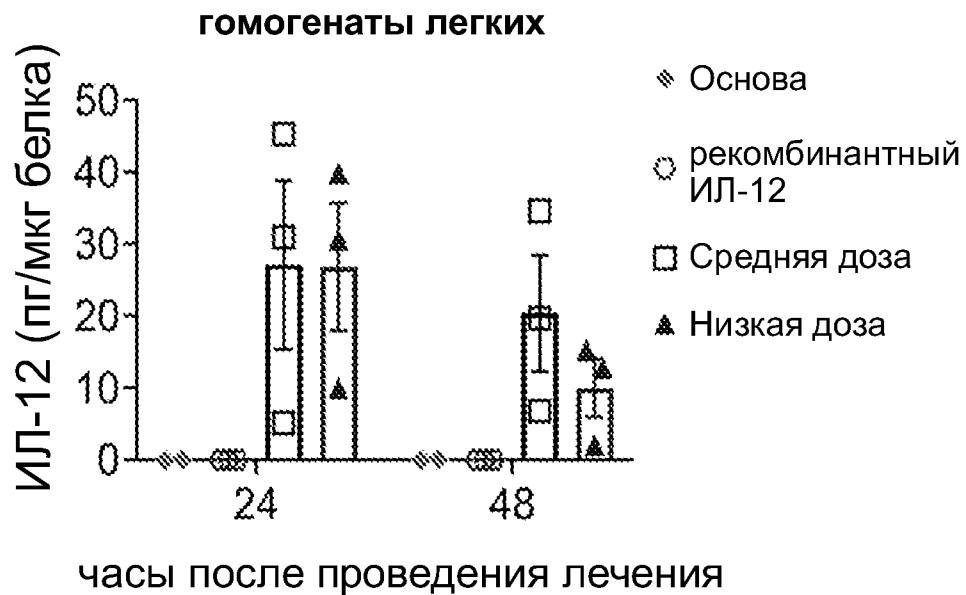
Фиг. 4D



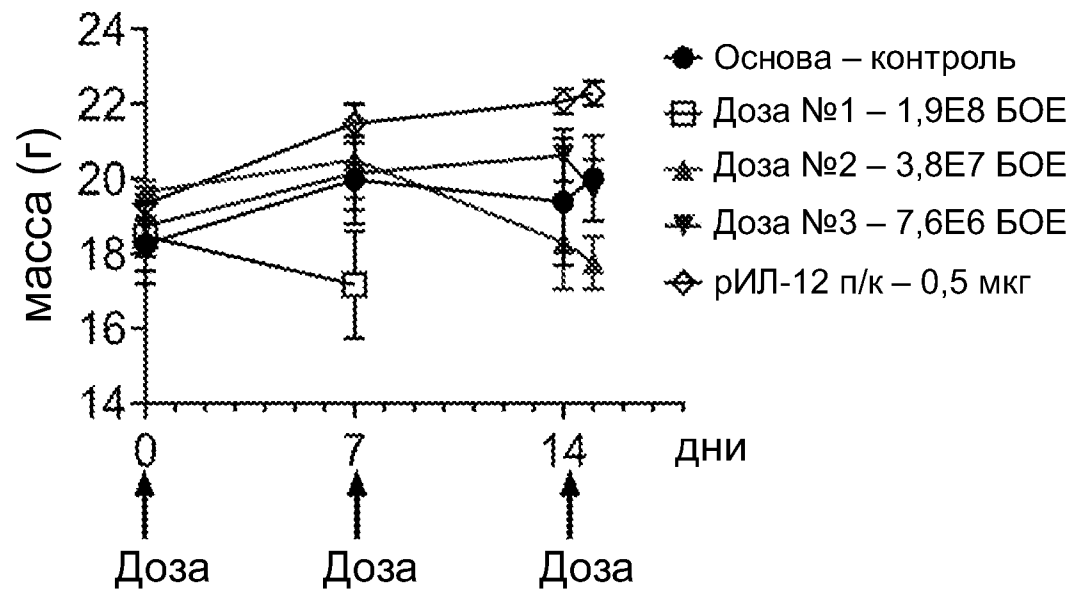
Фиг. 4E



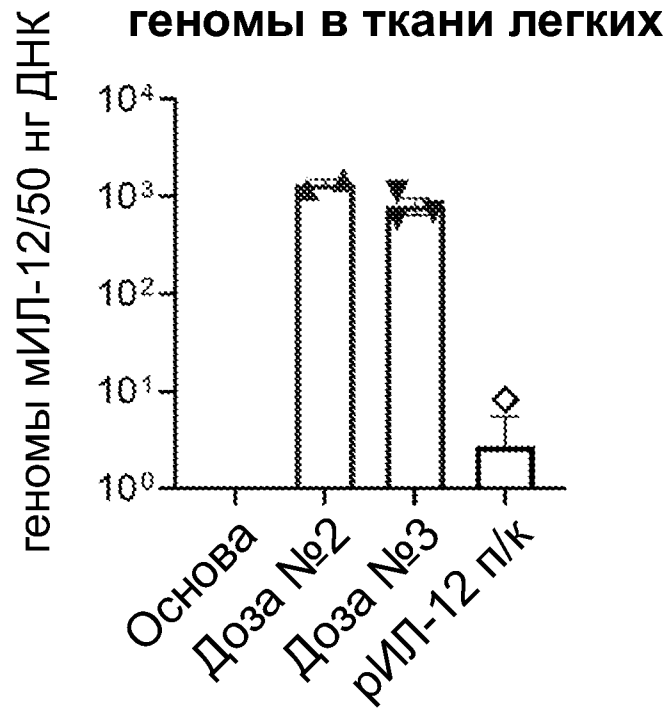
Фиг. 4F



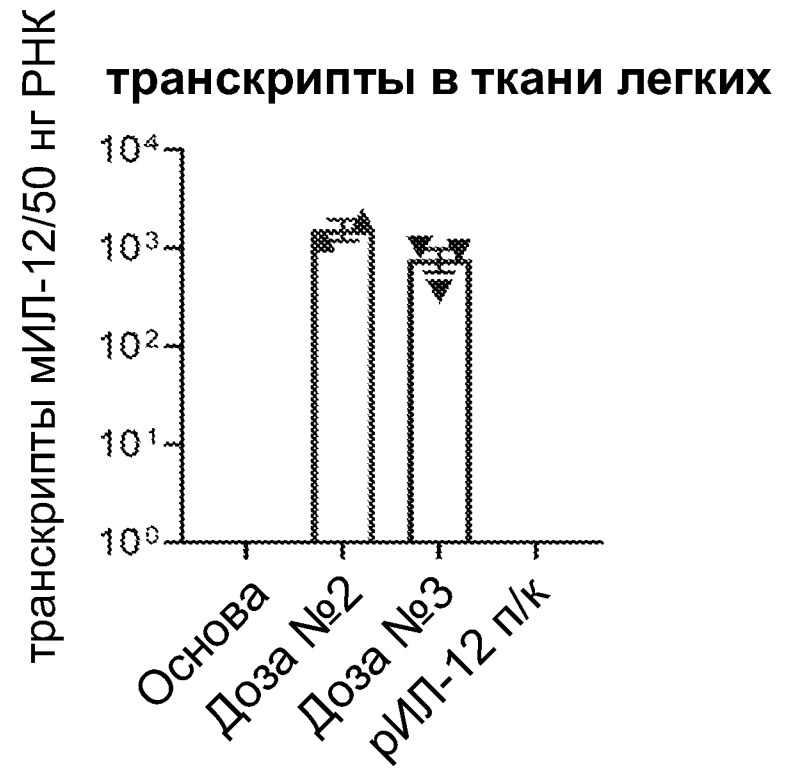
Фиг. 4G



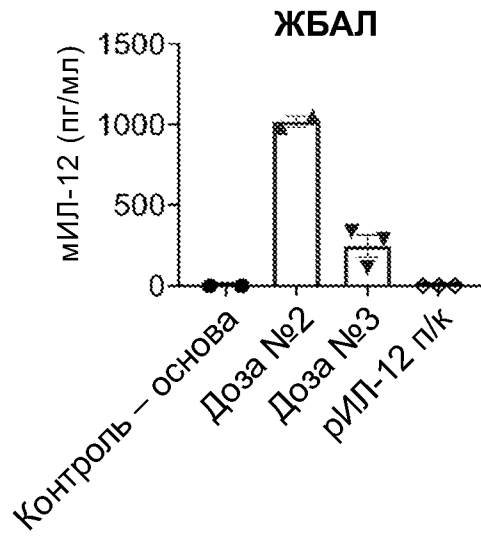
Фиг. 4Н



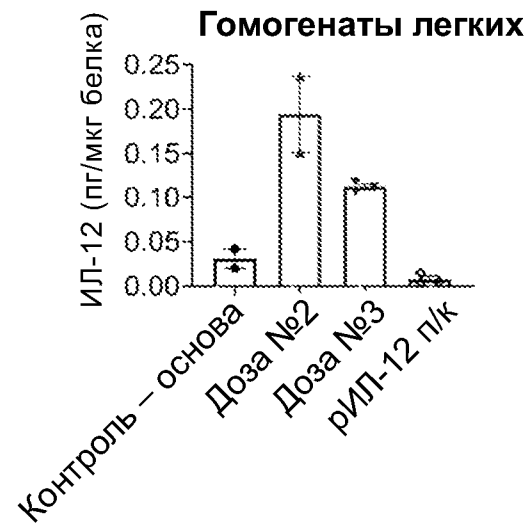
Фиг. 4I



Фиг. 4J



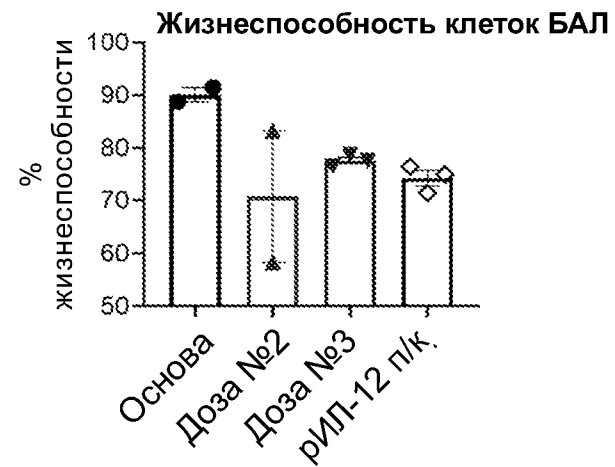
