

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202392845** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки
2024.10.31

(22) Дата подачи заявки
2014.03.14

(51) Int. Cl. *C12N 15/52* (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)

(54) **ПРОТИВОРАКОВЫЕ ВАКЦИНЫ И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ С ИХ ПРИМЕНЕНИЕМ**

(31) **61/799,952**

(32) **2013.03.15**

(33) **US**

(62) **201992251; 2014.03.14**

(71) Заявитель:
**ДЗЕ ТРАСТИЗ ОФ ДЗЕ
ЮНИВЕРСИТИ ОФ
ПЕНСИЛЬВАНИЯ (US)**

(72) Изобретатель:

**Уэйнер Дэвид, Мутхумани Каруппиах,
Уолтерс Джуэлл, Янь Цзянь (US)**

(74) Представитель:

Медведев В.Н. (RU)

(57) В данном документе описаны композиции и способы лечения рака и, в частности, вакцины, которые лечат и обеспечивают защиту от развития опухоли.

A1

202392845

202392845

A1

ПРОТИВОРАКОВЫЕ ВАКЦИНЫ И СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ С ИХ ПРИМЕНЕНИЕМ

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] В этой заявке заявлен приоритет по предварительной заявке на патент США № 61/799952, поданной 15 марта 2013 года, описание которой включено в данный документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0002] В данном документе описаны композиции и способы лечения рака и, в частности, вакцины, которые лечат и обеспечивают защиту от развития опухоли.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Рак является одной из основных причин смерти во всем мире, и в Соединенных Штатах, является второй наиболее распространенной причиной смерти, составляя около 1 случая из каждых 4 смертей. Рак возникает из одной клетки, которая трансформировалась из нормальной клетки в опухолевую клетку. Такая трансформация зачастую представляет собой многостадийный процесс, протекающий от предопухолевого состояния до злокачественных опухолей. Этому развитию способствуют несколько факторов, в том числе старение, генетические факторы, а также воздействие внешних факторов, таких как физические канцерогены (например, ультрафиолетовое и ионизирующее излучение), химические канцерогены (например, асбест, компоненты табачного дыма и т.д.) и биологические канцерогены (например, некоторые вирусы, бактерии и паразиты).

[0004] Профилактика, диагностика и лечение рака могут принимать различные формы. Профилактика может включать скрининг на предрасполагающие факторы (например, специфические генетические варианты (аллели)), изменение поведения (например, курение, диета и объем физической нагрузки), а также вакцинацию против вирусов (например, вирус папилломы человека, вирус гепатита В). Лечение может включать химиотерапию, лучевую терапию и хирургическое удаление опухоли или раковой ткани. Несмотря на наличие различных способов профилактики и лечения, на деле такие способы зачастую не приносят больших результатов в области эффективной профилактики и/или лечения рака.

[0005] Соответственно, существует потребность в поиске и разработке композиций и способов профилактики и/или лечения рака с целью облегчения клинического ведения защиты от заболевания и его развития. Кроме того, для задержки развития заболевания

и/или снижения смертности у субъектов, страдающих от рака, необходимы более эффективные способы лечения.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0006] Настоящее изобретение относится к вакцине, содержащей одну или более нуклеотидных или аминокислотных последовательностей раковых антигенов, которые более не являются аутоантигенами и стимулируют иммунный ответ на определенный вид рака или опухоль, обусловленную определенным видом рака. Данная вакцина может дополнительно содержать ингибитор иммунной контрольной точки, такой как антитела к PD-1 и PDL-1, который предотвращает супрессию любого компонента в иммунной системе, например, презентацию МНС, презентацию и/или дифференцировку Т-клеток, презентацию и/или дифференцировку В-клеток, любого цитокина, хемокина или сигнализацию для пролиферации и/или дифференцировки иммунных клеток. Одним или более раковыми антигенами данной вакцины могут являться нуклеиновая кислота, кодирующая одну или более аминокислотных последовательностей или аминокислотную последовательность, выбранную из группы, состоящей из: аминокислотной последовательности, идентичной на 95% или более аминокислотной последовательности тирозиназы (Tyr); аминокислотной последовательности тирозиназа-зависимого белка 1 (TYRP1); аминокислотной последовательности, идентичной на 95% или более аминокислотной последовательности тирозиназа-зависимого белка 2 (TYRP2); аминокислотной последовательности, идентичной на 95% или более аминокислотной последовательности ассоциированного с меланомой антигена 4 (MAGEA4); аминокислотной последовательности, идентичной на 95% или более аминокислотной последовательности гормона, высвобождающего гормон роста (GHRH); аминокислотной последовательности, идентичной на 95% или более аминокислотной последовательности антигена MART-1/melan-A (MART-1/Melan-A); аминокислотной последовательности, идентичной на 95% или более аминокислотной последовательности раково-тестикулярного антигена (NY-ESO-1); аминокислотной последовательности, идентичной на 95% или более аминокислотной последовательности раково-тестикулярного антигена II (NY-ESO-2); аминокислотной последовательности, идентичной на 95% или более аминокислотной последовательности PRAME; аминокислотной последовательности, идентичной на 95% или более аминокислотной последовательности WT1; аминокислотной последовательности, идентичной на 95% или более аминокислотной последовательности

hTERT; или их комбинации. Данная вакцина может дополнительно содержать нуклеиновую кислоту, кодирующую один или более антигенов, выбранных из группы, состоящей из: PSA, PSMA, STEAP, PSCA, MAGE A1, gp100, вирусного антигена и их комбинаций.

[0007] Настоящее изобретение дополнительно относится к способу профилактики или лечения рака у субъекта, нуждающегося в этом, при этом данный способ включает введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей определенное количество раковых антигенов для лечения или профилактики определенного вида рака. Данный способ может включать введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей раковый антиген CMV для лечения или профилактики глиобластомы, или введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей раковый антиген CMV в комбинации с любым одним или более раковыми антигенами hTERT, NY-ESO-1, MAGE-A1 или WT1 для лечения или профилактики глиобластомы; введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей один или более раковых антигенов PSA, PSMA или STEAP для лечения или профилактики рака предстательной железы, или введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей PSA, PSMA или STEAP в комбинации с любым одним или более раковыми антигенами hTERT, NY-ESO-1, MAGE-A1 или WT1 для лечения или профилактики рака предстательной железы; введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей один или более раковых антигенов - тирозиназу, PRAME или GP-100 для лечения или профилактики меланомы, или введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей тирозиназу, PRAME или GP-100 в комбинации с любым одним или более раковыми антигенами hTERT, NY-ESO-1, MAGE-A1 или WT1 для лечения или профилактики меланомы; введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей один или более раковых антигенов HPV 16 E6 или HPV 16 E7 для лечения или профилактики рака головы и шеи, или введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей HPV 16 E6 или HPV 16 E7 в комбинации с любым одним или более раковыми антигенами hTERT, NY-ESO-1, MAGE-A1 или WT1 для лечения или профилактики рака головы и шеи; введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей один или более раковых антигенов - тирозиназу, PRAME или GP-100 для лечения или профилактики меланомы, или введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей тирозиназу, PRAME или GP-100 в комбинации с любым одним или более раковыми антигенами hTERT, NY-ESO-1, MAGE-A1 или WT1 для лечения или

профилактики меланомы; введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей один или более раковых антигенов HPV 6, HPV 11 или HPV 16 для лечения или профилактики рака анального канала, или введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей HPV 6, HPV 11 или HPV 16 в комбинации с любым одним или более раковыми антигенами hTERT, NY-ESO-1, MAGE-A1 или WT1 для лечения или профилактики рака анального канала; введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей один или более раковых антигенов – корового антигена HBV, поверхностного антигена HBV, HCV NS34A, HCV NS5A, HCV NS5B или HCV NS4B для лечения или профилактики рака печени, или введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей коровый антиген HBV, поверхностный антиген HBV, HCV NS34A, HCV NS5A, HCV NS5B или HCV NS4B в комбинации с любым одним или более раковыми антигенами hTERT, NY-ESO-1, MAGE-A1 или WT1 для лечения или профилактики рака печени; введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей один или более раковых антигенов HPV 16 E6/E7 или HPV 18 E6/E7 для лечения или профилактики рака шейки матки, или введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей HPV 16 E6/E7 или HPV 18 E6/E7 в комбинации с любым одним или более раковыми антигенами hTERT, NY-ESO-1, MAGE-A1 или WT1 для лечения или профилактики рака шейки матки; или введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей один или более раковых антигенов PRAME, WT-1 или hTERT для лечения или профилактики рака крови, или введение субъекту, нуждающемуся в этом, вакцины, содержащей PRAME, WT-1 или hTERT в комбинации с любым одним или более раковыми антигенами NY-ESO-1 или MAGE-A1 для лечения или профилактики рака крови, при этом данный способ может дополнительно включать комбинирование этапов введения (a)-(i), при этом ингибитор иммунной контрольной точки выбирают из группы, состоящей из: антитела к PD-1, антитела к PD-L1 и их комбинации.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0008] Фигуры 1A-E иллюстрируют конструирование рTyr.

[0009] Фигуры 2A и 2B иллюстрируют стратегию иммунизации и индукцию клеточно-опосредованных иммунных ответов на вакцинацию Tyr ДНК, соответственно.

[0010] Фигура 3 иллюстрирует проточную сортировку клеток с активированной флуоресценцией (FACS) контрольных и иммунизированных мышей.

[0011] Фигуры 4А и 4В иллюстрируют индукцию тирозиназа-специфических антител у иммунизированных мышей.

[0012] Фигуры 5А и 5В иллюстрируют кривые выживаемости Каплана-Мейера и кривые объема опухоли, соответственно, после введения опухоли у контрольных и иммунизированных мышей.

[0013] Фигуры 6А и 6В иллюстрируют клеточные популяции MDSC у иммунизированных и неиммунизированных мышей.

[0014] Фигура 7 иллюстрирует окрашивание MDSC у мышей, иммунизированных pVax1 и pTyr.

[0015] Фигуры 8А и 8В иллюстрируют секрецию MCP-1 клетками MDSC.

[0016] Фигура 9 иллюстрирует филогенетическое родство нуклеотидных последовательностей Tyr среди указанных организмов.

[0017] Фигура 10 иллюстрирует (А) схему карты плазмиды pPRAME (также называемой в данном документе как pGX1411); (В) окрашивание клеток RD и 293Т для ядер с DAPI и для консенсусного антигена PRAME; и (С) Вестерн-блоттинг для консенсусного антигена PRAME в лизатах из нетрансфицированных клеток ("контрольных"), клеток, трансфицированных pVAX ("pVAX"), а также клеток, трансфицированных pPRAME ("PRAME-pVAX").

[0018] Фигура 11 иллюстрирует на графиках (А) и (В) мышиную группу в зависимости от пятнообразующих единиц (SFU)/10⁶ спленоцитов для гамма-интерферона (IFN- γ).

[0019] Фигура 12 иллюстрирует (А) схему карты плазмиды pNY-ESO-1 (также называемой в данном документе как pGX1409); (В) окрашивание клеток для ядер с DAPI и для консенсусного антигена NY-ESO-1; и (С) Вестерн-блоттинг для консенсусного антигена NY-ESO-1 в лизатах RD и 293Т из нетрансфицированных клеток ("контрольных"), клеток, трансфицированных pVAX ("pVAX"), а также клеток, трансфицированных pNY-ESO-1 ("pNY-ESO-1").

[0020] Фигура 13 иллюстрирует мышиную группу в зависимости от пятнообразующих единиц (SFU)/10⁶ спленоцитов для гамма-интерферона (IFN- γ).

[0021] Фигура 14 иллюстрирует мышиную группу в зависимости от пятнообразующих единиц (SFU)/10⁶ спленоцитов для гамма-интерферона (IFN- γ).

[0022] Фигура 15 иллюстрирует схему различных видов рака с некоторым из ассоциированных с ними раковым антигеном (антигенами).

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0023] Настоящее изобретение относится к вакцине, которая может быть адаптирована к определенным видам рака и опухолей. Консенсусные последовательности антигенов были сконструированы для определенных связанных с раком антигенов, таких как тирозиназа (Tyr), преимущественно экспрессируемый меланомой антиген (PRAME), тирозиназа-зависимый белок 1 (Tyrp1), раково-тестикулярный антиген (NY-ESO-1), антиген вируса гепатита В и антиген опухоли Вильмса 1 (WT-1), которые будут использоваться в вакцине для того, чтобы обеспечивать возможность адаптации данной вакцины к профилактике и лечению определенных видов рака. Например, антиген тирозиназы может быть использован в вакцине для профилактики или лечения меланом. Вакцина по настоящему изобретению может обеспечивать любую комбинацию определенных раковых антигенов для определенной профилактики или лечения рака у субъекта, который нуждается в лечении.

[0024] Одним из способов конструирования нуклеиновой кислоты и ее кодированной аминокислотной последовательности рекомбинантного ракового антигена является введение мутаций, которые изменяют определенные аминокислоты во всей аминокислотной последовательности нативного ракового антигена. Введение мутаций изменяет раковый антиген не настолько, чтобы его нельзя было универсально применять к млекопитающим, предпочтительно к человеку или собаке, но изменяет его достаточно, чтобы получившаяся в результате аминокислотная последовательность нарушала толерантность или считалась чужеродным антигеном для создания иммунного ответа. Другой способ может представлять собой создание консенсусного рекомбинантного ракового антигена, который обладает по меньшей мере от 85% до 99% идентичностью аминокислотной последовательности относительно его соответствующего нативного ракового антигена; предпочтительно – по меньшей мере от 90% до 98% идентичностью последовательности; более предпочтительно – по меньшей мере от 93% до 98% идентичностью последовательности; или еще более предпочтительно – по меньшей мере от 95% до 98% идентичностью последовательности. В некоторых случаях рекомбинантный раковый антиген обладает 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью аминокислотной последовательности относительно его соответствующего нативного ракового антигена. Данный нативный раковый антиген представляет собой антиген, который, как правило, ассоциируется с определенным видом рака или раковой

опухоли. В зависимости от ракового антигена консенсусная последовательность ракового антигена может присутствовать у млекопитающих или в пределах подтипов вида, или в вирусных штаммах или серотипах. Некоторые раковые антигены не сильно отличаются от аминокислотной последовательности дикого типа ракового антигена. Некоторые раковые антигены имеют нуклеотидные/аминокислотные последовательности, которые настолько расходятся у разных видов, что нельзя получить консенсусную последовательность. В этих случаях получают рекомбинантный раковый антиген, который будет нарушать толерантность и создавать иммунный ответ, такой антиген, который имеет по меньшей мере от 85% до 99% идентичности аминокислотной последовательности относительно его соответствующего нативного ракового антигена; предпочтительно – по меньшей мере от 90% до 98% идентичности последовательности; более предпочтительно – по меньшей мере от 93% до 98% идентичности последовательности; или еще более предпочтительно – по меньшей мере от 95% до 98% идентичности последовательности. В некоторых случаях рекомбинантный раковый антиген обладает 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью аминокислотной последовательности относительно его соответствующего нативного ракового антигена. Изложенные выше подходы могут быть объединены таким образом, чтобы конечный рекомбинантный раковый антиген имел такое процентное сходство с аминокислотной последовательностью нативного ракового антигена, как описано выше.

[0025] Рекомбинантный раковый антиген способен индуцировать антиген-специфический Т-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без

ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TFG- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек.

[0026] Данную вакцину можно дополнительно комбинировать с антителами к ингибиторам контрольных точек, такими как PD-1 и PDL-1, для увеличения стимуляции как клеточного, так и гуморального иммунных ответов. Использование антител к PD-1 или PDL-1 предотвращает PD-1 или PDL-1 от супрессии ответов Т-клеток и/или В-клеток. В целом, конструирование раковых антигенов таким образом, чтобы их распознавала иммунная система, помогает преодолевать другие формы супрессии иммунного ответа опухолевыми клетками, и эти вакцины можно использовать в комбинации с терапией супрессии или ингибирования (такой как терапии антителами к PD-1 и PDL-1) для дальнейшего увеличения ответов Т-клеток и/или В-клеток.

1. Определения

[0027] Если не указано иное, все технические и научные термины, использованные в данном документе, имеют то же значение, которое обычно подразумевается обычным специалистом в данной области техники. В случае конфликта настоящий документ, в том числе определения, подлежат проверке. Предпочтительные способы и материалы описаны ниже, хотя способы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе, могут быть использованы на практике или при проверке настоящего изобретения. Все публикации, заявки на патент, патенты и другие ссылки, упомянутые в данном документе, включены посредством ссылки в полном объеме. Данные материалы, способы и примеры, описанные в данном документе, являются только иллюстративными и не предназначены для ограничения. Терминология, используемая в данном документе, предназначена для описания определенных вариантов реализации изобретения и не предназначена для ограничения.

[0028] Термины "составляют (составляет)", "включают (включает)", "имеющий", "имеет", "может", "содержат (содержит)" и их варианты, при использовании по тексту данного документа, предназначены для использования в качестве неограничивающих

переходных фраз, терминов или слов, которые не исключают возможность дополнительных действий или структур. Единственное число включает ссылку на множественное число, если из контекста явно не следует иное. Настоящее изобретение также предусматривает другие варианты "содержащий", "состоящий из" и "состоящий, по сути, из", варианты или элементы, представленные в данном документе, независимо от того, четко ли они изложены или нет.

[0029] Для перечисления числовых диапазонов в данном документе явно предполагается каждое промежуточное число между ними с той же степенью точности. Например, для диапазона 6-9 в дополнение к 6 и 9 предполагаются числа 7 и 8, а для диапазона 6,0-7,0 явно предполагаются числа 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 и 7,0.

[0030] "Адъювант", при использовании по тексту данного документа, означает любую молекулу, добавленную к вакцинам плазмидной ДНК, описанным в данном документе, с целью повышения иммуногенности антигенов, кодируемых плазмидами ДНК и кодирующих описанные ниже нуклеотидные последовательности.