Фиг. 4K



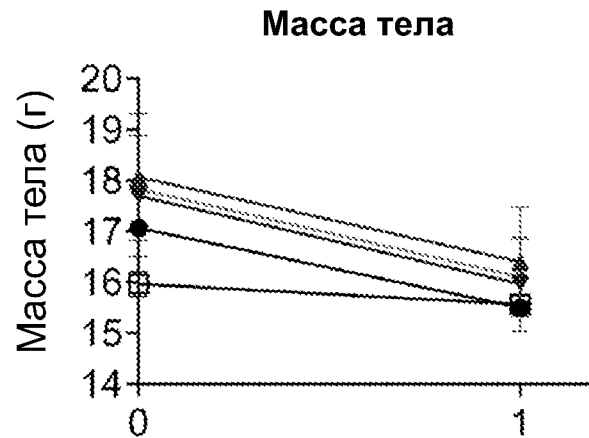
Фиг. 4L



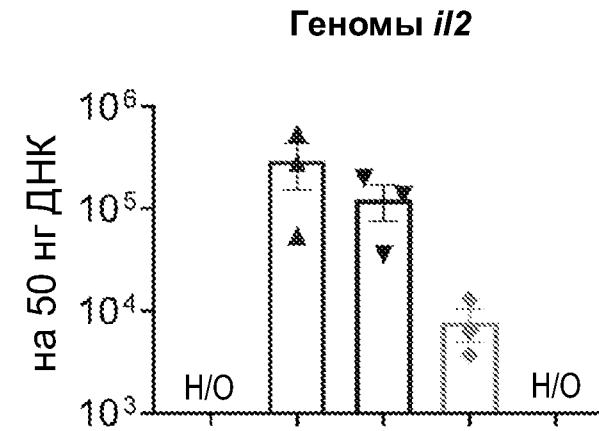
Фиг. 4M



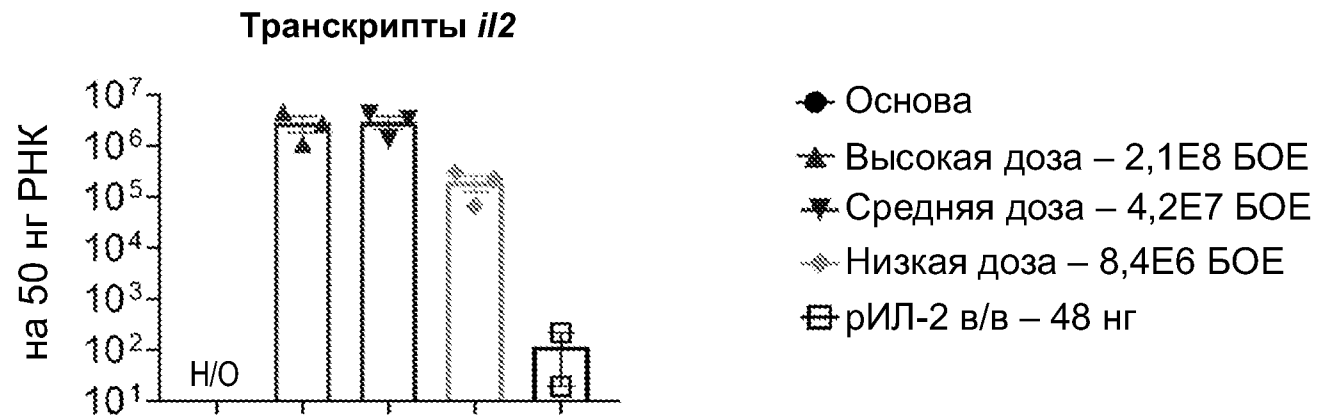
Фиг. 5А



Фиг. 5В

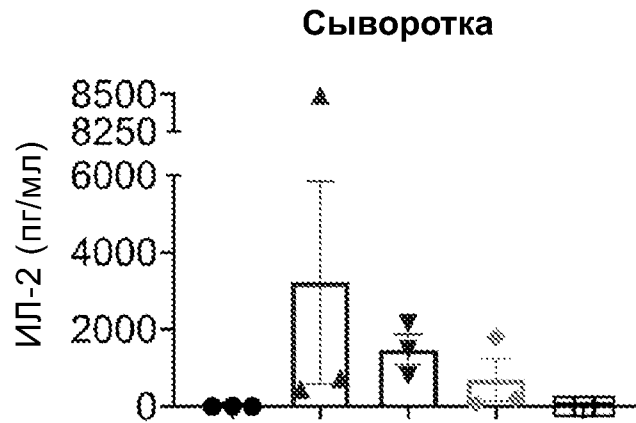


Фиг. 5С

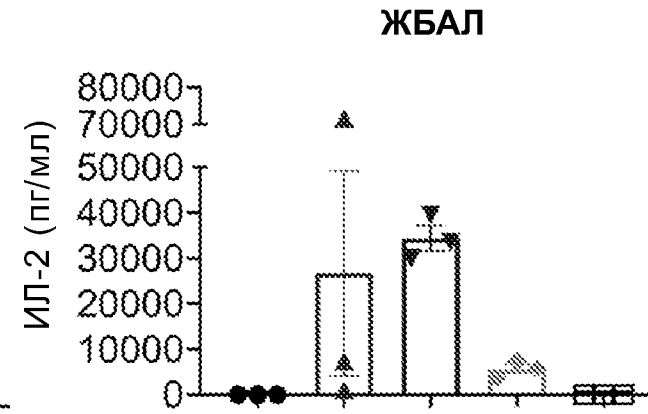


- Основа
- ▲ Высокая доза – 2,1E8 БОЕ
- ▼ Средняя доза – 4,2E7 БОЕ
- ◆ Низкая доза – 8,4E6 БОЕ
- РИЛ-2 в/в – 48 нг

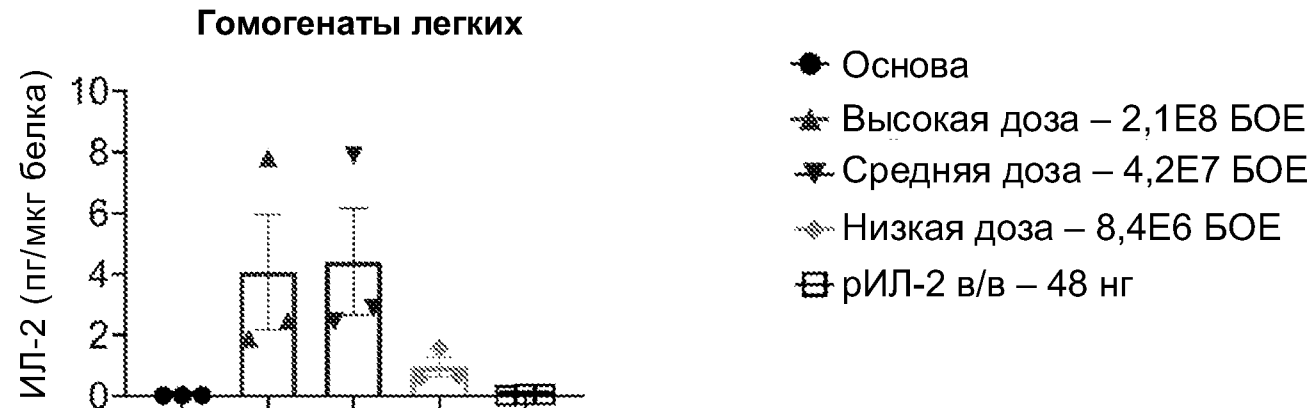
Фиг. 5D



Фиг. 5E



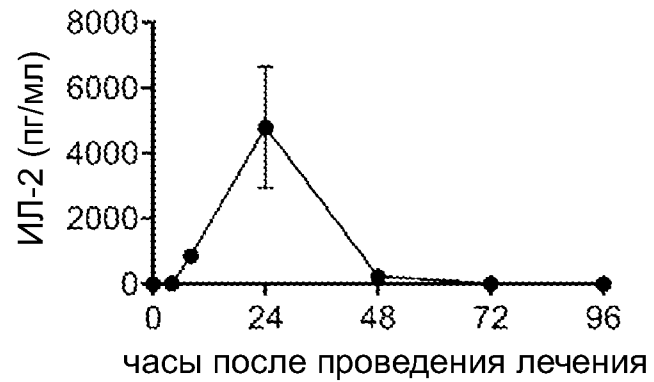
Фиг. 5F



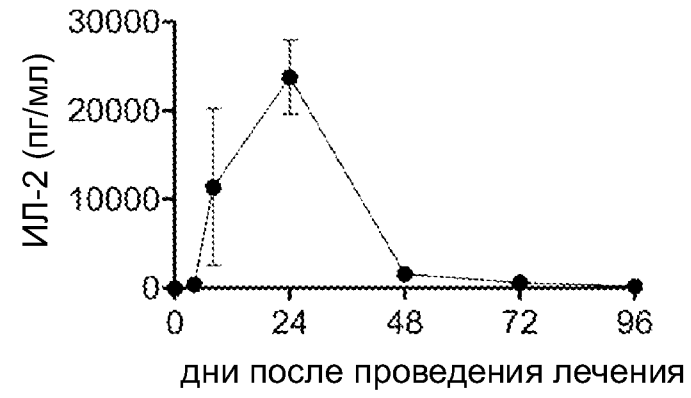
- Основа
- ▲ Высокая доза – $2,1E8$ БОЕ
- ▼ Средняя доза – $4,2E7$ БОЕ
- ◆ Низкая доза – $8,4E6$ БОЕ
- ▣ рИЛ-2 в/в – 48 нг