[0031] "Антитело", при использовании по тексту данного документа, означает антитело классов IgG, IgM, IgA, IgD или IgE, или фрагменты, или его производные, в том числе Fab, F(ab')₂, Fd, а также одноцепочечные антитела, диатела, биспецифические антитела, бифункциональные антитела и их производные. Данное антитело может представлять собой антитело, выделенное из образца сыворотки млекопитающего, поликлональное антитело, аффинно очищенное антитело или их смеси, которые проявляют достаточную специфичность связывания по отношению к желаемому эпитопу или последовательности, полученной из него.

[0032] "Кодирующая последовательность" или "кодирующая нуклеиновая кислота", при использовании по тексту данного документа, означает нуклеиновые кислоты (молекула РНК или ДНК), содержащие нуклеотидную последовательность, которая кодирует белок. Кодирующая последовательность может дополнительно содержать сигналы инициации и терминации, функционально связанные с регуляторными элементами, в том числе промотором и сигналом полиаденилирования, способными регулировать экспрессию в клетках индивидуума или млекопитающего, которому вводят нуклеиновую кислоту.

[0033] "Комплемент" или "комплементарный", при использовании по тексту данного документа, означает, что нуклеиновая кислота может означать спаривание оснований Уотсона-Крика (например, А-Т/У и С-Г) или Хугстена между нуклеотидами или нуклеотидными аналогами молекул нуклеиновых кислот.

[0034] "Консенсус" или "консенсусная последовательность", при использовании по тексту данного документа, означает полипептидную последовательность, основанную на анализе выравнивания нескольких последовательностей для одного и того же гена из разных организмов. Могут быть получены последовательности нуклеиновых кислот, которые кодируют консенсусную полипептидную последовательность. Для индукции широкого иммунитета к антигену могут быть использованы вакцины, содержащие белки, которые содержат консенсусные последовательности и/или молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие такие белки.

[0035] "Электропорация", "электропермеабилитация" или "электрокинетическое усиление" ("ЕР"), взаимозаменяемо используемые по тексту данного документа, означают использование импульса трансмембранного электрического поля для индукции микроскопических путей (пор) в био-мембране; их присутствие позволяет биомолекулам, таким как плазмиды, олигонуклеотиды, мРНК, лекарственные средства, ионы и вода, проходить из одной стороны клеточной мембраны в другую.

[0036] "Фрагмент", при использовании по тексту данного документа, по отношению к последовательностям нуклеиновых кислот означает нуклеотидную последовательность или ее участок, кодирующий полипептид, способный вызывать иммунный ответ у млекопитающего, который дает перекрестную реакцию с антигеном, описанным в данном документе. Данные фрагменты могут представлять собой фрагменты ДНК, выбранные по меньшей мере из одной из различных нуклеотидных последовательностей, которые кодируют белковые фрагменты, описанные ниже. Фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% одной или более нуклеотидных последовательностей, описанных ниже. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты могут содержать по меньшей мере 20 нуклеотидов или более, по меньшей мере 30 нуклеотидов или

более, по меньшей мере 40 нуклеотидов или более, по меньшей мере 50 нуклеотидов или более, по меньшей мере 60 нуклеотидов или более, по меньшей мере 70 нуклеотидов или более, по меньшей мере 80 нуклеотидов или более, по меньшей мере 90 нуклеотидов или более, по меньшей мере 100 нуклеотидов или более, по меньшей мере 150 нуклеотидов или более, по меньшей мере 200 нуклеотидов или более, по меньшей мере 250 нуклеотидов или более, по меньшей мере 300 нуклеотидов или более, по меньшей мере 350 нуклеотидов или более, по меньшей мере 400 нуклеотидов или более, по меньшей мере 450 нуклеотидов или более, по меньшей мере 500 нуклеотидов или более, по меньшей мере 550 нуклеотидов или более, по меньшей мере 600 нуклеотидов или более, по меньшей мере 650 нуклеотидов или более, по меньшей мере 700 нуклеотидов или более, по меньшей мере 750 нуклеотидов или более, по меньшей мере 800 нуклеотидов или более, по меньшей мере 850 нуклеотидов или более, по меньшей мере 900 нуклеотидов или более, по меньшей мере 950 нуклеотидов или более или по меньшей мере 1000 нуклеотидов или более по меньшей мере одной из нуклеотидных последовательностей, описанных ниже.

[0037] "Фрагмент" или "иммуногенный фрагмент" в отношении полипептидных последовательностей означает полипептид, способный вызывать иммунный ответ у млекопитающего, который дает перекрестную реакцию с антигеном, описанным в данном документе. Данные фрагменты могут представлять собой полипептидные фрагменты, выбранные по меньшей мере из одной из различных аминокислотных последовательностей ниже. Фрагменты консенсусных белков могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90% или по меньшей мере 95% консенсусного белка. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты консенсусных белков могут содержать по меньшей мере 20 аминокислот или более, по меньшей мере 30 аминокислот или более, по меньшей мере 40 аминокислот или более, по меньшей мере 50 аминокислот или более, по меньшей мере 60 аминокислот или более, по меньшей мере 70 аминокислот или более, по меньшей мере 80 аминокислот или более, по меньшей мере 90 аминокислот или более, по меньшей мере 100 аминокислот или более, по меньшей мере 110 аминокислот или более, по меньшей мере 120 аминокислот или более, по меньшей мере 130 аминокислоты или более, по меньшей мере

мере 140 аминокислот или более, по меньшей мере 150 аминокислот или более, по меньшей мере 160 аминокислот или более, по меньшей мере 170 аминокислот или более, по меньшей мере 180 аминокислот или более последовательности белка, описанной в данном документе.

[0038] При использовании по тексту данного документа, термин "генетическая конструкция" относится к молекулам ДНК или РНК, содержащим нуклеотидную последовательность, которая кодирует белок. Кодирующая последовательность содержит сигналы инициации и терминации, функционально связанные с регуляторными элементами, в том числе промотором и сигналом полиаденилирования, способными регулировать экспрессию в клетках индивидуума, которому вводят молекулу нуклеиновой кислоты. При использовании по тексту данного документа, термин "экспрессируемая форма" относится к генетическим конструкциям, содержащим необходимые регуляторные элементы, функционально связанные с кодирующей последовательностью, которая кодирует белок таким образом, что при наличии их в клетке индивидуума будет происходить экспрессия кодирующей последовательности.

[0039] Термин "гомология", при использовании по тексту данного документа, относится к степени комплементарности. Может иметь место частичная гомология или полная гомология (то есть идентичность). Частично комплементарная последовательность, которая по меньшей мере частично ингибирует полностью комплементарную последовательность от гибридизации с нуклеиновой кислотой-мишенью, относится к использованию функционального термина "по сути гомологичный". При использовании по отношению к двухцепочечной нуклеотидной последовательности, такой как кДНК или геномный клон, термин "по сути гомологичный", при использовании по тексту данного документа, относится к зонду, который может гибридизоваться с цепью двухцепочечной нуклеотидной последовательности в условиях пониженной жесткости. При использовании по отношению к одноцепочечной нуклеотидной последовательности термин "по сути гомологичный", при использовании по тексту данного документа, относится к зонду, который может гибридизоваться (то есть является комплементарным) с одноцепочечной матричной нуклеотидной последовательностью в условиях пониженной жесткости.

[0040] "Идентичный" или "идентичность", при использовании по тексту данного документа, в контексте двух или более

нуклеиновых кислот или полипептидных последовательностей означает, что последовательности имеют определенный процент остатков, которые являются одинаковыми по всей указанной области. Данный процент может быть рассчитан посредством оптимального выравнивания двух последовательностей, сравнения двух последовательностей в указанной области, определения числа положений, в которых идентичные остатки присутствуют в обеих последовательностях, с получением числа совпадающих положений, деления числа совпадающих положений на общее число позиций в указанной области и умножения результата на 100 с получением процента идентичности последовательности. В случаях, когда эти две последовательности имеют различную длину и выравнивание приводит к одному или более ступенчатым концам, и указанная область сравнения содержит только одну последовательность, остатки одной последовательности включают в знаменатель, а не в числитель расчета. При сравнении ДНК и РНК тимин (Т) и урацил (U) можно рассматривать в качестве эквивалентов. Идентичность может быть выполнена вручную или с помощью компьютерного алгоритма последовательности, такого как BLAST или BLAST 2,0.

[0041] "Иммунный ответ", при использовании по тексту данного документа, означает активацию иммунной системы хозяина, например, у млекопитающего, в ответ на введение антигена. Иммунный ответ может быть в виде клеточного или гуморального ответа, или обоих.

[0042] "Нуклеиновая кислота" или "олигонуклеотид", или "полинуклеотид", при использовании по тексту данного документа, означает по меньшей мере два нуклеотида, ковалентно связанных друг с другом. Описание одиночной цепи также определяет последовательность комплементарной цепи. Таким образом, нуклеиновая кислота также охватывает комплементарную цепь приведенной одиночной цепи. Множество вариантов нуклеиновой кислоты может использоваться с той же целью, что и данная нуклеиновая кислота. Таким образом, нуклеиновая кислота также охватывает по сути идентичные нуклеиновые кислоты и их комплементы. Одиночная цепь предоставляет зонд, который может гибридизоваться с целевой последовательностью в жестких условиях гибридизации. Таким образом, нуклеиновая кислота также охватывает зонд, который гибридизуется в жестких условиях гибридизации.

[0043] Нуклеиновые кислоты могут быть одноцепочечными или двухцепочечными, или могут содержать части как двухцепочечной, так и одноцепочечной последовательности. Нуклеиновая кислота может представлять собой ДНК, как геномную, так и кДНК, РНК или гибрид, в котором нуклеиновая кислота может содержать комбинации дезоксирибо- и рибонуклеотидов, а также комбинации оснований, включающих урацил, аденин, тимин, цитозин, гуанин, инозин, ксантин, гипоксантин, изоцитозин и изогуанин. Нуклеиновые кислоты могут быть получены с применением методов химического синтеза или с применением рекомбинантных методов.

[0044] "Функционально связанный", при использовании по тексту данного документа, означает, что экспрессия гена контролируется промотором, с которым она пространственно связана. Промотор может быть расположен в направлении 5' (против хода транскрипции) или 3' (по ходу транскрипции) от контролируемого им гена. Расстояние между промотором и геном может быть примерно таким же, как расстояние между указанным промотором и контролируемым им геном в гене, из которого был получен данный промотор. Как известно в данной области техники, изменение этого расстояния может быть согласовано без потери функции промотора.

[0045] "Пептид", "белок" или "полипептид", при использовании по тексту данного документа, может означать связанную последовательность аминокислот и может быть натуральным, синтетическим или представлять собой модификацию или комбинацию натурального и синтетического.

[0046] "Промотор", при использовании по тексту данного документа, означает синтетическую или естественного происхождения молекулу, которая способна обеспечивать, активировать или усиливать экспрессию нуклеиновой кислоты в клетке. Промотор может содержать одну или более специфических транскрипционных регуляторных последовательностей, обеспечивающих дополнительное усиление экспрессии и/или регуляцию экспрессии в пространстве и/или во времени. Промотор может также содержать дистальный энхансер или репрессорные элементы, которые могут быть расположены на удалении нескольких тысяч пар оснований от сайта инициации транскрипции. Промотор может быть получен из источников, в том числе вирусных, бактериальных, грибковых, растений, насекомых и животных. Промотор может регулировать экспрессию компонента гена

конститутивно или дифференциально по отношению к клетке, ткани или органу, где происходит экспрессия, или по отношению к стадии развития, на которой происходит экспрессия, или в ответ на внешние раздражители, такие как физиологические нагрузки, патогены, ионы металлов или индуцирующие агенты. Типичные примеры промоторов включают промотор бактериофага T7, промотор бактериофага T3, промотор SP6, lac оператор-промотор, tac-промотор, поздний промотор SV40, ранний промотор SV40, промотор RSV-LTR, промотор CMV IE, ранний промотор SV40 или поздний промотор SV40 и промотор CMV IE.

[0047] "Сигнальный пептид" и "лидерная последовательность" используются по тексту данного документа взаимозаменяемо и относятся к аминокислотной последовательности, которая может быть связана на амино-конце белка, описанного в данном документе. Сигнальные пептиды/лидерные последовательности, как правило, контролируют локализацию белка. Сигнальные пептиды/лидерные последовательности, используемые в данном документе, предпочтительно облегчают секрецию белка из клетки, в которой он получен. Сигнальные пептиды/лидерные последовательности зачастую отщепляются от остальной части белка, зачастую называемого зрелым белком, при секреции из клетки. Сигнальные пептиды/лидерные последовательности связаны на амино-конце (то есть N-конце) белка.

[0048] "Жесткие условия гибридизации", при использовании по тексту данного документа, означают условия, при которых первая нуклеотидная последовательность (например, зонд) будет гибридизоваться со второй нуклеотидной последовательностью (например, мишенью), такие как в сложной смеси нуклеиновых кислот. Жесткие условия зависят от последовательности и будут различными при различных обстоятельствах. Жесткие условия могут быть выбраны таким образом, чтобы быть ниже, чем температура плавления (T_m) на около 510°C для определенной последовательности при определенной ионной силе и pH. T_m может представлять собой температуру (при определенной ионной силе, pH и концентрации нуклеиновых кислот), при которой 50% зондов, комплементарных мишени, равновесно гибридизуются с последовательностью-мишенью (так как последовательности-мишени присутствуют в избытке, при T_m , в равновесном состоянии 50% зондов занято). Жесткие условия могут представлять собой условия, в которых концентрация соли составляет менее чем около

1,0 М концентрации ионов натрия, например, около 0,01–1,0 М концентрации ионов натрия (или других солей) при рН, равном от 7,0 до 8,3, а температура составляет по меньшей мере около 30 °С для коротких зондов (например, около 10–50 нуклеотидов) и по меньшей мере около 60 °С для длинных зондов (например, более чем около 50 нуклеотидов). Жесткие условия также могут быть достигнуты посредством добавления дестабилизирующих агентов, таких как формамид. Для селективной или специфичной гибридизации положительный сигнал может составлять по меньшей мере от 2 до 10 раз фоновой гибридизации. Типовые жесткие условия гибридизации включают следующее: 50% формамида, 5x SSC и 1% SDS, инкубацию при 42 °С или 5x SSC, 1% SDS, инкубацию при 65 °С, с промывкой в 0,2x SSC и 0,1% SDS при 65 °С.

[0049] "Субъект", при использовании по тексту данного документа, может означать млекопитающее, которое хочет или нуждается в прививке описанными в данном документе вакцинами. Данное млекопитающее может представлять собой человека, шимпанзе, собаку, кошку, лошадь, корову, мышь или крысу.

[0050] "По сути, комплементарный", при использовании по тексту данного документа, означает, что первая последовательность по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентична комплементу второй последовательности на участке из 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 180, 270, 360, 450, 540 или более нуклеотидов или аминокислот, или что две данные последовательности гибридизуются в жестких условиях гибридизации.

[0051] "По сути, идентичный", при использовании по тексту данного документа, означает, что первая и вторая последовательности по меньшей мере на 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны на участке из 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 180, 270, 360, 450, 540 или более нуклеотидов или аминокислот, или относительно нуклеиновых кислот, если первая последовательность, по сути, комплементарна комплементу второй последовательности.

[0052] "Лечение" или "лечить", при использовании по тексту данного документа, может означать защиту животного от болезни посредством профилактики, подавления, сдерживания или полного устранения заболевания. Профилактика заболевания включает введение вакцины по настоящему изобретению животному до наступления данного заболевания. Подавление заболевания включает введение вакцины по настоящему изобретению животному после индукции заболевания, но до его клинического проявления. Сдерживание заболевания включает введение вакцины по настоящему изобретению животному после клинического проявления данного заболевания.

[0053] "Вариант", используемый в данном документе относительно нуклеиновых кислот, означает (i) участок или фрагмент эталонной нуклеотидной последовательности; (ii) комплемент эталонной нуклеотидной последовательности или ее участка; (iii) нуклеиновую кислоту, по сути, идентичную эталонной нуклеиновой кислоте или ее комплементу; или (iv) нуклеиновую кислоту, которая гибридизуется в жестких условиях с эталонной нуклеиновой кислотой, ее комплементом, или, по сути, идентичными ей последовательностями.

[0054] "Вариант" по отношению к пептиду или полипептиду, который отличается по аминокислотной последовательности инсерцией, делецией или консервативной заменой аминокислот, но при этом сохраняет по меньшей мере одну биологическую активность. Вариант может также означать белок с аминокислотной последовательностью, по сути, идентичной эталонному белку с аминокислотной последовательностью, которая сохраняет по меньшей мере одну биологическую активность. Консервативная замена аминокислоты, то есть замена аминокислоты другой аминокислотой со сходными свойствами (например, гидрофильностью, степенью и распределением заряженных областей) признается в данной области техники, как правило, заменой с незначительным изменением. Эти незначительные изменения могут быть определены, в частности, при рассмотрении индекса гидрофобности аминокислот, как это понимается в данной области техники. Kyte et al., J. Mol. Biol. 157:105-132 (1982). Данный индекс гидрофобности аминокислоты основан на рассмотрении ее гидрофобности и заряда. В данной области техники известно, что аминокислоты со сходными индексами гидрофобности могут быть замещены и по-прежнему сохранять функцию белка. В одном аспекте аминокислоты, имеющие индексы

гидрофобности ± 2 , являются замещенными. Гидрофильность аминокислот также может быть использована для выявления замен, которые могли бы привести к белкам, сохраняющим биологическую функцию. Рассмотрение гидрофильности аминокислот в контексте пептида позволяет рассчитывать наибольшую локальную среднюю гидрофильность этого пептида, полезное измерение, которое, как сообщается, хорошо коррелирует с антигенностью и иммуногенностью. Патент США № 4554101, включенный в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Замена аминокислот, имеющих подобные значения гидрофильности, может привести к пептидам, сохраняющим биологическую активность, например, иммуногенность, как известно в данной области техники. Замены могут быть выполнены аминокислотами, имеющими значения гидрофильности в пределах ± 2 относительно друг друга. Как на индекс гидрофобности, так и на значение гидрофильности аминокислот влияет определенная боковая цепь этой аминокислоты. В соответствии с этим наблюдением следует понимать, что аминокислотные замены, которые совместимы с биологической функцией, зависят от относительного сходства аминокислот, и особенно боковых цепей этих аминокислот, по данным исследования гидрофобности, гидрофильности, заряда, размера и других свойств.

[0055] Вариант может представлять собой нуклеотидную последовательность, которая, по сути, идентична по всей длине всей последовательности гена или его фрагмента. Нуклеотидная последовательность может быть на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична по всей длине последовательности гена или его фрагмента. Вариант может представлять собой аминокислотную последовательность, которая по сути идентична по всей длине аминокислотной последовательности или ее фрагмента. Аминокислотная последовательность может быть на 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентична по всей длине аминокислотной последовательности или ее фрагмента.

[0056] "Вектор", при использовании по тексту данного документа, означает нуклеотидную последовательность, содержащую точку начала репликации. Вектор может представлять собой вирусный вектор, бактериофаг, искусственную хромосому бактерий или искусственную хромосому дрожжей. Вектор может представлять собой вектор ДНК или РНК. Вектор может представлять собой

самореплицирующийся внехромосомный вектор и предпочтительно представляет собой плазмиду ДНК. Данный вектор может содержать или включать одну или более гетерологичных нуклеотидных последовательностей.

2. Вакцина

[0057] Настоящее изобретение направлено на создание вакцины против рака. Данная вакцина может содержать один или более раковых антигенов. Вакцина может предотвращать развитие опухоли. Вакцина может уменьшать развитие опухоли. Вакцина может предотвращать метастазирование опухолевых клеток. В зависимости от ракового антигена вакцина может быть направлена на лечение рака печени, рака предстательной железы, меланомы, рака крови, рака головы и шеи, глиобластомы, рецидивирующего респираторного папилломатоза, рака анального канала, рака шейки матки и рака мозга.

[0058] Первым шагом в разработке вакцины является распознавание ракового антигена, который не распознается иммунной системой и представляет собой аутоантиген. Распознанный раковый антиген меняется с аутоантигена на чужеродный антиген с целью распознавания иммунной системой. Реконструирование нуклеотидной и аминокислотной последовательности рекомбинантного ракового антигена с аутоантигена на чужеродный антиген нарушает толерантность антигена с помощью иммунной системы. Для того чтобы нарушить толерантность, к раковому антигену может быть применено несколько средств реконструирования, как описано ниже.

[0059] Рекомбинантный раковый антиген вакцины не распознается как аутоантиген, тем самым нарушая толерантность. Нарушение толерантности способно индуцировать антиген-специфический Т-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более

факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TFG- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек.

[0060] В конкретном варианте реализации изобретения вакцина может опосредовать клиренс или предотвращать развитие опухолевых клеток посредством индукции (1) гуморального иммунитета за счет ответов В-клеток с получением антител, которые блокируют образование моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1), тем самым замедляя супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC) и подавляя развитие опухоли; (2) увеличения цитотоксических Т-лимфоцитов, таких как CD8⁺ (CTL), чтобы атаковать и убивать опухолевые клетки; (3) увеличения ответов клеток Т-хелперов; (4) и увеличения воспалительных реакций за счет IFN- γ и TFN- α , или предпочтительно всего из указанного выше. Вакцина может увеличивать безопухолевую выживаемость на 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44% и 45%. Вакцина может уменьшать опухолевое образование на 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59% и 60% после иммунизации. Вакцина может предотвращать и блокировать увеличение моноцитарного хемоаттрактантного белка 1 (MCP-1), цитокина, секретируемого супрессорными клетками миелоидного происхождения. Вакцина может увеличивать опухолевую выживаемость на 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59% и 60%.

[0061] Вакцина может увеличивать клеточный иммунный ответ у субъекта, которому вводят вакцину, до от около 50-кратного до около 6000-кратного, от около 50-кратного до около 5500-кратного, от около 50-кратного до около 5000-кратного, от около 50-кратного до около 4500-кратного, от около 100-кратного до около 6000-кратного, от около 150-кратного до около 6000-кратного, от около 200-кратного до около 6000-кратного, от около

250-кратного до 6000-кратного или от около 300-кратного до около 6000-кратного размера по сравнению с клеточным иммунным ответом у субъекта, которому не вводят вакцину. В некоторых вариантах реализации изобретения вакцина может увеличивать клеточный иммунный ответ у субъекта, которому вводят вакцину, почти в около 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900, 3000, 3100, 3200, 3300, 3400, 3500, 3600, 3700, 3800, 3900, 4000, 4100, 4200, 4300, 4400, 4500, 4600, 4700, 4800, 4900, 5000, 5100, 5200, 5300, 5400, 5500, 5600, 5700, 5800, 5900 или 6000 раз по сравнению с клеточным иммунным ответом у субъекта, которому не вводят вакцину.

[0062] Вакцина может повышать уровни гамма-интерферона (IFN- γ) у субъекта, которому вводят вакцину, до от около 50-кратного до около 6000-кратного, от около 50-кратного до 5500-кратного, от около 50-кратного до около 5000-кратного, от около 50-кратного до около 4500-кратного, от около 100-кратного до около 6000-кратного, от около 150-кратного до около 6000-кратного, от около 200-кратного до около 6000-кратного, от около 250-кратного до около 6000-кратного или от около 300-кратного до около 6000-кратного размера по сравнению с уровнями IFN- γ у субъекта, которому не вводят вакцину. В некоторых вариантах реализации изобретения вакцина может увеличивать уровни IFN- γ у субъекта, которому вводят вакцину, почти в около 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900, 3000, 3100, 3200, 3300, 3400, 3500, 3600, 3700, 3800, 3900, 4000, 4100, 4200, 4300, 4400, 4500, 4600, 4700, 4800, 4900, 5000, 5100, 5200, 5300, 5400, 5500, 5600, 5700, 5800, 5900 или 6000 раз по сравнению с уровнями IFN- γ у субъекта, которому не вводят вакцину.

[0063] Вакцина может представлять собой ДНК-вакцину. ДНК-вакцины раскрыты в патентах США №№ 5593972, 5739118, 5817637, 5830876, 5962428, 5,981,505, 5580859, 5703055 и 5676594, которые включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме. ДНК-вакцина может дополнительно содержать элементы или реагенты, которые ингибируют ее от интеграции в хромосому.

[0064] Вакцина может представлять собой РНК одного или более раковых антигенов. РНК-вакцина может быть введена в клетку.

[0065] Вакцина может представлять собой ослабленную живую вакцину, вакцину с использованием рекомбинантных векторов для доставки антигена, субъединичные вакцины и вакцины гликопротеинов, например, без ограничения ими, вакцины, описанные в патентах США №№: 4510245; 4797368; 4722848; 4790987; 4920209; 5017487; 5077044; 5110587; 5112749; 5174993; 5223424; 5225336; 5240703; 5242829; 5294441; 5294548; 5310668; 5387744; 5389368; 5424065; 5451499; 5453364; 5462734; 5470734; 5474935; 5482713; 5591439; 5643579; 5650309; 5698202; 5955088; 6034298; 6042836; 6156319 и 6589529, которые включены в данный документ посредством ссылки.

[0066] Вакцина по данному изобретению может обладать необходимыми характеристиками эффективных вакцин, такими как безопасность, таким образом, чтобы вакцина как таковая не вызывала заболевание или смерть; защита от заболевания; индукция нейтрализующего антитела; индукция защитных ответов Т-клеток; а также обеспечение возможности простоты введения, незначительное количество побочных эффектов, биологическая стабильность и низкая стоимость дозы. Вакцина может выполнять некоторые или все из этих функций за счет содержания ракового антигена, описанного ниже.

[0067] Как более подробно описано ниже, вакцина может дополнительно содержать один или более ингибиторов одной или более молекул иммунных контрольных точек (то есть ингибитор иммунной контрольной точки). Молекулы иммунных контрольных точек описаны ниже более подробно. Данный ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой любую нуклеиновую кислоту или белок, который предотвращает супрессию любого компонента в иммунной системе, например, презентацию МНС, презентацию и/или дифференцировку Т-клеток, презентацию и/или дифференцировку В-клеток, любого цитокина, хемокина или сигнализацию для пролиферации и/или дифференцировки иммунных клеток. Как также более подробно описано ниже, вакцину можно дополнительно комбинировать с антителами к ингибиторам контрольных точек, такими как PD-1 и PDL-1, для увеличения стимуляции как клеточного, так и гуморального иммунных ответов. Использование

антител к PD-1 или PDL-1 предотвращает PD-1 или PDL-1 от супрессии ответов Т-клеток и/или В-клеток.

Раковый антиген

[0068] Данная вакцина может содержать один или более раковых антигенов. Данный раковый антиген может представлять собой нуклеотидную последовательность, аминокислотную последовательность или их комбинацию. Нуклеотидная последовательность может представлять собой ДНК, РНК, кДНК, их вариант, их фрагмент или их комбинацию. Нуклеотидная последовательность может также содержать дополнительные последовательности, кодирующие последовательности линкера или метки, которые соединены с раковым антигеном пептидной связью. Аминокислотная последовательность может представлять собой белок, пептид, их вариант, их фрагмент или их комбинацию. Раковый антиген может представлять собой рекомбинантный раковый антиген.

[0069] Одним из способов конструирования нуклеиновой кислоты и ее кодированной аминокислотной последовательности рекомбинантного ракового антигена является введение мутаций, которые изменяют определенные аминокислоты во всей аминокислотной последовательности нативного ракового антигена. Введение мутаций изменяет раковый антиген не настолько, чтобы его нельзя было универсально применять к млекопитающим, предпочтительно к человеку или собаке, но изменяет его достаточно, чтобы получившаяся в результате аминокислотная последовательность нарушала толерантность или считалась чужеродным антигеном для создания иммунного ответа. Другой способ может представлять собой создание консенсусного рекомбинантного ракового антигена, который обладает по меньшей мере от 85% до 99% идентичностью аминокислотной последовательности относительно его соответствующего нативного ракового антигена; предпочтительно – по меньшей мере от 90% до 98% идентичностью последовательности; более предпочтительно – по меньшей мере от 93% до 98% идентичностью последовательности; или еще более предпочтительно – по меньшей мере от 95% до 98% идентичностью последовательности. В некоторых случаях рекомбинантный раковый антиген обладает 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью аминокислотной последовательности относительно его соответствующего нативного ракового антигена. Данный нативный раковый антиген представляет собой антиген, который,

как правило, ассоциируется с определенным видом рака или раковой опухоли. В зависимости от ракового антигена консенсусная последовательность ракового антигена может присутствовать у млекопитающих или в пределах подтипов вида, или в вирусных штаммах или серотипах. Некоторые раковые антигены не сильно отличаются от аминокислотной последовательности дикого типа ракового антигена. Некоторые раковые антигены имеют нуклеотидные/аминокислотные последовательности, которые настолько расходятся у разных видов, что нельзя получить консенсусную последовательность. В этих случаях получают рекомбинантный раковый антиген, который будет нарушать толерантность и создавать иммунный ответ, такой антиген, который имеет по меньшей мере от 85% до 99% идентичности аминокислотной последовательности относительно его соответствующего нативного ракового антигена; предпочтительно – по меньшей мере от 90% до 98% идентичности последовательности; более предпочтительно – по меньшей мере от 93% до 98% идентичности последовательности; или еще более предпочтительно – по меньшей мере от 95% до 98% идентичности последовательности. В некоторых случаях рекомбинантный раковый антиген обладает 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью аминокислотной последовательности относительно его соответствующего нативного ракового антигена. Указанные выше подходы могут быть объединены таким образом, чтобы конечный рекомбинантный раковый антиген имел процентное сходство с аминокислотной последовательностью нативного ракового антигена, как описано выше.

[0070] Раковым антигеном может быть один или более из следующих антигенов: тирозиназа (Tyr), тирозиназа-зависимый белок 1 (TYRP1), тирозиназа-зависимый белок 2 (TYRP2), ассоциированный с меланомой антиген 4 (MAGEA4), аминокислотная последовательность гормона, высвобождающего гормон роста (GHRH), аминокислотная последовательность антигена MART-1/melan-A (MART-1/Melan-A), раково-тестикулярный антиген (NY-ESO-1), раково-тестикулярный антиген II (NY-ESO-1) и PRAME. Вакцина может представлять собой ДНК-вакцину, содержащую полинуклеотидные последовательности, кодирующие тирозиназу (Tyr), тирозиназа-зависимый белок 1 (TYRP1), тирозиназа-зависимый белок 2 (TYRP2), ассоциированный с меланомой антиген 4 (MAGEA4), аминокислотную последовательность гормона, высвобождающего гормон роста (GHRH), аминокислотную последовательность антигена MART-1/melan-A (MART-

1/Melan-A), раково-тестикулярный антиген (NY-ESO-1), раково-тестикулярный антиген II (NY-ESO-1), PRAME, вирусный антиген или их комбинации. Вирусный антиген может представлять собой один или более антигенов из следующих вирусов: вирус гепатита В (например, коровый белок и поверхностный белок), вирус гепатита С (например, неструктурный белок (NS) 34A (NS34A), NS5A, NS5B, NS4B), а также вирус папилломы человека (HPV) 6, HPV 11, HPV 16 и HPV 18.

(1) Тирозиназа (Tyr)

[0071] Вакцина по данному изобретению может содержать раковый антиген тирозиназа (Tyr), ее фрагмент или ее вариант. Тирозиназа представляет собой медьсодержащий фермент, обладающий каталитической активностью тирозингидроксилазы и ДОФА-оксидазы, которые могут быть получены из микроорганизмов и тканей растений и животных. В частности, тирозиназа катализирует образование меланина и других пигментов посредством окисления фенолов, таких как тирозин. Мутации в гене *TYR* приводят к глазокожному альбинизму у млекопитающих, а непатологический полиморфизм в гене *TYR* способствует изменению пигментации кожи.

[0072] Кроме того, при раке или опухолях, таких как меланома, тирозиназа может стать нерегулируемой, что приводит к повышенному синтезу меланина. Соответственно, тирозиназа может представлять собой раковый антиген, ассоциированный с меланомой. У субъектов, страдающих меланомой, тирозиназа может являться мишенью цитотоксического Т-клеточного распознавания. Тем не менее, в некоторых случаях иммунный ответ на рак или опухоль (в том числе меланому) может быть подавлен, приводя к микросреде, которая поддерживает образование и/или развитие опухоли и, следовательно, развитие заболевания.

[0073] Супрессия иммунного ответа может быть облегчена с помощью супрессорных клеток миелоидного происхождения (MDSC), которые представляют собой смешанную популяцию незрелых макрофагов, гранулоцитов, дендритных клеток и миелоидных клеток. Миелоидные клетки могут представлять собой гетерогенную популяцию миелоидных клеток-предшественников и незрелых миелоидных клеток (IMC). Маркеры MDSC могут включать экспрессию Gr-1 и CD11b (то есть клеток Gr-1⁺ и CD11b⁺).

[0074] Циркуляция MDSC может увеличиваться в связи с хронической инфекцией, а увеличение популяций MDSC может быть связано с аутоиммунной реакцией и воспалением. В частности,

увеличение MDSC (или наличие в опухолевой или раковой ткани) может способствовать развитию опухоли и ускользанию от иммунного детектирования и/или регуляции, и, таким образом, MDSC могут влиять на иммунные ответы на противораковые вакцины.

[0075] MDSC можно регулировать с помощью Регулятора сигнализации G-белка 2 (Rgs2), и Rgs2 может сильно экспрессироваться в MDSC, полученных из опухолей. Rgs2 также может широко экспрессироваться в различных клетках, например, миелоидных клетках. MDSC, полученные из мышей-опухоленосителей, могут функционировать иначе, чем MDSC, полученные из мышей, которые не являются опухоленосителями. Одним из таких различий может быть регуляция образования хемокина MCP-1, который секретируется с помощью MDSC. MCP-1 может способствовать миграции клеток за счет сигнализации через CCR2, сопряженный с G-белком рецептор (GPCR), обнаруженный на моноцитах, эндотелиальных клетках и T-клетках. Соответственно, MCP-1 может привести к миграции эндотелиальных клеток, тем самым способствуя васкуляризации. Блокирование MCP-1 с помощью нейтрализующих антител может ингибировать ангиогенез и, таким образом, может приводить к снижению метастаз опухоли и увеличению выживаемости. Таким образом, MCP-1 можно считать ангиогенным фактором. Помимо секреции MCP-1 MDSC могут секретировать факторы роста, тем самым дополнительно способствуя развитию опухоли.

[0076] Антиген Tyr способен индуцировать антиген-специфический T-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию MHC, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные T-клетки

(Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TGF- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

[0077] Как показано в данном документе, антиген T_{yr} индуцирует антиген-специфический Т-клеточный и интенсивный гуморальный иммунные ответы против раковых или опухолевых клеток (например, клеток меланомы). В частности, антиген T_{yr} является важной мишенью для иммуно-опосредованного клиренса посредством индукции (1) гуморального иммунитета за счет ответов В-клеток с получением антител, которые блокируют образование моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1), тем самым замедляя супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC) и подавляя развитие опухоли; (2) увеличения цитотоксических Т-лимфоцитов, таких как CD8⁺ (CTL), чтобы атаковать и убивать опухолевые клетки; (3) увеличения ответов клеток Т-хелперов; (4) и увеличения воспалительных реакций за счет IFN- γ и TNF- α , или предпочтительно всего из указанного выше. Таким образом, обеспечивается защитный иммунный ответ на онкогенез и развитие опухоли с помощью вакцин, содержащих антиген T_{yr} (например, консенсусный антиген T_{yr}, который более подробно описан ниже), в связи с тем, что эти вакцины предотвращают супрессию иммунного ответа посредством уменьшения популяции MDSC, обнаруженной в раковой или опухолевой ткани, и блокирования васкуляризации раковой или опухолевой ткани посредством уменьшения образования или секреции MCP-1. Соответственно, любой пользователь может создать вакцину по настоящему изобретению, содержащую антиген T_{yr}, с целью обеспечения широкого иммунитета к онкогенезу, метастазированию опухолей и развитию опухоли.

[0078] Антиген T_{yr} может содержать эпитопы белков, которые делают их особенно эффективными в качестве иммуногенов, на которые могут индуцироваться иммунные ответы к T_{yr}. Антиген T_{yr} может содержать полноразмерный продукт трансляции, его вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антиген T_{yr} может содержать консенсусный белок.