Фиг. 5G

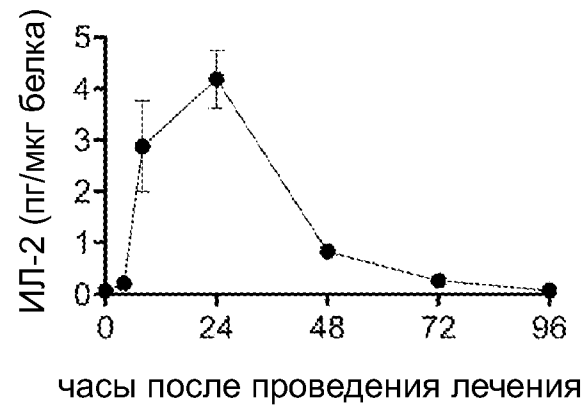
Сыворотка

**Фиг. 5H**

ЖБАЛ

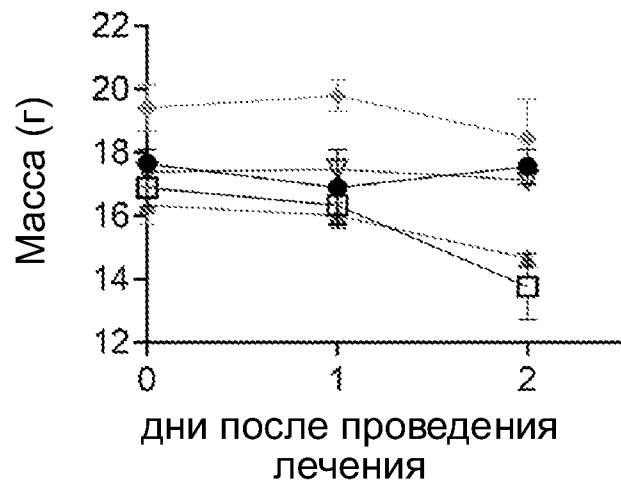
**Фиг. 5I**

лизат

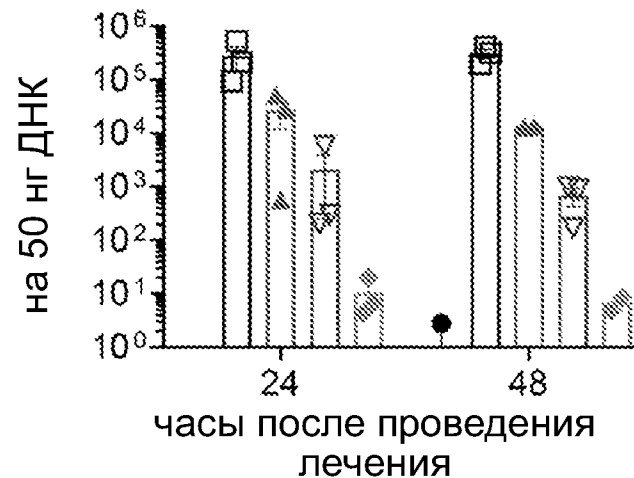


Фиг. 6А

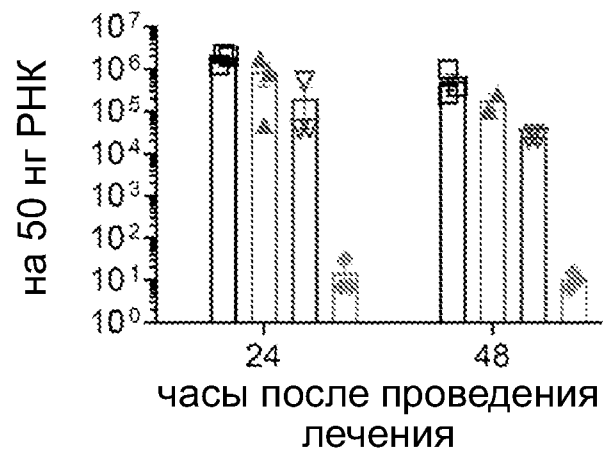
масса тела



Фиг. 6В

Геномы *gmcsf*

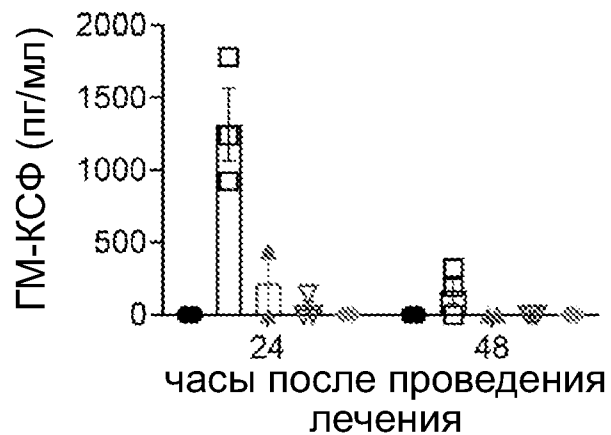
Фиг. 6С

Транскрипты *gmcsf*

- Основа
- Высокая доза – $4,88E8$ БОЕ
- ▲ Средняя доза – $9,75E7$ БОЕ
- ▽ Низкая доза – $1,95E7$ БОЕ
- ◆ рГМ-КСФ – 0,6 мкг

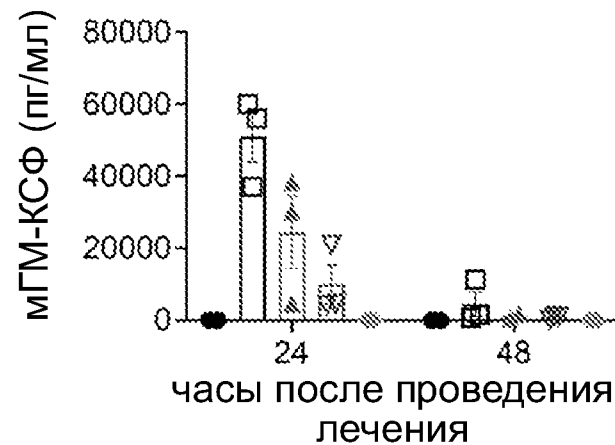
Фиг. 6D

сыворотка



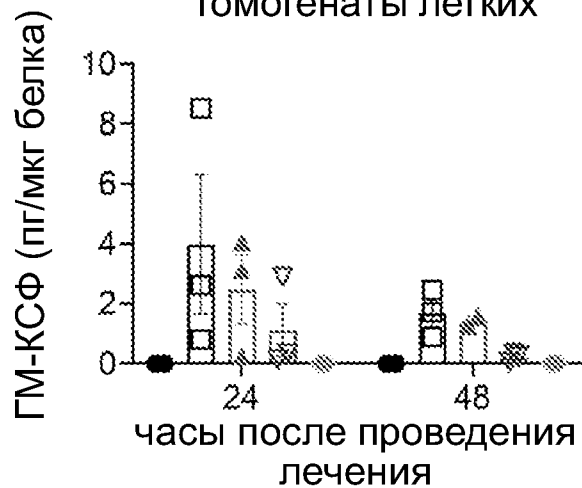
Фиг. 6E

ЖБАЛ



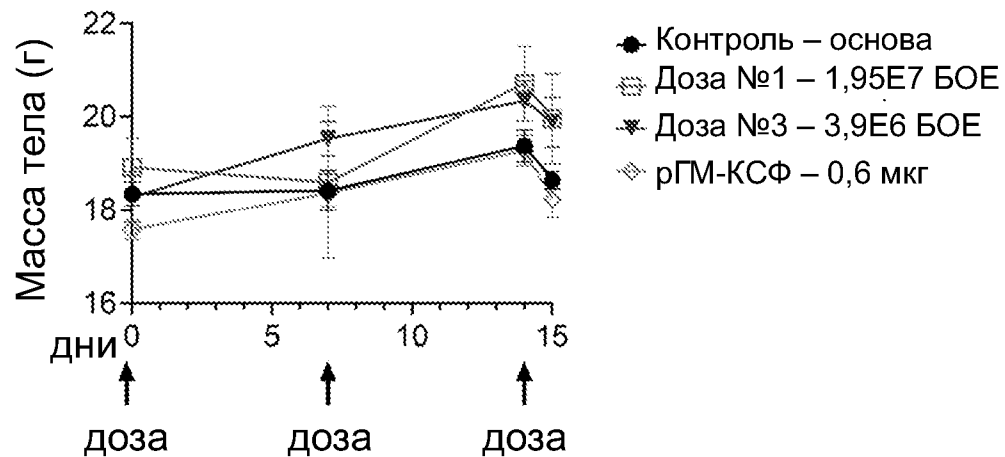
Фиг. 6F

гомогенаты легких

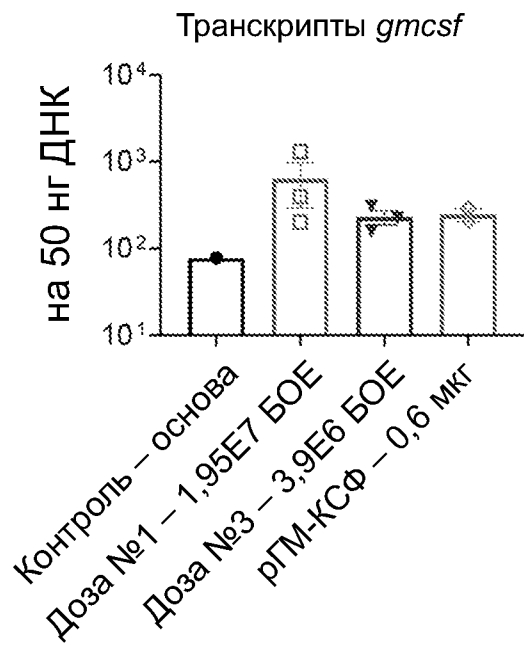


- Основа
- Высокая доза – 4,88E8 БОЕ
- ▲ Средняя доза – 9,75E7 БОЕ
- ▽ Низкая доза – 1,95E7 БОЕ
- ◆ рГМ-КСФ – 0,6 мкг