[0079] Нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген T_{yr}, можно оптимизировать в отношении частоты использования кодона и соответствующих РНК-транскриптов. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген T_{yr}, может

быть кодон- и РНК оптимизированной для экспрессии. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный антиген Tyr, может содержать последовательность Козак (например, GCC ACC) для увеличения эффективности трансляции. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген Tyr, может содержать несколько стоп-кодонов (например, TGA TGA) для увеличения эффективности терминации трансляции.

[0080] Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген Tyr, может также кодировать лидерную последовательность иммуноглобулина E (IgE). Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген Tyr, может дополнительно кодировать лидерную последовательность IgE таким образом, что аминокислотная последовательность лидерной последовательности IgE связывается с аминокислотной последовательностью консенсусного антигена Tyr пептидной связью. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген Tyr, может также содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген Tyr, не имеет или не содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE.

[0081] Консенсусный антиген Tyr может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 1, которая кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 2. Последовательность SEQ ID NO: 1 кодирует консенсусный белок Tyr, связанный с лидерной последовательностью IgE. Консенсусный белок Tyr может быть связан с лидерной последовательностью IgE и НА-меткой. В других вариантах реализации изобретения консенсусный белок Tyr может не содержать или не быть связанным с лидерной последовательностью IgE и/или НА-меткой.

[0082] В некоторых вариантах реализации изобретения консенсусный антиген Tyr может представлять собой нуклеотидную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 1. В других вариантах реализации изобретения консенсусный антиген Tyr может представлять собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, обладающую

по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 2. Консенсусный антиген Tyr может представлять собой аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 2.

[0083] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки, гомологичные консенсусному белку Tyr, иммуногенному фрагменту консенсусного белка Tyr и иммуногенным фрагментам гомологичных белков. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 95% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 96% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 97% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 98% гомологии относительно консенсусной последовательности и до 99%, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков, которые гомологичны белкам, приведенным в данном документе.

[0084] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 95% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 96% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 97% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 98% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к

молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 99% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения молекулы нуклеиновых кислот с кодирующими последовательностями, описанными в данном документе, которые гомологичны кодирующей последовательности консенсусного белка, описанного в данном документе, включают последовательности, кодирующие лидерную последовательность IgE, связанную с 5'-концом кодирующей последовательности, кодирующей гомологичные последовательности белков, описанные в данном документе.

[0085] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки с определенным процентом идентичности относительно полноразмерного консенсусного белка Tyr, иммуногенного фрагмента консенсусного белка Tyr и иммуногенных фрагментов белков, обладающих идентичностью относительно консенсусного белка Tyr. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 80% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Tyr, до 85% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности, до 90% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Tyr, до 91% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Tyr, до 92% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Tyr, до 93% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Tyr, до 94% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Tyr, до 95% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Tyr, до 96% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Tyr, до 97% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Tyr, до 98% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Tyr и до 99% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Tyr, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков с аналогичным

процентом идентичности, как указано выше, относительно белков T_μr, описанных в данном документе.

[0086] В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность IgE.

[0087] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к фрагментам последовательности SEQ ID NO: 1. Фрагменты могут составлять по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 1. Фрагменты могут быть по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% гомологичны фрагментам последовательности SEQ ID NO: 1. Фрагменты могут быть 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% или по меньшей мере на 99% идентичны фрагментам последовательности SEQ ID NO: 1. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат последовательности, кодирующие лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такую как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[0088] Кроме того, аминокислотная последовательность консенсусного белка T_μr представляет собой SEQ ID NO: 2.

Аминокислотная последовательность консенсусного белка Tyr, связанного с лидерной последовательностью IgE, представляет собой SEQ ID NO: 2. Аминокислотная последовательность консенсусного белка Tyr, связанного с лидерной последовательностью IgE, может быть связана с НА-меткой.

[0089] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые гомологичны последовательности SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 95% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 96% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 97% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 98% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 99% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 2.

[0090] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые идентичны последовательности SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 80% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 85% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 90% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной

последовательностью, которая на 91% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 92% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 93% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 94% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 95% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 96% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 97% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 98% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 99% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 2.

[0091] В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность IgE. Фрагменты консенсусных белков могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей

мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% консенсусного белка. Иммуногенные фрагменты последовательности SEQ ID NO: 2 могут быть предоставлены. Иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[0092] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, гомологичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 2, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 95% или более гомологичны последовательности SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 96% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых

последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 97% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 98% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 99% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[0093] Могут быть предоставлены иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, идентичными относительно иммуногенных фрагментов последовательности SEQ ID NO: 2. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 2. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат

лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[0094] Согласно изложенному в данном документе в отношении соединения сигнального пептида или лидерной последовательности с N-концом белка, сигнальный пептид/лидерная последовательность замещает N-концевой метионин белка, который кодируется стартовым кодоном нуклеотидной последовательности, затем кодирует белок без кодирующих сигнальных пептидов последовательностей.

(2) Тирозиназа-зависимый белок 1 (TYRP1)

[0095] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген тирозиназа-зависимый белок 1 (TYRP1), его фрагмент или его вариант. TYRP1, кодируемый геном TYRP1, представляет собой трансмембранный гликопротеин с молекулярной массой, составляющей 75 кДа, и экспрессируется как в нормальных, так и в злокачественных меланоцитах и клетках меланомы. Подобно тирозиназе, TYRP1 содержит модифицированный потенциальный M-бокс, который может связываться с фактором транскрипции микрофталмии (MITF), играющим центральную роль в структуре меланоцитов для активации пигментации, пролиферации и дифференцировки клеток. TYRP1 может помогать стабилизировать тирозиназу и может образовывать гетеродимер, который может предотвращать преждевременную гибель меланоцитов посредством ослабления тирозиназа-опосредованной цитотоксичности.

[0096] Как описано выше применительно к тирозиназе, тирозиназа-зависимый белок 1 (TYRP-1) может также принимать участие в синтезе меланина и пигментного аппарата меланоцитов, а также может распознаваться иммунной системой у субъектов, страдающих от меланомы. Соответственно, TYRP-1 может представлять собой ассоциированный с меланомой антиген.

[0097] Антиген TRYP-1 способен индуцировать антиген-специфический T-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других

вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TFG- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

[0098] Антиген TYRP-1 может содержать эпитопы белков, которые делают их особенно эффективными в качестве иммуногенов, на которые могут индуцироваться иммунные ответы к TYRP-1. Антиген TYRP-1 может содержать полноразмерный продукт трансляции, его вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антиген TYRP-1 может содержать консенсусный белок.

[0099] Нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген TYRP-1, можно оптимизировать в отношении частоты использования кодона и соответствующих РНК-транскриптов. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген TYRP-1, может быть кодон- и РНК оптимизированной для экспрессии. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный антиген TYRP-1, может содержать последовательность Козак (например, GCC ACC) для увеличения эффективности трансляции. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген TYRP-1, может содержать несколько стоп-кодонов (например, TGA TGA) для увеличения эффективности терминации трансляции.

[00100] Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген TYRP-1, может также кодировать лидерную последовательность иммуноглобулина Е (IgE). Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген TYRP-1, может дополнительно кодировать лидерную последовательность IgE таким образом, что аминокислотная последовательность лидерной последовательности IgE связывается с аминокислотной последовательностью консенсусного антигена TYRP-1 пептидной связью. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген TYRP-1, может также содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации

изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген TYRP-1, не имеет или не содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE.

[00101] Консенсусный антиген TYRP-1 может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3, которая кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4. Последовательность SEQ ID NO: 3 кодирует консенсусный белок TYRP-1, связанный с лидерной последовательностью IgE. Консенсусный белок TYRP-1 может быть связан с лидерной последовательностью IgE и HA-меткой. В других вариантах реализации изобретения консенсусный белок TYRP-1 может не содержать или не быть связанным с лидерной последовательностью IgE и/или HA-меткой.

[00102] В некоторых вариантах реализации изобретения консенсусный антиген TYRP-1 может представлять собой нуклеотидную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 3. В других вариантах реализации изобретения консенсусный антиген TYRP-1 может представлять собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 4. Консенсусный антиген TYRP-1 может представлять собой аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 4.

[00103] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки, гомологичные консенсусному белку TYRP-1, иммуногенному фрагменту консенсусного белка TYRP-1 и иммуногенным фрагментам гомологичных белков. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 95% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 96% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 97% гомологии

относительно консенсусной последовательности, до 98% гомологии относительно консенсусной последовательности и до 99%, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков, которые гомологичны белкам, приведенным в данном документе.

[00104] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 95% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 96% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 97% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 98% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 99% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения молекулы нуклеиновых кислот с кодирующими последовательностями, описанными в данном документе, которые гомологичны кодирующей последовательности консенсусного белка, описанного в данном документе, включают последовательности, кодирующие лидерную последовательность IgE, связанную с 5'-концом кодирующей последовательности, кодирующей гомологичные последовательности белков, описанные в данном документе.

[00105] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки с определенным процентом идентичности относительно полноразмерного консенсусного белка TYRP-1, иммуногенного фрагмента консенсусного белка TYRP-1 и иммуногенных фрагментов белков, обладающих идентичностью относительно консенсусного белка TYRP-

1. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 80% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP-1, до 85% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP-1, до 90% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP-1, до 91% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP-1, до 92% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP-1, до 93% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP-1, до 94% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP-1, до 95% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP-1, до 96% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP-1, до 97% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP-1, до 98% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP-1 и до 99% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP-1, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков с аналогичным процентом идентичности, как указано выше, относительно белков TYRP-1, описанных в данном документе.

[00106] В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность IgE.

[00107] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к фрагментам последовательности SEQ ID NO: 3. Фрагменты могут составлять по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере

мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 3. Фрагменты могут быть по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% гомологичны фрагментам последовательности SEQ ID NO: 3. Фрагменты могут быть 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% или по меньшей мере на 99% идентичны фрагментам последовательности SEQ ID NO: 3. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат последовательности, кодирующие лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такую как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00108] Кроме того, аминокислотная последовательность консенсусного белка TYRP-1 представляет собой SEQ ID NO: 4. Аминокислотная последовательность консенсусного белка TYRP-1, связанного с лидерной последовательностью IgE, представляет собой SEQ ID NO: 4. Аминокислотная последовательность консенсусного белка TYRP-1, связанного с лидерной последовательностью IgE, может быть связана с НА-меткой.

[00109] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые гомологичны последовательности SEQ ID NO: 4. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 95% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 4. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 96% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 4. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 97% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 4.

консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 4. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 96% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 4. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 97% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 4. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 98% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 4. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 99% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 4.

[00111] В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность IgE. Фрагменты консенсусных белков могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% консенсусного белка TYRP-1. Иммуногенные фрагменты последовательности SEQ ID NO: 4 могут быть предоставлены. Иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 4. В некоторых

вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00112] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, гомологичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 4, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по крайней мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 95% или более гомологичны последовательности SEQ ID NO: 4. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 96% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 97% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 98% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 99% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат

лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00113] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, идентичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 4, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 4. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00114] Согласно изложенному в данном документе в отношении соединения сигнального пептида или лидерной последовательности с N-концом белка, сигнальный пептид/лидерная последовательность замещает N-концевой метионин белка, который кодируется стартовым кодоном нуклеотидной последовательности, затем кодирует белок без кодирующих сигнальный пептид последовательностей.

(3) Тирозиназа-зависимый белок 2 (TYRP2)

[00115] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген тирозиназа-зависимый белок 2 (TYRP2; также известный как допахром таутомераза (DCT)), его фрагмент или его вариант. TYRP2/DCT, кодируемый геном TYRP2/DCT, представляет собой белок, состоящий из 519 аминокислот, и экспрессируется как в нормальных, так и в злокачественных меланоцитах и клетках меланомы. TYRP2/DCT представляет собой хорошо изученный меланоцит-специфический фермент, который в сочетании с тирозиназой и TYRP1 участвует в превращении L-тирозина в меланин в меланоцитах. DCT специально катализирует таутомеризацию

предшественников меланина L-допахрома в 5,6-дигидроиндол-2-карбоновой кислоты (DHICA), который впоследствии окисляется с помощью TYRP1 (который описан выше) с образованием эумеланина. Исследования показали, что TYRP2/DCT может являться посредником устойчивости к лекарственным препаратам в клетках меланомы, со специфичностью для ДНК-повреждающих агентов. Так как неоднократно сообщалось, что TYRP2/DCT сильно экспрессируется в меланомах, этот меланоцит-специфический фермент играет важную роль, способствуя фенотипу меланомы с истинной резистентностью к различным противораковым ДНК-повреждающим препаратам.

[00116] Как описано выше применительно к тирозиназе, тирозиназа-зависимый белок 2 (TYRP-2) может также принимать участие в синтезе меланина и распознаваться иммунной системой у субъектов, страдающих от меланомы. Кроме того, TYRP-2 может опосредовать устойчивость к лекарственным препаратам в клетках меланомы. Соответственно, TYRP-2 может представлять собой ассоциированный с меланомой антиген.

[00117] Антиген TYRP-2 способен индуцировать антиген-специфический Т-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TGF- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

[00118] Антиген TYRP2 может содержать эпитопы белков, которые делают их особенно эффективными в качестве иммуногенов, на которые могут индуцироваться иммунные ответы к TYRP2. Антиген TYRP2 может содержать полноразмерный продукт трансляции, его вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антиген TYRP2 может содержать консенсусный белок.

[00119] Нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген TYRP2, можно оптимизировать в отношении частоты использования кодона и соответствующих РНК-транскриптов. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген TYRP2, может быть кодон- и РНК оптимизированной для экспрессии. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный антиген TYRP2, может содержать последовательность Козак (например, GCC ACC) для увеличения эффективности трансляции. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген TYRP2, может содержать несколько стоп-кодонов (например, TGA TGA) для увеличения эффективности терминации трансляции.

[00120] Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген TYRP2, может также кодировать лидерную последовательность иммуноглобулина Е (IgE). Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген TYRP2, может дополнительно кодировать лидерную последовательность IgE таким образом, что аминокислотная последовательность лидерной последовательности IgE связывается с аминокислотной последовательностью консенсусного антигена TYRP2 пептидной связью. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген TYRP2, может также содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген TYRP2, не имеет или не содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE.

[00121] Консенсусный антиген TYRP2 может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 5, которая кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 6. Последовательность SEQ ID NO: 5 кодирует консенсусный белок TYRP2, связанный с лидерной последовательностью IgE. Консенсусный белок TYRP2 может быть связан с лидерной последовательностью IgE и НА-меткой. В других вариантах реализации изобретения консенсусный белок TYRP2 может не

содержать или не быть связанным с лидерной последовательностью IgE и/или HA-меткой.

[00122] В некоторых вариантах реализации изобретения консенсусный антиген TYRP2 может представлять собой нуклеотидную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 5. В других вариантах реализации изобретения консенсусный антиген TYRP2 может представлять собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 6. Консенсусный антиген TYRP2 может представлять собой аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 6.

[00123] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки, гомологичные консенсусному белку TYRP2, иммуногенному фрагменту консенсусного белка TYRP2 и иммуногенным фрагментам гомологичных белков. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 95% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 96% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 97% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 98% гомологии относительно консенсусной последовательности и до 99%, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков, которые гомологичны белкам, приведенным в данном документе.

[00124] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 95% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам

нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 96% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 97% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 98% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 99% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения молекулы нуклеиновых кислот с кодирующими последовательностями, описанными в данном документе, которые гомологичны кодирующей последовательности консенсусного белка, описанного в данном документе, включают последовательности, кодирующие лидерную последовательность IgE, связанную с 5'-концом кодирующей последовательности, кодирующей гомологичные последовательности белков, описанные в данном документе.

[00125] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки с определенным процентом идентичности относительно полноразмерного консенсусного белка TYRP2, иммуногенного фрагмента консенсусного белка TYRP2 и иммуногенных фрагментов белков, обладающих идентичностью относительно консенсусного белка TYRP2. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 80% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP2, до 85% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности, до 90% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP2, до 91% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP2, до 92% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP2, до 93% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP2, до 94% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP2, до 95%

идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP2, до 96% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP2, до 97% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP2, до 98% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP2 и до 99% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности TYRP2, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков с аналогичным процентом идентичности, как указано выше, относительно белков TYRP2, описанных в данном документе.

[00126] В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность IgE.

[00127] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к фрагментам последовательности SEQ ID NO: 5. Фрагменты могут составлять по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 5. Фрагменты могут быть по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% гомологичны фрагментам последовательности SEQ ID NO: 5. Фрагменты могут быть 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% или по меньшей мере на 99% идентичны фрагментам последовательности SEQ ID NO: 5. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат

последовательности, кодирующие лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такую как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00128] Кроме того, аминокислотная последовательность консенсусного белка TYRP2 представляет собой SEQ ID NO: 6. Аминокислотная последовательность консенсусного белка TYRP2, связанного с лидерной последовательностью IgE, представляет собой SEQ ID NO: 6. Аминокислотная последовательность консенсусного белка TYRP2, связанного с лидерной последовательностью IgE, может быть связана с НА-меткой.

[00129] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые гомологичны последовательности SEQ ID NO: 2. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 95% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 6. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 96% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 6. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 97% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 6. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 98% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 6. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 99% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 6.

[00130] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые идентичны последовательности SEQ ID NO: 6. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 80% идентична полноразмерным

консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 6. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 99% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 6.

[00131] В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность IgE. Фрагменты консенсусных белков могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% консенсусного белка. Иммуногенные фрагменты последовательности SEQ ID NO: 6 могут быть предоставлены. Иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00132] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, гомологичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 6, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по

меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 95% или более гомологичны последовательности SEQ ID NO: 6. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 96% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 97% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 98% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 99% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00133] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, идентичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 6, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по

меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 6. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00134] Согласно изложенному в данном документе в отношении соединения сигнального пептида или лидерной последовательности с N-концом белка, сигнальный пептид/лидерная последовательность замещает N-концевой метионин белка, который кодируется стартовым кодоном нуклеотидной последовательности, затем кодирует белок без кодирующих сигнальный пептид последовательностей.