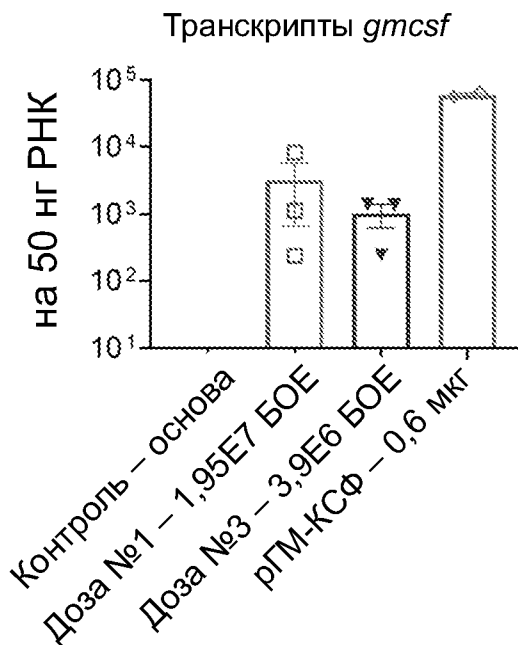
Фиг. 6Г



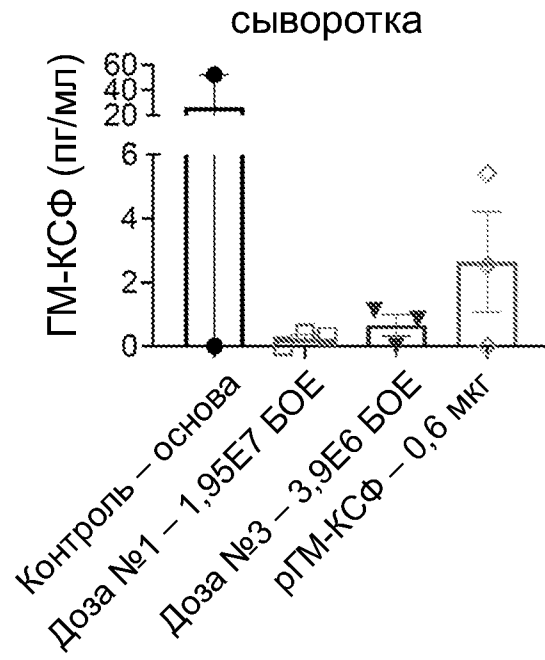
Фиг. 6Н



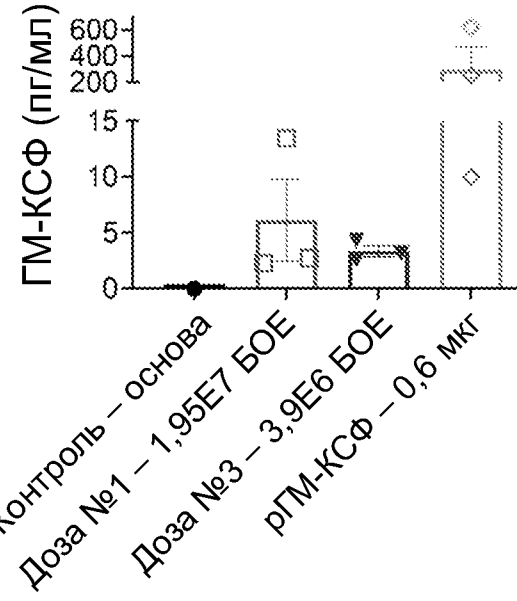
Фиг. 6I



Фиг. 6J

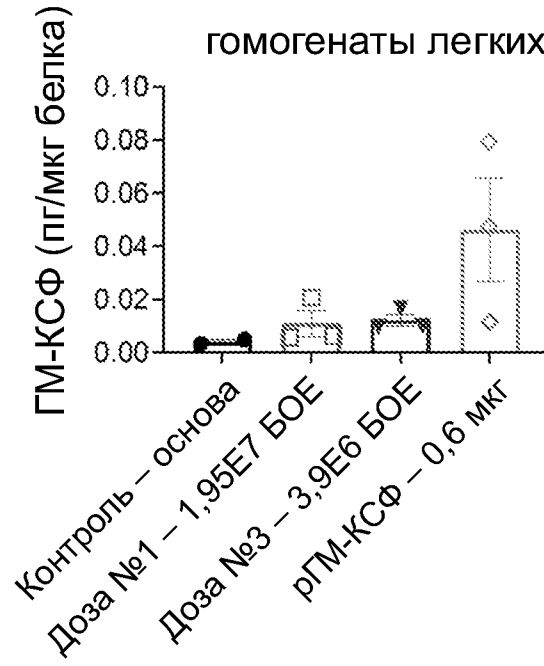


ЖБАЛ

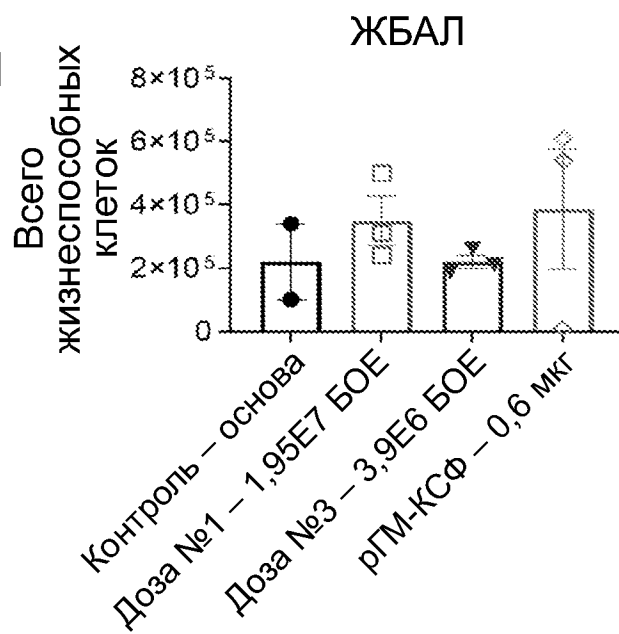


Фиг. 6K

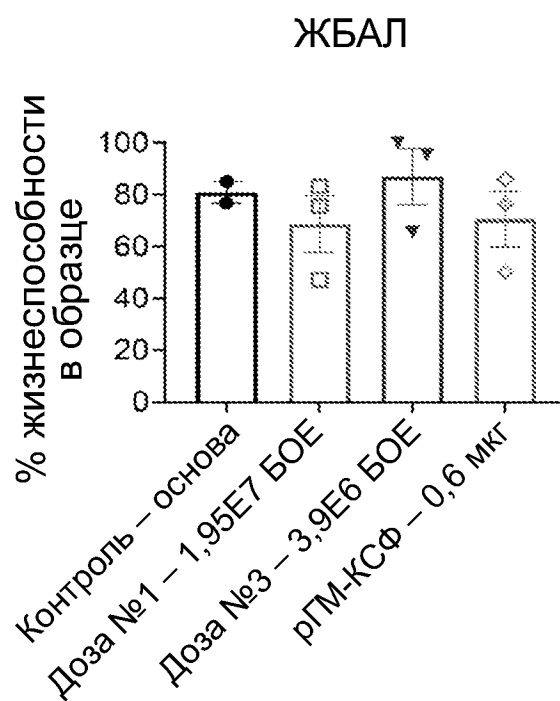
Фиг. 6L



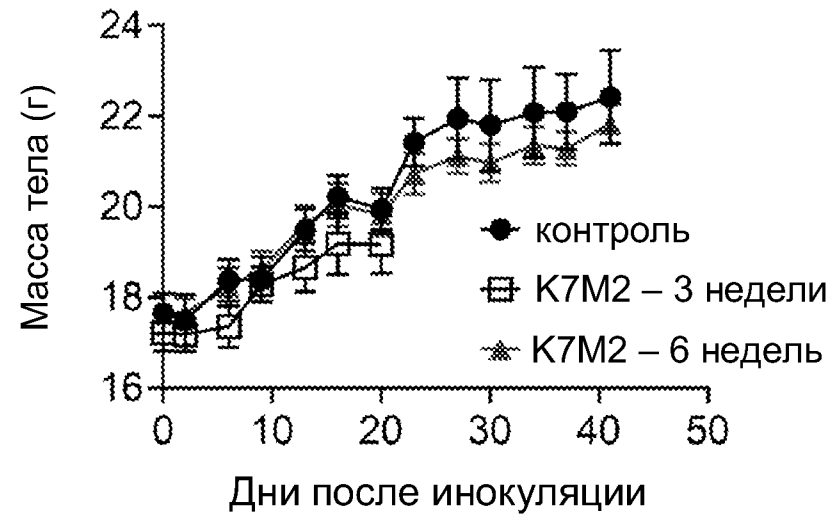
Фиг. 6M



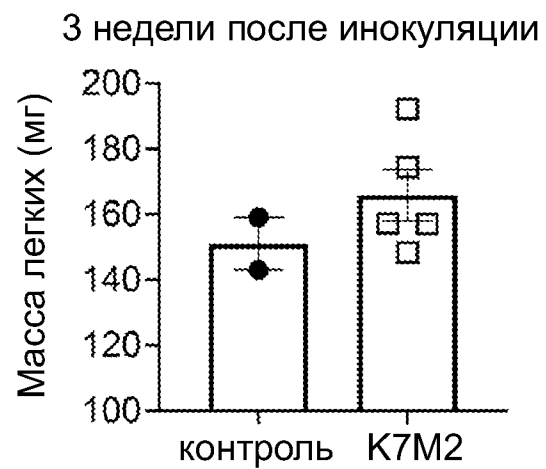
Фиг. 6N



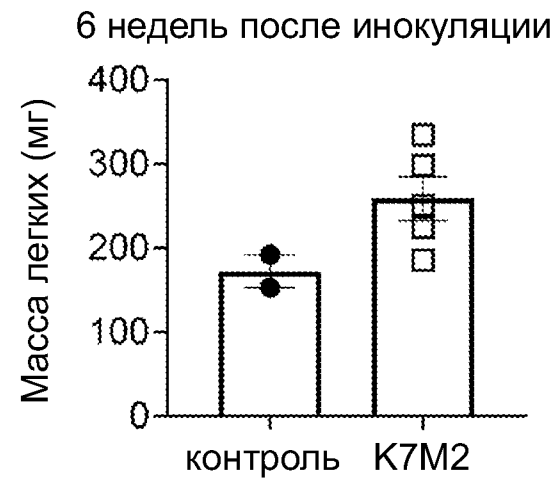
Фиг. 7А



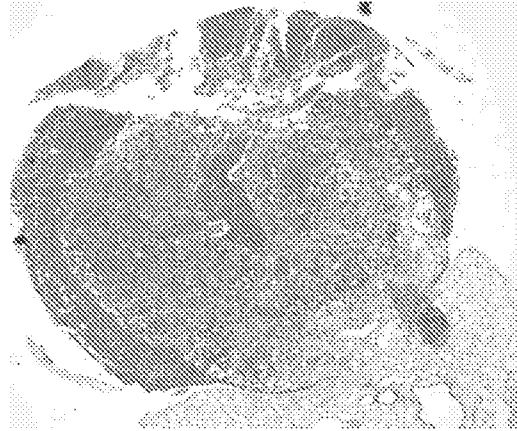
Фиг. 7В



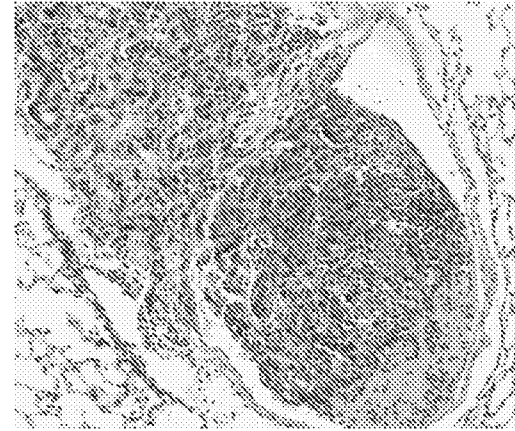
Фиг. 7С



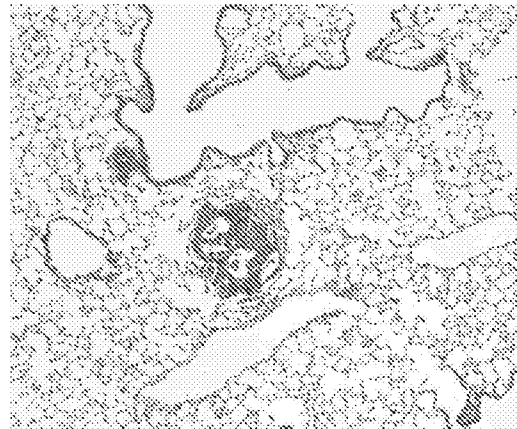