(4) Ассоциированный с меланомой антиген 4 (MAGEA4)

[00135] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген Ассоциированный с меланомой антиген 4 (MAGEA4), его фрагмент или его вариант. MAGE-A4, кодируемый геном MAGE-A4, представляет собой белок, состоящий из 317 аминокислот, и экспрессируется в мужских половых клетках и опухолевых клетках различных гистологических типов, таких как карциномы желудочно-кишечного тракта, пищевода и легкого. MAGE-A4 связывает онкобелок, Ганкирин. Это специфическое связывание MAGE-A4 опосредуется его C-концом. Исследования показали, что экзогенный MAGE-A4 может частично ингибировать адгезионно-независимый рост Ганкирин-сверхэкспрессирующих клеток *in vitro* и подавлять образование мигрирующих опухолей из этих клеток у голых мышей. Это ингибирование зависит от связывания между MAGE-A4 и Ганкирином, давая основание предполагать, что взаимодействие между Ганкирином и MAGE-A4 ингибирует Ганкирин-опосредованный канцерогенез. Вероятно, экспрессия MAGE в опухолевой ткани является не причиной, а следствием онкогенеза, и гены MAGE принимают участие в иммунном процессе посредством направленного воздействия на ранние опухолевые клетки с целью уничтожения.

[00136] Ассоциированный с меланомой антиген 4 (MAGEA4) может принимать участие в эмбриональном развитии, а также трансформации и/или развитии опухоли. MAGEA4, как правило,

экспрессируется в семенниках и плаценте. Тем не менее, MAGEA4 может экспрессироваться в различных типах опухолей, например, меланоме, плоскоклеточной карциноме головы и шеи, карциноме легкого и карциноме молочной железы. Соответственно, MAGEA4 может представлять собой ассоциированный с различными опухолями антиген.

[00137] Антиген MAGEA4 способен индуцировать антиген-специфический Т-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TFG- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

[00138] Антиген MAGEA4 может содержать эпитопы белков, которые делают их особенно эффективными в качестве иммуногенов, на которые могут индуцироваться иммунные ответы к MAGEA4. Антиген MAGEA4 может содержать полноразмерный продукт трансляции, его вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антиген MAGEA4 может содержать консенсусный белок.

[00139] Нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген MAGEA4, можно оптимизировать в отношении частоты использования кодона и соответствующих РНК-транскриптов. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген MAGEA4, может быть кодон- и РНК оптимизированной для экспрессии. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная

последовательность, кодирующая консенсусный антиген MAGEA4, может содержать последовательность Козак (например, GCC ACC) для увеличения эффективности трансляции. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген MAGEA4, может содержать несколько стоп-кодонов (например, TGA TGA) для увеличения эффективности терминации трансляции.

[00140] Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген MAGEA4, может также кодировать лидерную последовательность иммуноглобулина E (IgE). Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген Tyr, может дополнительно кодировать лидерную последовательность IgE таким образом, что аминокислотная последовательность лидерной последовательности IgE связывается с аминокислотной последовательностью консенсусного антигена MAGEA4 пептидной связью. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген MAGEA4, может также содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген MAGEA4, не имеет или не содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE.

[00141] Консенсусный антиген MAGEA4 может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 7, которая кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 8. Последовательность SEQ ID NO: 7 кодирует консенсусный белок MAGEA4, связанный с лидерной последовательностью IgE. Консенсусный белок MAGEA4 может быть связан с лидерной последовательностью IgE и НА-меткой. В других вариантах реализации изобретения консенсусный белок MAGEA4 может не содержать или не быть связанным с лидерной последовательностью IgE и/или НА-меткой.

[00142] В некоторых вариантах реализации изобретения консенсусный антиген MAGEA4 может представлять собой нуклеотидную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 7. В других вариантах реализации изобретения консенсусный антиген MAGEA4 может представлять собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%,

82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 8. Консенсусный антиген MAGEA4 может представлять собой аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 8.

[00143] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки, гомологичные консенсусному белку MAGEA4, иммуногенному фрагменту консенсусного белка MAGEA4 и иммуногенным фрагментам гомологичных белков. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 95% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 96% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 97% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 98% гомологии относительно консенсусной последовательности и до 99%, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков, которые гомологичны белкам, приведенным в данном документе.

[00144] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 95% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 96% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 97% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 98% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к

молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 99% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения молекулы нуклеиновых кислот с кодирующими последовательностями, описанными в данном документе, которые гомологичны кодирующей последовательности консенсусного белка, описанного в данном документе, включают последовательности, кодирующие лидерную последовательность IgE, связанную с 5'-концом кодирующей последовательности, кодирующей гомологичные последовательности белков, описанные в данном документе.

[00145] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки с определенным процентом идентичности относительно полноразмерного консенсусного белка MAGEA4, иммуногенного фрагмента консенсусного белка MAGEA4 и иммуногенных фрагментов белков, обладающих идентичностью относительно консенсусного белка MAGEA4. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 80% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности MAGEA4, до 85% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности, до 90% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности MAGEA4, до 91% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности MAGEA4, до 92% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности MAGEA4, до 93% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности MAGEA4, до 94% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности MAGEA4, до 95% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности MAGEA4, до 96% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности MAGEA4, до 97% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности MAGEA4, до 98% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности MAGEA4 и до 99% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности MAGEA4, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков с аналогичным

процентом идентичности, как указано выше, относительно белков MAGEA4, описанных в данном документе.

[00146] В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность IgE.

[00147] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к фрагментам последовательности SEQ ID NO: 7. Фрагменты могут составлять по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 7. Фрагменты могут быть по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% гомологичны фрагментам последовательности SEQ ID NO: 7. Фрагменты могут быть 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% или по меньшей мере на 99% идентичны фрагментам последовательности SEQ ID NO: 7. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат последовательности, кодирующие лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такую как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00148] Кроме того, аминокислотная последовательность консенсусного белка MAGEA4 представляет собой SEQ ID NO: 8.

Аминокислотная последовательность консенсусного белка MAGEA4, связанного с лидерной последовательностью IgE, представляет собой SEQ ID NO: 8. Аминокислотная последовательность консенсусного белка MAGEA4, связанного с лидерной последовательностью IgE, может быть связана с HA-меткой.

[00149] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые гомологичны последовательности SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 95% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 96% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 97% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 98% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 99% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 8.

[00150] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые идентичны последовательности SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 80% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 85% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 90% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной

последовательностью, которая на 91% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 92% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 93% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 94% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 95% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 96% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 97% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 98% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 99% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 8.

[00151] В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность IgE. Фрагменты консенсусных белков могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей

мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% консенсусного белка. Иммуногенные фрагменты последовательности SEQ ID NO: 8 могут быть предоставлены. Иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00152] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, гомологичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 8, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 95% или более гомологичны последовательности SEQ ID NO: 8. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 96% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых

последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 97% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 98% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 99% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00153] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, идентичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 8, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 8. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00154] Согласно изложенному в данном документе в отношении соединения сигнального пептида или лидерной последовательности с N-концом белка, сигнальный пептид/лидерная последовательность замещает N-концевой метионин белка, который кодируется стартовым кодоном нуклеотидной последовательности, затем кодирует белок без кодирующих сигнальных пептид последовательностей.

(5) Гормон, высвобождающий гормон роста (GHRH)

[00155] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген Гормон, высвобождающий гормон роста (GHRH; также известный как фактор, стимулирующий выделение гормона роста (GRF или GHRF), или соматокринин), его фрагмент или его вариант. GHRH представляет собой 44 аминокислотный пептидный гормон, вырабатываемый в аркуатном ядре гипоталамуса. GHRH секретируется гипоталамусом и стимулирует выделение гормона роста, регулятор роста, метаболизм и соматическое строение, из питуитарной железы. GHRH также стимулирует продукт гормона роста. Антагонисты GHRH могут ингибировать развитие различных видов рака, например, остеосарком, глиобластом, рака предстательной железы, рака почки, рака поджелудочной железы, рака ободочной и прямой кишки, а также рака молочной железы. Соответственно, GHRH может представлять собой ассоциированный с различными опухолями антиген.

[00156] Антиген GHRH способен индуцировать антиген-специфический Т-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TFG- β ,

ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

[00157] Антиген GHRH может содержать эпитопы белков, которые делают их особенно эффективными в качестве иммуногенов, на которые могут индуцироваться иммунные ответы к GHRH. Антиген GHRH может содержать полноразмерный продукт трансляции, его вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антиген GHRH может содержать консенсусный белок.

[00158] Нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген GHRH, можно оптимизировать в отношении частоты использования кодона и соответствующих РНК-транскриптов. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген GHRH, может быть кодон- и РНК оптимизированной для экспрессии. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный антиген GHRH, может содержать последовательность Козак (например, GCC ACC) для увеличения эффективности трансляции. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген GHRH, может содержать несколько стоп-кодонов (например, TGA TGA) для увеличения эффективности терминации трансляции.

[00159] Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген GHRH, может также кодировать лидерную последовательность иммуноглобулина Е (IgE). Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген GHRH, может дополнительно кодировать лидерную последовательность IgE таким образом, что аминокислотная последовательность лидерной последовательности IgE связывается с аминокислотной последовательностью консенсусного антигена GHRH пептидной связью. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген GHRH, может также содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген GHRH, не имеет или не содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE.

[00160] Консенсусный антиген GHRH может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 9, которая кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10. Последовательность SEQ ID NO: 9 кодирует консенсусный белок

GHRH, связанный с лидерной последовательностью IgE. Консенсусный белок GHRH может быть связан с лидерной последовательностью IgE и HA-меткой. В других вариантах реализации изобретения консенсусный белок GHRH может не содержать или не быть связанным с лидерной последовательностью IgE и/или HA-меткой.

[00161] В некоторых вариантах реализации изобретения консенсусный антиген GHRH может представлять собой нуклеотидную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 9. В других вариантах реализации изобретения консенсусный антиген GHRH может представлять собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 10. Консенсусный антиген GHRH может представлять собой аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 10.

[00162] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки, гомологичные консенсусному белку GHRH, иммуногенному фрагменту консенсусного белка GHRH и иммуногенным фрагментам гомологичных белков. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 95% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 96% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 97% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 98% гомологии относительно консенсусной последовательности и до 99%, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков, которые гомологичны белкам, приведенным в данном документе.

[00163] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки,

обладающие 95% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 96% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 97% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 98% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 99% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения молекулы нуклеиновых кислот с кодирующими последовательностями, описанными в данном документе, которые гомологичны кодирующей последовательности консенсусного белка, описанного в данном документе, включают последовательности, кодирующие лидерную последовательность IgE, связанную с 5'-концом кодирующей последовательности, кодирующей гомологичные последовательности белков, описанные в данном документе.

[00164] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки с определенным процентом идентичности относительно полноразмерного консенсусного белка GHRH, иммуногенного фрагмента консенсусного белка GHRH и иммуногенных фрагментов белков, обладающих идентичностью относительно консенсусного белка GHRH. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 80% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности GHRH, до 85% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности, до 90% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности GHRH, до 91% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности GHRH, до 92% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности GHRH, до 93%

идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности GHRH, до 94% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности GHRH, до 95% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности GHRH, до 96% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности GHRH, до 97% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности GHRH, до 98% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности GHRH и до 99% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности GHRH, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков с аналогичным процентом идентичности, как указано выше, относительно белков GHRH, описанных в данном документе.

[00165] В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность IgE.

[00166] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к фрагментам последовательности SEQ ID NO: 9. Фрагменты могут составлять по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 9. Фрагменты могут быть по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% гомологичны фрагментам последовательности SEQ ID NO: 9. Фрагменты могут быть 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% или по меньшей мере на 99% идентичны фрагментам последовательности SEQ ID NO: 9. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат последовательности, кодирующие лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такую как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00167] Кроме того, аминокислотная последовательность консенсусного белка GHRH представляет собой SEQ ID NO: 10. Аминокислотная последовательность консенсусного белка GHRH, связанного с лидерной последовательностью IgE, представляет собой SEQ ID NO: 10. Аминокислотная последовательность консенсусного белка GHRH, связанного с лидерной последовательностью IgE, может быть связана с НА-меткой.

[00168] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые гомологичны последовательности SEQ ID NO: 10. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 95% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 10. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 96% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 10. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 97% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 10. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 98% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 10. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 99% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 10.

[00169] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые идентичны последовательности SEQ ID NO: 10.

SEQ ID NO: 10. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 98% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 10. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 99% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 10.

[00170] В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность IgE. Фрагменты консенсусных белков могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% консенсусного белка. Иммуногенные фрагменты последовательности SEQ ID NO: 10 могут быть предоставлены. Иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00171] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, гомологичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 10, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 95% или более гомологичны последовательности SEQ ID NO: 10. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 96% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 97% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 98% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 99% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00172] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, идентичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 10, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере

40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 10. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00173] Согласно изложенному в данном документе в отношении соединения сигнального пептида или лидерной последовательности с N-концом белка, сигнальный пептид/лидерная последовательность замещает N-концевой метионин белка, который кодируется стартовым кодоном нуклеотидной последовательности, затем кодирует белок без кодирующих сигнальный пептид последовательностей.

(6) MART-1/Melan-A

[00174] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген MART-1 (также известный как Melan-A), его фрагмент или его вариант. MART-1, кодируемый геном MLANA, представляет собой 118-аминокислотный белок, содержащий один трансмембранный домен, и экспрессируется в большинстве клеток меланомы. MART-1 образует комплекс со структурным белком и влияет на его экспрессию, стабильность, направленную миграцию и процессинг, который необходим для структуры и созревания меланосомы. Соответственно, MART-1 является незаменимым для регулирования пигментации млекопитающих. Нарушения в созревании меланосом были связаны с предрасположенностью к раку. MART-1 может экспрессироваться в различных видах рака, в том числе, без ограничения ими, меланомах.

[00175] Melan-A, также известный как антиген меланомы, распознаваемый Т-клетками (MART-1), представляет собой дифференцировочный антиген меланоцитов и может содержаться в нормальной коже, сетчатке и меланоцитах. Melan-A может

ассоциироваться с эндоплазматическим ретикулюмом и меланосомами. Melan-A может распознаваться цитотоксическими Т-клетками как антиген на клетках меланомы, но также может ассоциироваться с другими видами опухолей, имеющими меланоцитарное происхождение или дифференцировку (то есть клетки содержат меланосомы), например, светлоклеточная саркома и меланотическая нейрофиброма. Соответственно, Melan-A может представлять собой антиген, который ассоциируется с различными видами опухолей, полученными из клеток, содержащих меланосомы.

[00176] Антиген Melan-A способен индуцировать антиген-специфический Т-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TFG- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

[00177] Антиген Melan-A может содержать эпитопы белков, которые делают их особенно эффективными в качестве иммуногенов, на которые могут индуцироваться иммунные ответы к Melan-A. Антиген Melan-A может содержать полноразмерный продукт трансляции, его вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антиген Melan-A может содержать консенсусный белок.

[00178] Нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген Melan-A, можно оптимизировать в отношении частоты использования кодона и соответствующих РНК-транскриптов.

Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген Melan-A, может быть кодон- и РНК оптимизированной для экспрессии. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный антиген Melan-A, может содержать последовательность Козак (например, GCC ACC) для увеличения эффективности трансляции. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген Melan-A, может содержать несколько стоп-кодонов (например, TGA TGA) для увеличения эффективности терминации трансляции.

[00179] Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген Melan-A, может также кодировать лидерную последовательность иммуноглобулина E (IgE). Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген Melan-A, может дополнительно кодировать лидерную последовательность IgE таким образом, что аминокислотная последовательность лидерной последовательности IgE связывается с аминокислотной последовательностью консенсусного антигена Melan-A пептидной связью. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген Melan-A, может также содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген Melan-A, не имеет или не содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE.

[00180] Консенсусный антиген Melan-A может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 11, которая кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 12. Последовательность SEQ ID NO: 11 кодирует консенсусный белок MELAN-A, связанный с лидерной последовательностью IgE. Консенсусный белок Melan-A может быть связан с лидерной последовательностью IgE и НА-меткой. В других вариантах реализации изобретения консенсусный белок Melan-A может не содержать или не быть связанным с лидерной последовательностью IgE и/или НА-меткой.

[00181] В некоторых вариантах реализации изобретения консенсусный антиген Melan-A может представлять собой нуклеотидную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 11. В других вариантах реализации

изобретения консенсусный антиген Melan-A может представлять собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 12. Консенсусный антиген Melan-A может представлять собой аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 12.

[00182] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки, гомологичные консенсусному белку Melan-A, иммуногенному фрагменту консенсусного белка Melan-A и иммуногенным фрагментам гомологичных белков. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 95% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 96% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 97% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 98% гомологии относительно консенсусной последовательности и до 99%, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков, которые гомологичны белкам, приведенным в данном документе.

[00183] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 95% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 96% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 97% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим

иммуногенные белки, обладающие 98% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 99% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения молекулы нуклеиновых кислот с кодирующими последовательностями, описанными в данном документе, которые гомологичны кодирующей последовательности консенсусного белка, описанного в данном документе, включают последовательности, кодирующие лидерную последовательность IgE, связанную с 5'-концом кодирующей последовательности, кодирующей гомологичные последовательности белков, описанные в данном документе.

[00184] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки с определенным процентом идентичности относительно полноразмерного консенсусного белка Melan-A, иммуногенного фрагмента консенсусного белка Melan-A и иммуногенных фрагментов белков, обладающих идентичностью относительно консенсусного белка Melan-A. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 80% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Melan-A, до 85% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Melan-A, до 90% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Melan-A, до 91% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Melan-A, до 92% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Melan-A, до 93% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Melan-A, до 94% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Melan-A, до 95% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Melan-A, до 96% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Melan-A, до 97% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Melan-A, до 98% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Melan-A и до 99% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности Melan-A, могут быть предоставлены.

Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков с аналогичным процентом идентичности, как указано выше, относительно белков Melan-A, описанных в данном документе.

[00185] В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность IgE.

[00186] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к фрагментам последовательности SEQ ID NO: 11. Фрагменты могут составлять по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 11. Фрагменты могут быть по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% гомологичны фрагментам последовательности SEQ ID NO: 11. Фрагменты могут быть 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% или по меньшей мере на 99% идентичны относительно фрагментов последовательности SEQ ID NO: 11. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат последовательности, кодирующие лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такую как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную

последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00187] Кроме того, аминокислотная последовательность консенсусного белка Melan-A представляет собой SEQ ID NO: 12. Аминокислотная последовательность консенсусного белка Melan-A, связанного с лидерной последовательностью IgE, представляет собой SEQ ID NO: 12. Аминокислотная последовательность консенсусного белка Melan-A, связанного с лидерной последовательностью IgE, может быть связана с HA-меткой.

[00188] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые гомологичны последовательности SEQ ID NO: 12. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 95% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 12. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 96% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 12. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 97% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 12. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 98% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 12. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 99% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 12.

[00189] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые идентичны последовательности SEQ ID NO: 12. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 80% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 12. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 85% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 12. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной

[00190] В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность IgE. Фрагменты консенсусных белков могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% консенсусного белка. Иммуногенные фрагменты последовательности SEQ ID NO: 12 могут быть предоставлены. Иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 12. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00191] Могут быть предоставлены иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, гомологичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 12. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по

меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 95% или более гомологичны последовательности SEQ ID NO: 12. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 96% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 97% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 98% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 99% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00192] Могут быть предоставлены иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, идентичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 12. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 12. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность

иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00193] Согласно изложенному в данном документе в отношении соединения сигнального пептида или лидерной последовательности с N-концом белка, сигнальный пептид/лидерная последовательность замещает N-концевой метионин белка, который кодируется стартовым кодоном нуклеотидной последовательности, затем кодирует белок без кодирующих сигнальный пептид последовательностей.

(7) NY-ESO-1

[00194] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген нью-йоркского рака пищевода-1 (NY-ESO-1; также называемый STAG1), его фрагмент или его вариант. NY-ESO-1, кодируемый геном STAG1B, представляет собой 180-аминокислотный белок с глицин-богатой N-концевой областью и сверхгидрофобной C-концевой областью. NY-ESO-1 обладает ограниченной экспрессией в нормальных тканях, но часто встречается при раке. NY-ESO-1 может экспрессироваться в различных видах рака, в том числе, без ограничения ими, раке мочевого пузыря, ободочной и прямой кишки, пищевода, желудка, гепатокарциноме, раке головы и шеи, меланоме, немелкоклеточном раке легкого, раке яичников, поджелудочной железы, синовиальной карциноме и раке предстательной железы.

[00195] Раково-тестикулярный антиген (NY-ESO-1) может экспрессироваться в семенниках и яичниках. NY-ESO-1 может ассоциироваться с различными видами рака и способен индуцировать гуморальные иммунные ответы. Субъекты, страдающие от рака или опухолей, могут выработать иммуногенность к NY-ESO-1. Соответственно, NY-ESO-1 может представлять собой ассоциированный с различными опухолями антиген.

[00196] Антиген NY-ESO-1 способен индуцировать антиген-специфический T-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный

ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TFG- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

[00197] Антиген NY-ESO-1 может увеличивать клеточный иммунный ответ у субъекта, которому вводят антиген NY-ESO-1, до от около 50-кратного до около 6000-кратного, от около 50-кратного до около 5500-кратного, от около 50-кратного до около 5000-кратного от около 50-кратного до около 4500-кратного, от около 100-кратного до около 6000-кратного, от около 150-кратного до около 6000-кратного, от около 200-кратного до около 6000-кратного, от около 250-кратного до 6000-кратного или от около 300-кратного до около 6000-кратного размера по сравнению с клеточным иммунным ответом у субъекта, которому не вводят антиген NY-ESO-1. В некоторых вариантах реализации изобретения антиген NY-ESO-1 может увеличивать клеточный иммунный ответ у субъекта, которому вводят антиген NY-ESO-1, почти в около 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900, 3000, 3100, 3200, 3300, 3400, 3500, 3600, 3700, 3800, 3900, 4000, 4100, 4200, 4300, 4400, 4500, 4600, 4700, 4800, 4900, 5000, 5100, 5200, 5300, 5400, 5500, 5600, 5700, 5800, 5900 или 6000 раз по сравнению с клеточным иммунным ответом у субъекта, которому не вводят антиген NY-ESO-1.

[00198] Антиген NY-ESO-1 может увеличивать уровни гамма-интерферона (IFN- γ) у субъекта, которому вводят антиген NY-ESO-1, в от около 50-кратного до около 6000-кратного, от около 50-кратного до около 5500-кратного, от около 50-кратного до около 5000-кратного, от около 50-кратного до около 4500-кратного, от

около 100-кратного до около 6000-кратного, от около 150-кратного до около 6000-кратного, от около 200-кратного до около 6000-кратного, от около 250-кратного до 6000-кратного или от около 300-кратного до около 6000-кратного размера по сравнению с уровнями IFN- γ у субъекта, которому не вводят антиген NY-ESO-1. В некоторых вариантах реализации изобретения антиген NY-ESO-1 может увеличивать уровни IFN- γ у субъекта, которому вводят антиген NY-ESO-1, почти в около 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900, 3000, 3100, 3200, 3300, 3400, 3500, 3600, 3700, 3800, 3900, 4000, 4100, 4200, 4300, 4400, 4500, 4600, 4700, 4800, 4900, 5000, 5100, 5200, 5300, 5400, 5500, 5600, 5700, 5800, 5900 или 6000 раз по сравнению с уровнями IFN- γ у субъекта, которому не вводят антиген NY-ESO-1.

[00199] Антиген NY-ESO-1 может содержать эпитопы белков, которые делают их особенно эффективными в качестве иммуногенов, на которые могут индуцироваться иммунные ответы к NY-ESO-1. Антиген NY-ESO-1 может содержать полноразмерный продукт трансляции, его вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антиген NY-ESO-1 может содержать консенсусный белок.

[00200] Нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген NY-ESO-1, можно оптимизировать в отношении частоты использования кодона и соответствующих РНК-транскриптов. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген NY-ESO-1, может быть кодон- и РНК оптимизированной для экспрессии. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный антиген NY-ESO-1, может содержать последовательность Козак (например, GCC ACC) для увеличения эффективности трансляции. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген NY-ESO-1, может содержать несколько стоп-кодонов (например, TGA TGA) для увеличения эффективности терминации трансляции.

[00201] Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген NY-ESO-1, может также кодировать лидерную последовательность иммуноглобулина Е (IgE). Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген NY-ESO-1, может дополнительно кодировать лидерную последовательность IgE таким образом, что аминокислотная последовательность лидерной последовательности

IgE связывается с аминокислотной последовательностью консенсусного антигена NY-ESO-1 пептидной связью. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген NY-ESO-1, может также содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген NY-ESO-1, не имеет или не содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE.

[00202] Консенсусный антиген NY-ESO-1 может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 13, которая кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 14. Последовательность SEQ ID NO: 13 кодирует консенсусный белок NY-ESO-1, связанный с лидерной последовательностью IgE. Консенсусный белок NY-ESO-1 может быть связан с лидерной последовательностью IgE и HA-меткой. В других вариантах реализации изобретения консенсусный белок NY-ESO-1 может не содержать или не быть связанным с лидерной последовательностью IgE и/или HA-меткой.

[00203] В некоторых вариантах реализации изобретения консенсусный антиген NY-ESO-1 может представлять собой нуклеотидную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 13. В других вариантах реализации изобретения консенсусный антиген NY-ESO-1 может представлять собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 14. Консенсусный антиген NY-ESO-1 может представлять собой аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 14.

[00204] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки, гомологичные консенсусному белку NY-ESO-1, иммуногенному

фрагменту консенсусного белка NY-ESO-1 и иммуногенным фрагментам гомологичных белков. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 95% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 96% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 97% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 98% гомологии относительно консенсусной последовательности и до 99%, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков, которые гомологичны белкам, приведенным в данном документе.

[00205] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 95% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 96% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 97% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 98% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 99% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения молекулы нуклеиновых кислот с кодирующими последовательностями, описанными в данном документе, которые гомологичны кодирующей последовательности консенсусного белка, описанного в данном документе, включают последовательности, кодирующие лидерную последовательность IgE, связанную с 5'-концом кодирующей последовательности, кодирующей гомологичные последовательности белков, описанные в данном документе.

[00206] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки с определенным процентом идентичности относительно полноразмерного консенсусного белка NY-ESO-1, иммуногенного фрагмента консенсусного белка NY-ESO-1 и иммуногенных фрагментов белков, обладающих идентичностью относительно консенсусного белка NY-ESO-1. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 80% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-1, до 85% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности, до 90% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-1, до 91% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-1, до 92% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-1, до 93% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-1, до 94% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-1, до 95% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-1, до 96% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-1, до 97% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-1, до 98% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-1 и до 99% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-1, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков с аналогичным процентом идентичности, как указано выше, относительно белков NY-ESO-1, описанных в данном документе.

[00207] В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность IgE.

[00208] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к фрагментам последовательности SEQ ID NO: 13. Фрагменты могут

составлять по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 13. Фрагменты могут быть по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% гомологичны фрагментам последовательности SEQ ID NO: 13. Фрагменты могут быть 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% или по меньшей мере на 99% идентичны относительно фрагментов последовательности SEQ ID NO: 13. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат последовательности, кодирующие лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такую как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00209] Кроме того, аминокислотная последовательность консенсусного белка NY-ESO-1 представляет собой SEQ ID NO: 14. Аминокислотная последовательность консенсусного белка NY-ESO-1, связанного с лидерной последовательностью IgE, представляет собой SEQ ID NO: 14. Аминокислотная последовательность консенсусного белка NY-ESO-1, связанного с лидерной последовательностью IgE, может быть связана с HA-меткой.

[00210] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые гомологичны последовательности SEQ ID NO: 14. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 95% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей,

SEQ ID NO: 14. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 94% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 14. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 95% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 14. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 96% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 14. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 97% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 14. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 98% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 14. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 99% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 14.

[00212] В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность IgE. Фрагменты консенсусных белков могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% консенсусного белка. Иммуногенные фрагменты последовательности SEQ ID NO: 14 могут быть предоставлены. Иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по

меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00213] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, гомологичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 14, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 95% или более гомологичны последовательности SEQ ID NO: 14. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 96% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 97% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 98% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 99% гомологией относительно иммуногенных фрагментов

консенсусных белковых последовательностей в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00214] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, идентичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 14, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 14. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00215] Согласно изложенному в данном документе в отношении соединения сигнального пептида или лидерной последовательности с N-концом белка, сигнальный пептид/лидерная последовательность замещает N-концевой метионин белка, который кодируется стартовым кодоном нуклеотидной последовательности, затем кодирует белок без кодирующих сигнальный пептид последовательностей.

(8) NY-ESO-2

[00216] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген нью-йоркского рака пищевода-2 (NY-ESO-2; также

называемый раково/тестикулярный антиген 2, ESO2 и LAGE1), его фрагмент или его вариант. NY-ESO-2 представляет собой аутоиммуногенный опухолевый антиген, который принадлежит к семейству ESO/LAGE раково-тестикулярных антигенов. NY-ESO-2 может экспрессироваться в различных видах рака, в том числе меланоме, раке молочной железы, раке мочевого пузыря и раке предстательной железы и, как правило, экспрессируется в ткани семенников. Кроме того, NY-ESO-2 может наблюдаться в 25-50% образцов опухолей меланом, немелкоклеточных карцином легкого, рака мочевого пузыря, предстательной железы, а также рака головы и шеи. Ген, кодирующий NY-ESO-2, также содержит альтернативную открытую рамку считывания, которая кодирует белок под названием SAMEL, опухолевый антиген, распознаваемый меланома-специфическими цитотоксическими Т-лимфоцитами.

[00217] Подобно NY-ESO-1, NY-ESO-2 может экспрессироваться в семенниках и яичниках. NY-ESO-2 также может ассоциироваться с различными видами рака и иммуногенностью у субъектов, страдающих от рака или опухолей. Соответственно, NY-ESO-2 может представлять собой ассоциированный с различными опухолями антиген.

[00218] Антиген NY-ESO-2 способен индуцировать антиген-специфический Т-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TFG- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными

клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

[00219] Антиген NY-ESO-2 может увеличивать клеточный иммунный ответ у субъекта, которому вводят антиген NY-ESO-2, до от около 50-кратного до около 6000-кратного, от около 50-кратного до около 5500-кратного, от около 50-кратного до около 5000-кратного, от около 50-кратного до около 4500-кратного, от около 100-кратного до около 6000-кратного, от около 150-кратного до около 6000-кратного, от около 200-кратного до около 6000-кратного, от около 250-кратного до 6000-кратного или от около 300-кратного до около 6000-кратного размера по сравнению с клеточным иммунным ответом у субъекта, которому не вводят антиген NY-ESO-2. В некоторых вариантах реализации изобретения антиген NY-ESO-2 может увеличивать клеточный иммунный ответ у субъекта, которому вводят антиген NY-ESO-2, почти в около 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900, 3000, 3100, 3200, 3300, 3400, 3500, 3600, 3700, 3800, 3900, 4000, 4100, 4200, 4300, 4400, 4500, 4600, 4700, 4800, 4900, 5000, 5100, 5200, 5300, 5400, 5500, 5600, 5700, 5800, 5900 или 6000 раз по сравнению с клеточным иммунным ответом у субъекта, которому не вводят антиген NY-ESO-2.

[00220] Антиген NY-ESO-2 может увеличивать уровни гамма-интерферона (IFN- γ) у субъекта, которому вводят антиген NY-ESO-2, до от около 50-кратного до около 6000-кратного, от около 50-кратного до около 5500-кратного, от около 50-кратного до около 5000-кратного, от около 50-кратного до около 4500-кратного, от около 100-кратного до около 6000-кратного, от около 150-кратного до около 6000-кратного, от около 200-кратного до около 6000-кратного, от около 250-кратного до 6000-кратного или от около 300-кратного до около 6000-кратного размера по сравнению с уровнями IFN- γ у субъекта, которому не вводят антиген NY-ESO-2. В некоторых вариантах реализации изобретения антиген NY-ESO-2 может увеличивать уровни IFN- γ у субъекта, которому вводят антиген NY-ESO-2, почти в около 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900,

3000, 3100, 3200, 3300, 3400, 3500, 3600, 3700, 3800, 3900, 4000, 4100, 4200, 4300, 4400, 4500, 4600, 4700, 4800, 4900, 5000, 5100, 5200, 5300, 5400, 5500, 5600, 5700, 5800, 5900 или 6000 раз по сравнению с уровнями IFN- γ у субъекта, которому не вводят антиген NY-ESO-2.

[00221] Антиген NY-ESO-2 может содержать эпитопы белков, которые делают их особенно эффективными в качестве иммуногенов, на которые могут индуцироваться иммунные ответы к NY-ESO-2. Антиген NY-ESO-2 может содержать полноразмерный продукт трансляции, его вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антиген NY-ESO-2 может содержать консенсусный белок.

[00222] Нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген NY-ESO-2, можно оптимизировать в отношении частоты использования кодона и соответствующих РНК-транскриптов. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген NY-ESO-2, может быть кодон- и РНК оптимизированной для экспрессии. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный антиген NY-ESO-2, может содержать последовательность Козак (например, GCC ACC) для увеличения эффективности трансляции. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген NY-ESO-2, может содержать несколько стоп-кодонов (например, TGA TGA) для увеличения эффективности терминации трансляции.

[00223] Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген NY-ESO-2, может также кодировать лидерную последовательность иммуноглобулина Е (IgE). Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген NY-ESO-2, может дополнительно кодировать лидерную последовательность IgE таким образом, что аминокислотная последовательность лидерной последовательности IgE связывается с аминокислотной последовательностью консенсусного антигена NY-ESO-2 пептидной связью. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген NY-ESO-2, может также содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген NY-ESO-2, не имеет или не содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE.

[00224] Консенсусный антиген NY-ESO-2 может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 15, которая кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 16.

Последовательность SEQ ID NO: 1 кодирует консенсусный белок NY-ESO-2, связанный с лидерной последовательностью IgE. Консенсусный белок NY-ESO-2 может быть связан с лидерной последовательностью IgE и HA-меткой. В других вариантах реализации изобретения консенсусный белок NY-ESO-2 может не содержать или не быть связанным с лидерной последовательностью IgE и/или HA-меткой.

[00225] В некоторых вариантах реализации изобретения консенсусный антиген NY-ESO-2 может представлять собой нуклеотидную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 15. В других вариантах реализации изобретения консенсусный антиген NY-ESO-2 может представлять собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 16. Консенсусный антиген NY-ESO-2 может представлять собой аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 16.

[00226] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки, гомологичные консенсусному белку NY-ESO-2, иммуногенному фрагменту консенсусного белка NY-ESO-2 и иммуногенным фрагментам гомологичных белков. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 95% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 96% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 97% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 98% гомологии относительно консенсусной последовательности и до 99%, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные

фрагменты белков, которые гомологичны белкам, приведенным в данном документе.

[00227] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 95% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 96% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 97% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 98% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 99% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения молекулы нуклеиновых кислот с кодирующими последовательностями, описанными в данном документе, которые гомологичны кодирующей последовательности консенсусного белка, описанного в данном документе, включают последовательности, кодирующие лидерную последовательность IgE, связанную с 5'-концом кодирующей последовательности, кодирующей гомологичные последовательности белков, описанные в данном документе.

[00228] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки с определенным процентом идентичности относительно полноразмерного консенсусного белка NY-ESO-2, иммуногенного фрагмента консенсусного белка NY-ESO-2 и иммуногенных фрагментов белков, обладающих идентичностью относительно консенсусного белка NY-ESO-2. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 80% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-2, до 85% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности, до 90% идентичности относительно

полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-2, до 91% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-2, до 92% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-2, до 93% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-2, до 94% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-2, до 95% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-2, до 96% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-2, до 97% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-2, до 98% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-2 и до 99% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности NY-ESO-2, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков с аналогичным процентом идентичности, как указано выше, относительно белков NY-ESO-2, описанных в данном документе.