Фиг. 7D



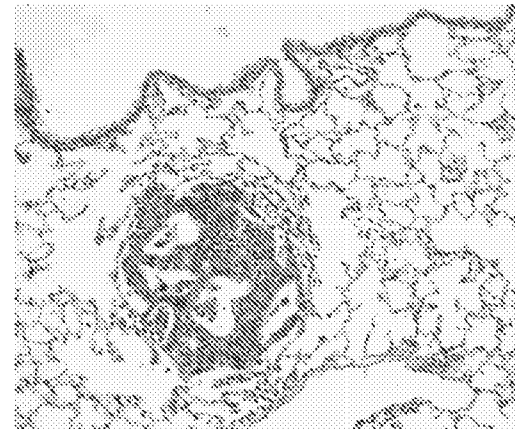
Фиг. 7E



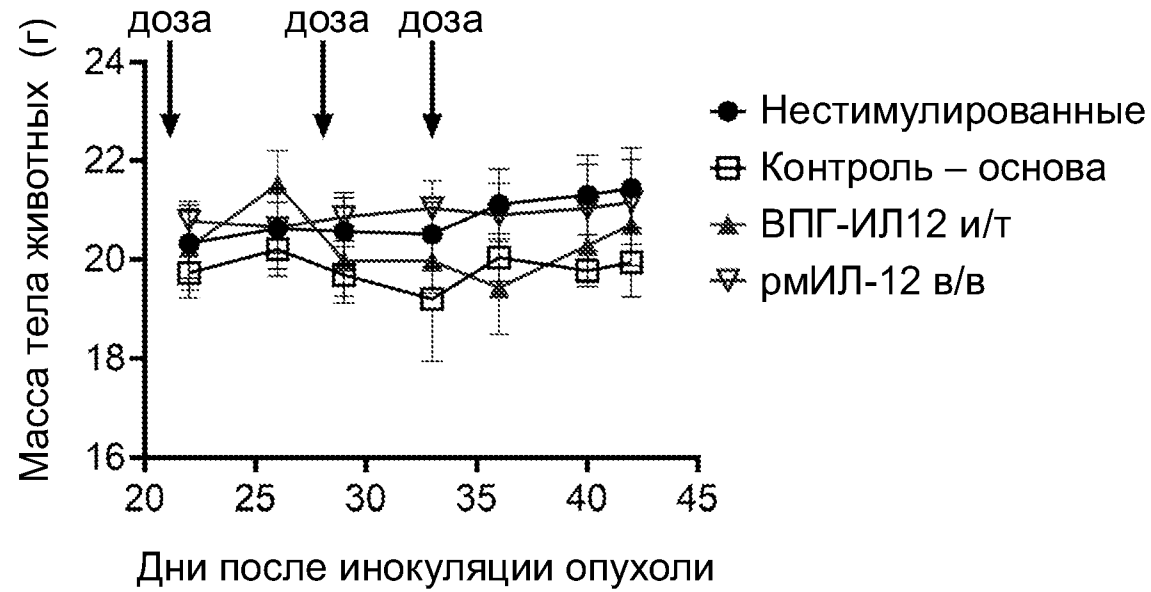
Фиг. 7F



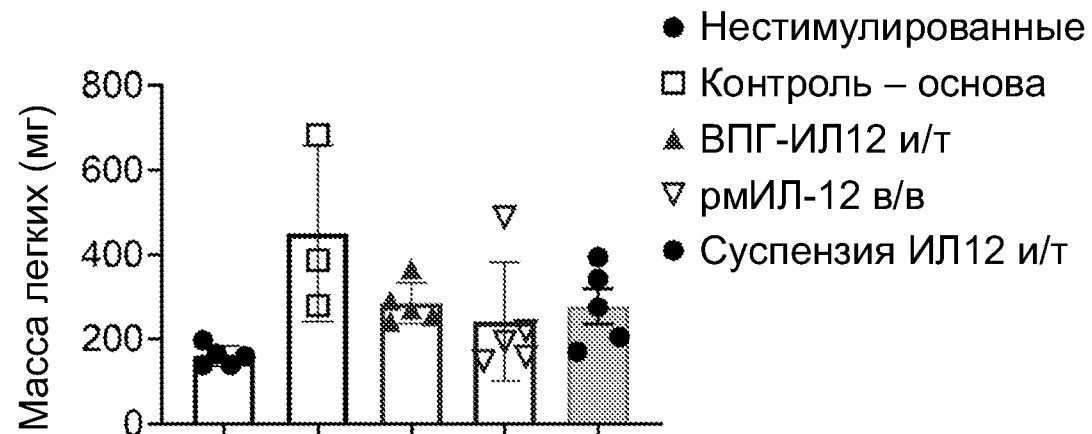
Фиг. 7G



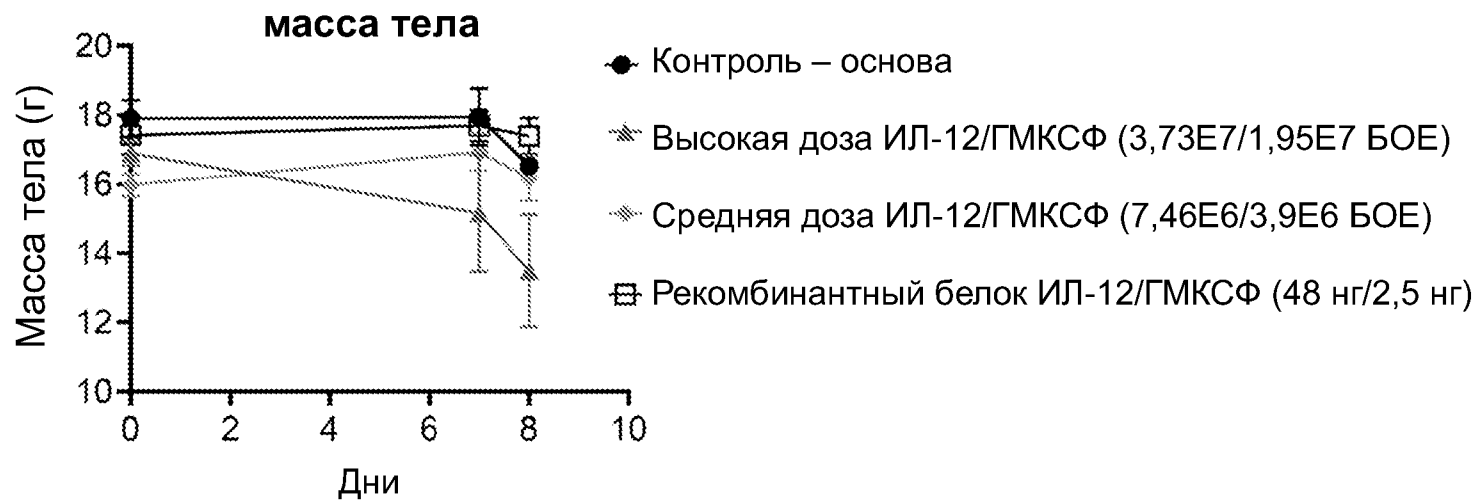
Фиг. 8А



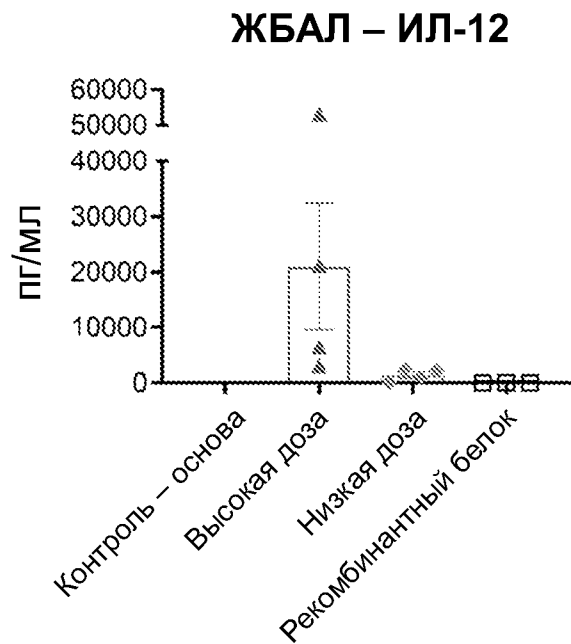
Фиг. 8В



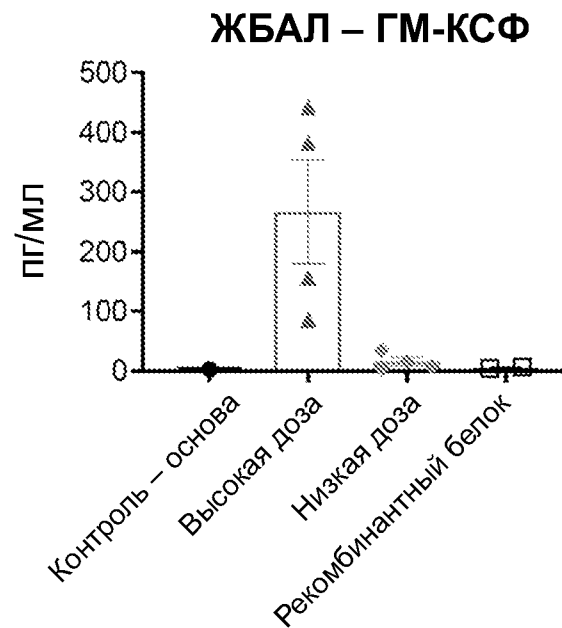
Фиг. 9А



Фиг. 9В

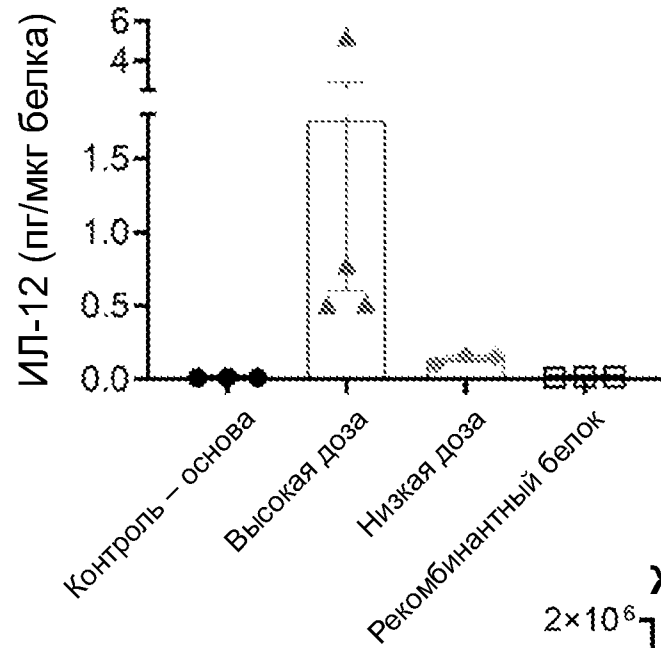


Фиг. 9С



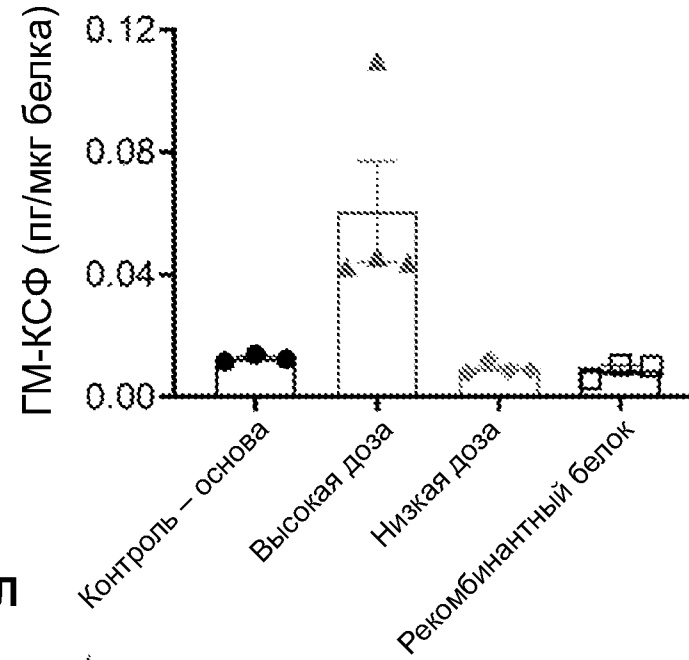
Фиг. 9D

Гомогенат легкого – ИЛ-12

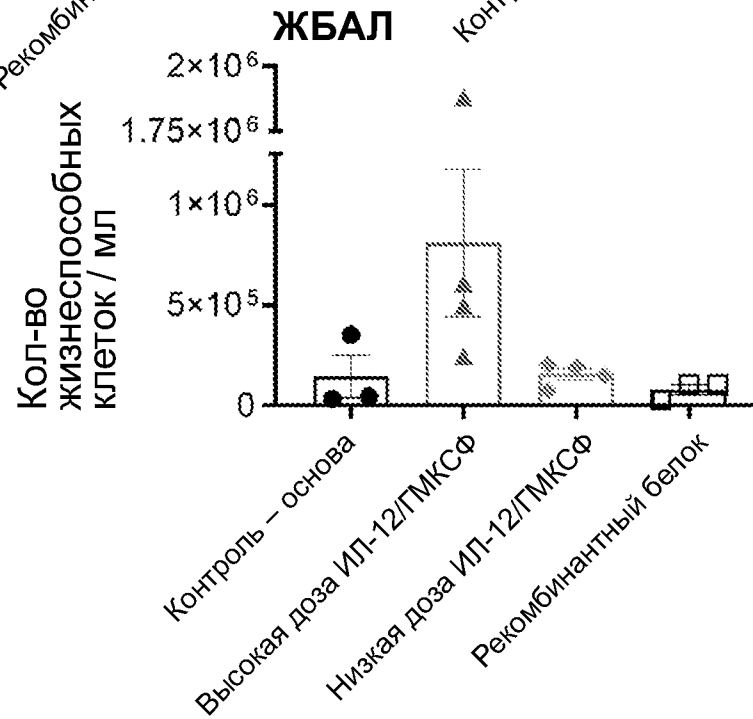


Гомогенат легкого – ГМ-КСФ

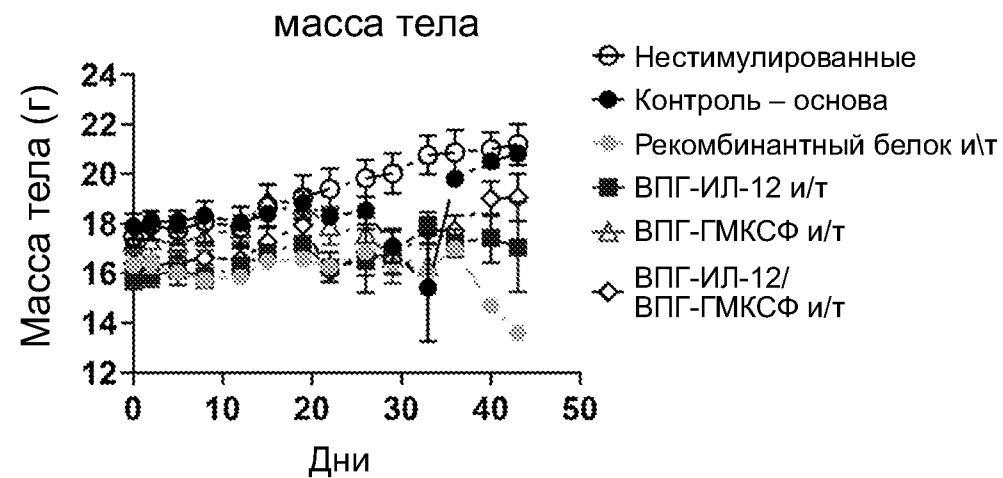
Фиг. 9E



Фиг. 9F



Фиг. 10А



Фиг. 10В