[00229] В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность IgE.

[00230] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к фрагментам последовательности SEQ ID NO: 15. Фрагменты могут составлять по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 15. Фрагменты могут быть по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% гомологичны фрагментам последовательности

SEQ ID NO: 15. Фрагменты могут быть 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% или по меньшей мере на 99% идентичны относительно фрагментов последовательности SEQ ID NO: 15. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат последовательности, кодирующие лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такую как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00231] Кроме того, аминокислотная последовательность консенсусного белка NY-ESO-2 представляет собой SEQ ID NO: 16. Аминокислотная последовательность консенсусного белка NY-ESO-2, связанного с лидерной последовательностью IgE, представляет собой SEQ ID NO: 16. Аминокислотная последовательность консенсусного белка NY-ESO-2, связанного с лидерной последовательностью IgE, может быть связана с HA-меткой.

[00232] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые гомологичны последовательности SEQ ID NO: 16. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 95% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 16. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 96% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 16. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 97% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 16. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 98% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 16. Некоторые варианты реализации

консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 16. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 97% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 16. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 98% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 16. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 99% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 16.

[00234] В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность IgE. Фрагменты консенсусных белков могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% консенсусного белка. Иммуногенные фрагменты последовательности SEQ ID NO: 16 могут быть предоставлены. Иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации

изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00235] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, гомологичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 16, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 95% или более гомологичны последовательности SEQ ID NO: 16. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 96% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 97% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 98% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 99% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00236] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, идентичными относительно иммуногенных

фрагментов последовательности SEQ ID NO: 16, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 16. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00237] Согласно изложенному в данном документе в отношении соединения сигнального пептида или лидерной последовательности с N-концом белка, сигнальный пептид/лидерная последовательность замещает N-концевой метионин белка, который кодируется стартовым кодоном нуклеотидной последовательности, затем кодирует белок без кодирующих сигнальный пептид последовательностей.

(9) PRAME

[00238] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген PRAME, его фрагмент или его вариант. PRAME, кодируемый геном PRAME, представляет собой белок, состоящий из 509 аминокислот, и экспрессируется в семенниках, плаценте, эндометрии, яичниках, надпочечниках и в тканях, полученных из меланомы, карцином легких, почек, головы и шеи. PRAME также экспрессируется в острых лейкозах у взрослых и детей, а также во множественной миеломе. PRAME содержит иммуногенный нонапептид, способный вызывать цитотоксический ответ, когда презентуется HLA-A24. Исследования показывают, что сверхэкспрессия PRAME в культивируемых клетках индуцирует каспаза-независимую гибель клеток, ответственную за более низкую скорость пролиферации. Другие исследования показывают, что сверхэкспрессия PRAME также

обеспечивает преимущества роста или выживаемости посредством противодействия сигнализации рецептора ретиноевой кислоты (RAR), и причинно принимает участие в онкогенном процессе. Интерференция сигнализации RAR приводит к потере регулирования пролиферации, дифференцировки и развития клеток.

[00239] PRAME может иметь профиль экспрессии гена, подобный раково-тестикулярным антигенам MAGE, BAGE и GAGE, то есть экспрессии в семенниках. Тем не менее, PRAME может экспрессироваться в меланомах и острых лейкозах человека. PRAME может распознаваться цитолитическими Т-лимфоцитами. Соответственно, PRAME может представлять собой ассоциированный с меланомой и лейкозами антиген.

[00240] Антиген PRAME способен индуцировать антиген-специфический Т-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TFG- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

[00241] Антиген PRAME может увеличивать клеточный иммунный ответ у субъекта, которому вводят антиген PRAME, до от около 50-кратного до около 6000-кратного, от около 50-кратного до около 5500-кратного, от около 50-кратного до около 5000-кратного, от около 50-кратного до около 4500-кратного, от около 100-кратного до около 6000-кратного, от около 150-кратного до около 6000-

кратного, от около 200-кратного до около 6000-кратного, от около 250-кратного до 6000-кратного или от около 300-кратного до около 6000-кратного размера по сравнению с клеточным иммунным ответом у субъекта, которому не вводят антиген PRAME. В некоторых вариантах реализации изобретения антиген PRAME может увеличивать клеточный иммунный ответ у субъекта, которому вводят антиген PRAME, почти в около 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900, 3000, 3100, 3200, 3300, 3400, 3500, 3600, 3700, 3800, 3900, 4000, 4100, 4200, 4300, 4400, 4500, 4600, 4700, 4800, 4900, 5000, 5100, 5200, 5300, 5400, 5500, 5600, 5700, 5800, 5900 или 6000 раз по сравнению с клеточным иммунным ответом у субъекта, которому не вводят антиген PRAME.

[00242] Антиген PRAME может повышать уровни гамма-интерферона (IFN- γ) у субъекта, которому вводят антиген PRAME, до от около 50-кратного до около 6000-кратного, от около 50-кратного до 5500-кратного, от около 50-кратного до около 5000-кратного, от около 50-кратной до около 4500-кратного, от около 100-кратного до около 6000-кратного, от около 150-кратного до около 6000-кратного, от около 200-кратного до около 6000-кратного, от около 250-кратного до около 6000-кратного или от около 300-кратного до около 6000-кратного размера по сравнению с уровнями IFN- γ у субъекта, которому не вводят антиген PRAME. В некоторых вариантах реализации изобретения антиген PRAME может увеличивать уровни IFN- γ у субъекта, которому вводят антиген PRAME, почти в около 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900, 3000, 3100, 3200, 3300, 3400, 3500, 3600, 3700, 3800, 3900, 4000, 4100, 4200, 4300, 4400, 4500, 4600, 4700, 4800, 4900, 5000, 5100, 5200, 5300, 5400, 5500, 5600, 5700, 5800, 5900 или 6000 раз по сравнению с уровнями IFN- γ у субъекта, которому не вводят антиген PRAME.

[00243] Антиген PRAME может содержать эпитопы белков, которые делают их особенно эффективными в качестве иммуногенов, на которые могут индуцироваться иммунные ответы к PRAME. Антиген PRAME может содержать полноразмерный продукт трансляции, его

вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антиген PRAME может содержать консенсусный белок.

[00244] Нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген PRAME, можно оптимизировать в отношении частоты использования кодона и соответствующих РНК-транскриптов. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PRAME, может быть кодон- и РНК оптимизированной для экспрессии. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный антиген PRAME, может содержать последовательность Козак (например, GCC ACC) для увеличения эффективности трансляции. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PRAME, может содержать несколько стоп-кодонов (например, TGA TGA) для увеличения эффективности терминации трансляции.

[00245] Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PRAME, может также кодировать лидерную последовательность иммуноглобулина Е (IgE). Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PRAME, может дополнительно кодировать лидерную последовательность IgE таким образом, что аминокислотная последовательность лидерной последовательности IgE связывается с аминокислотной последовательностью консенсусного антигена PRAME пептидной связью. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PRAME, может также содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PRAME, не имеет или не содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE.

[00246] Консенсусный антиген PRAME может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 17, которая кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 18. Последовательность SEQ ID NO: 17 кодирует консенсусный белок PRAME, связанный с лидерной последовательностью IgE. Консенсусный белок PRAME может быть связан с лидерной последовательностью IgE и НА-меткой. В других вариантах реализации изобретения консенсусный белок PRAME может не содержать или не быть связанным с лидерной последовательностью IgE и/или НА-меткой.

[00247] В некоторых вариантах реализации изобретения консенсусный антиген PRAME может представлять собой нуклеотидную

последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 17. В других вариантах реализации изобретения консенсусный антиген PRAME может представлять собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 18. Консенсусный антиген PRAME может представлять собой аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 18.

[00248] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки, гомологичные консенсусному белку PRAME, иммуногенному фрагменту консенсусного белка PRAME и иммуногенным фрагментам гомологичных белков. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 95% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 96% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 97% гомологии относительно консенсусной последовательности, до 98% гомологии относительно консенсусной последовательности и до 99%, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков, которые гомологичны белкам, приведенным в данном документе.

[00249] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 95% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 96% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот,

кодирующим иммуногенные белки, обладающие 97% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 98% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 99% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения молекулы нуклеиновых кислот с кодирующими последовательностями, описанными в данном документе, которые гомологичны кодирующей последовательности консенсусного белка, описанного в данном документе, включают последовательности, кодирующие лидерную последовательность IgE, связанную с 5'-концом кодирующей последовательности, кодирующей гомологичные последовательности белков, описанные в данном документе.

[00250] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки с определенным процентом идентичности относительно полноразмерного консенсусного белка PRAME, иммуногенного фрагмента консенсусного белка PRAME и иммуногенных фрагментов белков, обладающих идентичностью относительно консенсусного белка PRAME. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 80% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности PRAME, до 85% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности, до 90% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности PRAME, до 91% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности PRAME, до 92% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности PRAME, до 93% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности PRAME, до 94% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности PRAME, до 95% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности PRAME, до 96% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности PRAME, до 97% идентичности относительно полноразмерной консенсусной

последовательности PRAME, до 98% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности PRAME и до 99% идентичности относительно полноразмерной консенсусной последовательности PRAME, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков с аналогичным процентом идентичности, как указано выше, относительно белков PRAME, описанных в данном документе.

[00251] В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность IgE.

[00252] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к фрагментам последовательности SEQ ID NO: 17. Фрагменты могут составлять по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 17. Фрагменты могут быть по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% гомологичны фрагментам последовательности SEQ ID NO: 17. Фрагменты могут быть по меньшей мере на 80%, по меньшей мере на 85%, по меньшей мере на 90%, 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% или по меньшей мере на 99% идентичны относительно фрагментов последовательности SEQ ID NO: 17. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат последовательности, кодирующие лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такую как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации

изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00253] Кроме того, аминокислотная последовательность консенсусного белка PRAME представляет собой SEQ ID NO: 18. Аминокислотная последовательность консенсусного белка PRAME, связанного с лидерной последовательностью IgE, представляет собой SEQ ID NO: 18. Аминокислотная последовательность консенсусного белка PRAME, связанного с лидерной последовательностью IgE, может быть связана с НА-меткой.

[00254] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые гомологичны последовательности SEQ ID NO: 18. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 95% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 18. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 96% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 18. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 97% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 18. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 98% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 18. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 99% гомологией относительно консенсусных белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 18.

[00255] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые идентичны относительно последовательности SEQ ID NO: 18. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 80% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 18. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной

последовательностью, которая на 99% идентична полноразмерным консенсусным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 18.

[00256] В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность IgE. Фрагменты консенсусных белков могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% консенсусного белка. Иммуногенные фрагменты последовательности SEQ ID NO: 18 могут быть предоставлены. Иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00257] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, гомологичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 18, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере

55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 95% или более гомологичны последовательности SEQ ID NO: 18. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 96% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 97% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 98% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, обладающим 99% гомологией относительно иммуногенных фрагментов консенсусных белковых последовательностей в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00258] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, идентичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 18, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны аминокислотным

последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 18. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00259] Согласно изложенному в данном документе в отношении соединения сигнального пептида или лидерной последовательности с N-концом белка, сигнальный пептид/лидерная последовательность замещает N-концевой метионин белка, который кодируется стартовым кодоном нуклеотидной последовательности, затем кодирует белок без кодирующих сигнальный пептид последовательностей.

(10) PSA

[00260] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген простатспецифический антиген (PSA; также известный как гамма-семинопротеин или калликреин-3 (KLK3)), его фрагмент или его вариант. PSA представляет собой андроген-регулируемую сериновую протеазу, вырабатываемую эпителиальными клетками предстательной железы и клетками рака предстательной железы, и кодируемую геном *KLK3*. PSA часто используется в качестве сывороточного маркера рака предстательной железы. PSA является представителем семейства тканевых калликреинов и расщепляет семеногелины в семенном стустке после расщепления профермента с высвобождением активного фермента, тем самым разжижая семенную жидкость, обеспечивая сперме возможность свободно плавать. Кроме того, ферментативная активность PSA регулируется концентрацией цинка, то есть высокие концентрации цинка ингибируют ферментативную активность PSA.

[00261] Антиген PSA способен индуцировать антиген-специфический T-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный

ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TFG- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

[00262] Антиген PSA может содержать эпитопы белков, которые делают их особенно эффективными в качестве иммуногенов, на которые могут индуцироваться иммунные ответы к PSA. Антиген PSMA может содержать полноразмерный продукт трансляции, его вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антиген PSA может содержать консенсусный белок.

[00263] Нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген PSA, можно оптимизировать в отношении частоты использования кодона и соответствующих РНК-транскриптов. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSA, может быть кодон- и РНК оптимизированной для экспрессии. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный антиген PSA, может содержать последовательность Козак (например, GCC ACC) для увеличения эффективности трансляции. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSA, может содержать несколько стоп-кодонов (например, TGA TGA) для увеличения эффективности терминации трансляции.

[00264] Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSA, может также кодировать лидерную последовательность иммуноглобулина Е (IgE). Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSA, может дополнительно кодировать лидерную последовательность IgE таким образом, что аминокислотная последовательность лидерной последовательности IgE связывается с аминокислотной последовательностью консенсусного антигена PSA пептидной связью. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSA, может также

содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSA, не имеет или не содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE.

[00265] В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSA, может представлять собой гетерологичную нуклеотидную последовательность и/или содержать одну или более гетерологичных нуклеотидных последовательностей.

(11) PSMA

[00266] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген простатспецифический мембранный антиген (PSMA; также известный как Глутаматкарбоксипептидаза II (GCP II), N-ацетил-L-аспартил-L-глутаматпептидаза I (NAALADаза I) и NAAG пептидаза), его фрагмент или его вариант. PSMA кодируется геном фолатгидролазы 1 (*FOLH1*). PSMA представляет собой цинксодержащий металлофермент, обнаруженный в мембранах и внеклеточном пространстве. PSMA сильно экспрессируется в предстательной железе человека и активируется при раке предстательной железы. Установлено, что PSMA также сверхэкспрессируется при других видах рака, таких как солидные опухоли почек, молочной железы и толстой кишки.

[00267] Антиген PSMA способен индуцировать антиген-специфический T-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию MHC, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные T-клетки

(Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TFG- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

[00268] Антиген PSMA может содержать эпитопы белков, которые делают их особенно эффективными в качестве иммуногенов, на которые могут индуцироваться иммунные ответы к PSMA. Антиген PSMA может содержать полноразмерный продукт трансляции, его вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антиген PSMA может содержать консенсусный белок.

[00269] Нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген PSMA, можно оптимизировать в отношении частоты использования кодона и соответствующих РНК-транскриптов. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSMA, может быть кодон- и РНК оптимизированной для экспрессии. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный антиген PSMA, может содержать последовательность Козак (например, GCC ACC) для увеличения эффективности трансляции. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSMA, может содержать несколько стоп-кодонов (например, TGA TGA) для увеличения эффективности терминации трансляции.

[00270] Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSMA, может также кодировать лидерную последовательность иммуноглобулина Е (IgE). Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSMA, может дополнительно кодировать лидерную последовательность IgE таким образом, что аминокислотная последовательность лидерной последовательности IgE связывается с аминокислотной последовательностью консенсусного антигена PSMA пептидной связью. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSMA, может также содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSMA, не имеет или не содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE.

[00271] В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSMA, может представлять собой петерологичную нуклеотидную

последовательность и/или содержать одну или более гетерологичных нуклеотидных последовательностей.

(12) STEAP

[00272] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген шестой трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы (STEAP), его фрагмент или его вариант. STEAP представляет собой металлоредуктазу, кодируемую геном *STEAP1*. STEAP в значительной степени экспрессируется в тканях предстательной железы и активируется в раковых клетках. Предполагается, что STEAP представляет собой шестой трансмембранный белок и является антигеном клеточной поверхности, расположенным в межклеточных соединениях.

[00273] Антиген STEAP способен индуцировать антиген-специфический Т-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TGF- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

[00274] Антиген STEAP может содержать эпитопы белков, которые делают их особенно эффективными в качестве иммуногенов, на которые могут индуцироваться иммунные ответы к STEAP. Антиген STEAP может содержать полноразмерный продукт трансляции, его вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антиген STEAP может содержать консенсусный белок.

[00275] Нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген STEAP, можно оптимизировать в отношении частоты использования кодона и соответствующих РНК-транскриптов. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген STEAP, может быть кодон- и РНК оптимизированной для экспрессии. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный антиген STEAP, может содержать последовательность Козак (например, GCC ACC) для увеличения эффективности трансляции. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген STEAP, может содержать несколько стоп-кодонов (например, TGA TGA) для увеличения эффективности терминации трансляции.

[00276] Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген STEAP, может также кодировать лидерную последовательность иммуноглобулина E (IgE). Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген STEAP, может дополнительно кодировать лидерную последовательность IgE таким образом, что аминокислотная последовательность лидерной последовательности IgE связывается с аминокислотной последовательностью консенсусного антигена STEAP пептидной связью. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген STEAP, может также содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген STEAP, не имеет или не содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE.

[00277] В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген STEAP, может представлять собой гетерологичную нуклеотидную последовательность и/или содержать одну или более гетерологичных нуклеотидных последовательностей.

(13) PSCA

[00278] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген простатспецифический антиген стволовых клеток (PSCA), его фрагмент или его вариант. PSCA представляет собой гликозилфосфатидилинозитол (GPI)-заякоренный белок клеточной поверхности и кодируется андроген-чувствительным геном. PSCA является представителем семейства Thy-1/Ly-6 GPI-заякоренных антигенов клеточной поверхности. PSCA активируется во многих

видах рака, в том числе в раке предстательной железы, мочевого пузыря и поджелудочной железы.

[00279] Антиген PSCA способен индуцировать антиген-специфический Т-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию MHC, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TFG- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

[00280] Антиген PSCA может содержать эпитопы белков, которые делают их особенно эффективными в качестве иммуногенов, на которые могут индуцироваться иммунные ответы к PSCA. Антиген PSCA может содержать полноразмерный продукт трансляции, его вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антиген PSCA может содержать консенсусный белок.

[00281] Нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген PSCA, можно оптимизировать в отношении частоты использования кодона и соответствующих РНК-транскриптов. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSCA, может быть кодон- и РНК оптимизированной для экспрессии. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный антиген PSCA, может содержать последовательность Козак (например, GCC ACC) для увеличения эффективности трансляции. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSCA, может содержать несколько

стоп-кодонов (например, TGA TGA) для увеличения эффективности терминации трансляции.

[00282] Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSCA, может также кодировать лидерную последовательность иммуноглобулина E (IgE). Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSCA, может дополнительно кодировать лидерную последовательность IgE таким образом, что аминокислотная последовательность лидерной последовательности IgE связывается с аминокислотной последовательностью консенсусного антигена PSCA пептидной связью. Нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSCA, может также содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSCA, не имеет или не содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE.

[00283] В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая консенсусный антиген PSCA, может представлять собой гетерологичную нуклеотидную последовательность и/или содержать одну или более гетерологичных нуклеотидных последовательностей.

(14) hTERT

[00284] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген hTERT, его фрагмент или его вариант. hTERT представляет собой обратную транскриптазу теломеразы человека, которая синтезирует метку TTAGGG на конце теломеров с целью предотвращения гибели клеток из-за укорачивания хромосом. Гиперпролиферативные клетки могут иметь аномально высокий уровень экспрессии hTERT. Аномальная экспрессия hTERT может также происходить в гиперпролиферативных клетках, инфицированных HCV и HPV. Таким образом, иммунотерапию HPV и HCV можно повысить с помощью направленного воздействия на клетки, которые экспрессируют hTERT на аномальных уровнях. Антигены HPV и HCV рассматриваются ниже более подробно. Раковый антиген hTERT может быть дополнительно определен в заявке на патент США № 14/139660, поданной 23 декабря 2013 года, описание которой включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[00285] Кроме того, экспрессия hTERT в дендритных клетках, трансфицированных генами hTERT, может индуцировать цитотоксические Т-клетки CD8⁺ и выявлять Т-клетки CD4⁺ антиген-

специфическим образом. Таким образом, использование экспрессии hTERT в антигенпрезентирующих клетках (APC) с целью задержки старения и поддержания их способности к презентации предпочтительного антигена можно использовать в иммунотерапевтических методах, таких как методах, описанных в данном документе.

[00286] Антиген hTERT может ассоциироваться со многими видами рака или экспрессироваться ими, включая, без ограничения ими, меланому, рак предстательной железы, рак печени, рак шейки матки, рецидивирующий респираторный папилломатоз (RRP), рак анального канала, рак головы и шеи, а также рак крови. Соответственно, вакцина, содержащая антиген hTERT, описанный в данном документе, может быть использована для лечения субъектов, страдающих многими видами рака, в том числе, без ограничения ими, меланомой, раком предстательной железы, раком печени, раком шейки матки, рецидивирующим респираторным папилломатозом (RRP), раком анального канала, раком головы и шеи, а также раком крови.

[00287] Антиген hTERT способен индуцировать антиген-специфический Т-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TGF- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

[00288] Антиген hTERT может содержать эпитопы белков, которые делают их особенно эффективными в качестве иммуногенов, на которые могут индуцироваться иммунные ответы к hTERT. Антиген hTERT может содержать полноразмерный продукт трансляции, его вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антиген hTERT может содержать консенсусный белок.

[00289] Нуклеотидную последовательность, кодирующую антиген hTERT или консенсусный антиген hTERT, можно оптимизировать в отношении частоты использования кодона и соответствующих РНК-транскриптов. Нуклеиновая кислота, кодирующая антиген hTERT или консенсусный антиген hTERT, может быть кодон- и РНК оптимизированной для экспрессии. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность, кодирующая антиген hTERT или консенсусный антиген hTERT, может содержать последовательность Козак (например, GCC ACC) для увеличения эффективности трансляции. Нуклеиновая кислота, кодирующая антиген hTERT или консенсусный антиген hTERT, может содержать несколько стоп-кодонов (например, TGA TGA) для увеличения эффективности терминации трансляции.

[00290] Нуклеиновая кислота, кодирующая антиген hTERT или консенсусный антиген hTERT, может также кодировать лидерную последовательность иммуноглобулина Е (IgE). Нуклеиновая кислота, кодирующая антиген hTERT или консенсусный антиген hTERT, может дополнительно кодировать лидерную последовательность IgE таким образом, что аминокислотная последовательность лидерной последовательности IgE связывается с аминокислотной последовательностью антигена hTERT или консенсусного антигена hTERT пептидной связью, соответственно. Нуклеиновая кислота, кодирующая антиген hTERT или консенсусный антиген hTERT, может также содержать нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая антиген hTERT или консенсусный антиген hTERT, не имеет или не содержит нуклеотидную последовательность, кодирующую лидерную последовательность IgE.

[00291] В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеиновая кислота, кодирующая антиген hTERT или консенсусный антиген hTERT, может представлять собой гетерологичную нуклеотидную последовательность и/или содержать одну или более гетерологичных нуклеотидных последовательностей. Нуклеиновая

кислота, кодирующая антиген hTERT или консенсусный антиген hTERT, может быть мутированной относительно антигена hTERT дикого типа таким образом, что одна или более аминокислот или остатков в аминокислотной последовательности антигена hTERT или консенсусного антигена hTERT, соответственно, заменены или замещены другой аминокислотой или остатком. Нуклеиновая кислота, кодирующая антиген hTERT или консенсусный антиген hTERT, может быть мутированной относительно антигена hTERT дикого типа таким образом, что один или более остатков в аминокислотной последовательности антигена hTERT или консенсусного антигена hTERT, соответственно, заменены или замещены другим остатком, тем самым заставляя иммунную систему более не быть толерантной к hTERT у млекопитающего, которому вводят нуклеиновую кислоту, кодирующую антиген hTERT или консенсусный антиген hTERT, антиген hTERT или консенсусный антиген hTERT, или их комбинации. Нуклеиновая кислота, кодирующая антиген hTERT или консенсусный антиген hTERT, может быть мутированной относительно антигена hTERT дикого типа таким образом, что аргинин 589, аспартат 1005 или как аргинин 589, так и аспартат 1005 в аминокислотной последовательности антигена hTERT или консенсусного антигена hTERT заменены или замещены остатком тирозина.

[00292] Антиген hTERT может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 23, которая кодирует аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 24. Последовательность SEQ ID NO: 23 кодирует белок hTERT, связанный с лидерной последовательностью IgE. Белок hTERT может быть связан с лидерной последовательностью IgE и НА-меткой. В других вариантах реализации изобретения белок hTERT может не содержать или не быть связанным с лидерной последовательностью IgE и/или НА-меткой.

[00293] В некоторых вариантах реализации изобретения антиген hTERT может представлять собой нуклеотидную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 23. В других вариантах реализации изобретения антиген hTERT может представлять собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%,

89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 24. Антиген hTERT может представлять собой аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 24.

[00294] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки, гомологичные белку hTERT, иммуногенному фрагменту белка hTERT и иммуногенным фрагментам гомологичных белков. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 95% гомологии относительно последовательности, до 96% гомологии относительно последовательности, до 97% гомологии относительно последовательности, до 98% гомологии относительно последовательности и до 99%, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков, которые гомологичны белкам, приведенным в данном документе.

[00295] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 95% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 96% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 97% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 98% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к молекулам нуклеиновых кислот, кодирующим иммуногенные белки, обладающие 99% гомологией относительно нуклеиновой кислоты, кодирующей последовательности в данном документе. В некоторых

вариантах реализации изобретения молекулы нуклеиновых кислот с кодирующими последовательностями, описанными в данном документе, которые гомологичны кодирующей последовательности консенсусного белка, описанного в данном документе, включают последовательности, кодирующие лидерную последовательность IgE, связанную с 5'-концом кодирующей последовательности, кодирующей гомологичные последовательности белков, описанные в данном документе.

[00296] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к нуклеотидным последовательностям, кодирующим белки с определенным процентом идентичности относительно полноразмерного белка hTERT, иммуногенного фрагмента белка hTERT и иммуногенных фрагментов белков, обладающих идентичностью относительно белка hTERT. Такие молекулы нуклеиновых кислот, которые кодируют иммуногенные белки, обладающие до 80% идентичности относительно полноразмерной последовательности hTERT, до 85% идентичности относительно полноразмерной последовательности, до 90% идентичности относительно полноразмерной последовательности hTERT, до 91% идентичности относительно полноразмерной последовательности hTERT, до 92% идентичности относительно полноразмерной последовательности hTERT, до 93% идентичности относительно полноразмерной последовательности hTERT, до 94% идентичности относительно полноразмерной последовательности hTERT, до 95% идентичности относительно полноразмерной последовательности hTERT, до 96% идентичности относительно полноразмерной последовательности hTERT, до 97% идентичности относительно полноразмерной последовательности hTERT, до 98% идентичности относительно полноразмерной последовательности hTERT и до 99% идентичности относительно полноразмерной последовательности hTERT, могут быть предоставлены. Аналогичным образом, также предоставляются нуклеотидные последовательности, кодирующие иммуногенные фрагменты, приведенные в данном документе, и иммуногенные фрагменты белков с аналогичным процентом идентичности, как указано выше, относительно белков hTERT, описанных в данном документе.

[00297] В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую последовательность, которая кодирует лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения нуклеотидная последовательность не содержит кодирующую

последовательность, которая кодирует лидерную последовательность IgE.

[00298] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к фрагментам последовательности SEQ ID NO: 23. Фрагменты могут составлять по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 23. Фрагменты могут быть по меньшей мере на 95%, по меньшей мере на 96%, по меньшей мере на 97%, по меньшей мере на 98% или по меньшей мере на 99% гомологичны фрагментам последовательности SEQ ID NO: 23. Фрагменты могут быть 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% или по меньшей мере на 99% идентичны относительно фрагментов последовательности SEQ ID NO: 23. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат последовательности, кодирующие лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такую как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00299] Кроме того, аминокислотная последовательность белка hTERT представляет собой SEQ ID NO: 24. Аминокислотная последовательность белка hTERT, связанного с лидерной последовательностью IgE, представляет собой SEQ ID NO: 24. Аминокислотная последовательность белка hTERT, связанного с лидерной последовательностью IgE, может быть связана с НА-меткой.

[00300] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые гомологичны последовательности SEQ ID NO: 24. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 95% гомологией относительно белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 24. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 96% гомологией относительно белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 24. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 97% гомологией относительно белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 24. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 98% гомологией относительно белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 24. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, которые обладают 99% гомологией относительно белковых последовательностей, приведенных в SEQ ID NO: 24.

[00301] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к белкам, которые идентичны относительно последовательности SEQ ID NO: 24. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 80% идентична полноразмерным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 24. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 85% идентична полноразмерным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 24. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 90% идентична полноразмерным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 24. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 91% идентична полноразмерным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 24. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 92% идентична полноразмерным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 24.

Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 93% идентична полноразмерным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 24.

Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 94% идентична полноразмерным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 24.

Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 95% идентична полноразмерным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 24.

Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 96% идентична полноразмерным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 24.

Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 97% идентична полноразмерным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 24.

Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 98% идентична полноразмерным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 24.

Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным белкам, обладающим аминокислотной последовательностью, которая на 99% идентична полноразмерным аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 24.

[00302] В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения белок не содержит лидерную последовательность IgE. Фрагменты белков могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белка. Иммуногенные фрагменты

последовательности SEQ ID NO: 24 могут быть предоставлены. Иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00303] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, гомологичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 24, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 95% или более гомологичны последовательности SEQ ID NO: 18. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, которые обладают 96% гомологией относительно иммуногенных фрагментов белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, которые обладают 97% гомологией относительно иммуногенных фрагментов белковых последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, которые обладают 98% гомологией относительно иммуногенных фрагментов белковых

последовательностей в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, которые обладают 99% гомологией относительно иммуногенных фрагментов белковых последовательностей в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00304] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, идентичными иммуногенным фрагментам последовательности SEQ ID NO: 24, могут быть предоставлены. Такие иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 10%, по меньшей мере 15%, по меньшей мере 20%, по меньшей мере 25%, по меньшей мере 30%, по меньшей мере 35%, по меньшей мере 40%, по меньшей мере 45%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 55%, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, которые на 80%, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичны аминокислотным последовательностям, приведенным в SEQ ID NO: 24. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность иммуноглобулина, такая как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты не содержат лидерную последовательность, такую как, например, лидерная последовательность IgE.

[00305] Согласно изложенному в данном документе в отношении соединения сигнального пептида или лидерной последовательности с N-концом белка, сигнальный пептид/лидерная последовательность замещает N-концевой метионин белка, который кодируется стартовым кодоном нуклеотидной последовательности, затем кодирует белок без кодирующих сигнальный пептид последовательностей.

некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1920 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1980 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2040 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2100 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2160 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2220 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2280 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2340 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2400 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2460 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2520 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2580 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2640 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2700 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2760 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2820 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2860 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 2940 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 3000 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 3060 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 3120 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 3180 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 3240 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 3300 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 3360 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 3420 нуклеотидов, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 3480 нуклеотидов, а в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 3510 нуклеотидов.

[00308] Фрагменты последовательности SEQ ID NO: 24 могут содержать 15 или более аминокислот, включая предпочтительно последовательности, кодирующие иммунодоминантный эпитоп. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты последовательности SEQ ID NO: 24 могут содержать 18 или более аминокислот, включая предпочтительно последовательности,

эпитоп. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты последовательности SEQ ID NO: 24 могут содержать 1500 или более аминокислот, включая предпочтительно последовательности, кодирующие иммунодоминантный эпитоп. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты последовательности SEQ ID NO: 24 могут содержать кодирующие последовательности для лидерных последовательностей IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения фрагменты последовательности SEQ ID NO: 24 не содержат кодирующие последовательности для лидерных последовательностей IgE.

[00309] Фрагменты могут содержать менее 24 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 30 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 36 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 42 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 48 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 54 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 60 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 72 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 90 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 120 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 150 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 180 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 210 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 240 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 260 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 290 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 320 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 350 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 380 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 410 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 440 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 470 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 500 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 530 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 560 аминокислот, в некоторых

вариантах реализации изобретения – менее 590 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 620 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 650 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 680 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 710 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 740 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 770 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 800 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 830 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 860 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 890 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 920 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 950 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 980 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1010 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1040 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1070 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1200 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1230 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1260 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1290 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1320 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1350 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1380 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1410 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1440 аминокислот, в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1470 аминокислот, а в некоторых вариантах реализации изобретения – менее 1500 аминокислот.

(15) MAGE A1

[00310] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген ассоциированный с меланомой антиген 1 (MAGE A1), его фрагмент или его вариант. MAGE A1, кодируемый геном MAGEA1, представляет собой 280-аминокислотный белок, и было обнаружено, что он экспрессируется только опухолевыми клетками и половыми

клетками. MAGE A1 зависит от метилирования ДНК для его репрессии в нормальных соматических тканях. Эти гены активируются во многих типах опухолей в ходе процесса полногеномного деметилирования, который зачастую сопровождается онкогенезом. В частности, при злокачественном перерождении эти гены активируются, экспрессируются и могут стать антигенными мишенями, которые распознаются и атакуются иммунной системой. Таким образом, гены MAGE принимают участие в иммунном процессе, оказывая направленное воздействие на некоторые ранние опухолевые клетки с целью иммунного повреждения. MAGE A1 может экспрессироваться в различных видах рака, в том числе, без ограничения ими, меланомах, карциномах легких и плоскоклеточных карциномах пищевода.

[00311] Антиген MAGE A1 способен индуцировать антиген-специфический Т-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TGF- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

(16) WT1

[00312] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген опухоли Вильмса 1 (WT1), его фрагмент или его вариант. WT1 представляет собой фактор транскрипции, содержащий пролин/глутамин-богатый ДНК-связывающий домен на N-конце и

четыре мотива "цинковых пальцев" на С-конце. WT1 участвует в нормальном развитии мочеполовой системы и взаимодействует с различными факторами, например, p53, известным опухолевым супрессором и сериновой протеазой HtrA2, которая расщепляет WT1 в нескольких местах после обработки цитотоксическим средством.

[00313] Мутация WT1 может привести к образованию опухоли или рака, например, опухоли Вильмса или опухолей, экспрессирующих WT1. Опухоль Вильмса зачастую образуется в одной или обеих почках до метастазирования в другие ткани, например, без ограничения ими, ткани печени, ткани мочевыводящей системы, лимфатические ткани и легочные ткани. Соответственно, опухоль Вильмса можно считать метастатической опухолью. Опухоль Вильмса, как правило, встречается у детей младшего возраста (например, менее 5 лет) и может быть как спорадической, так и наследственной. Раковый антиген WT1 может быть дополнительно определен в PCT/US13/75141, поданном 23 декабря 2013 года, который включен в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[00314] Антиген WT-1 способен индуцировать антиген-специфический Т-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TFG- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

[00315] Соответственно, данная вакцина может быть использована для лечения субъектов, страдающих от опухоли Вильмса. Вакцина может быть использована для лечения субъектов, страдающих многими видами рака, в том числе, без ограничения ими, меланомой, раком предстательной железы, раком печени, раком шейки матки, рецидивирующим респираторным папилломатозом (RRP), раком анального канала, раком головы и шеи, а также раком крови. Вакцина также может быть использована для лечения субъектов, страдающих раком или опухолями, которые экспрессируют WT1 для предотвращения развития таких опухолей у субъектов. Антиген WT1 может отличаться от нативного, "нормального" гена WT1, и, таким образом, обеспечивать терапию или профилактику против экспрессирующей антиген WT1 опухоли. Соответственно, последовательности антигена WT1, которые отличаются от нативного гена WT1 (например, мутированные гены или последовательности WT1) приведены в данном документе.

[00316] Транскрипты нативного гена WT1 преобразуются в ряд мРНК, и полученные в результате белки не все являются равноценными для индукции иммунного ответа. Мутированные гены WT1, описанные в данном документе, не допускают альтернативный процессинг, продуцирующий один полноразмерный транскрипт и приводящий к более сильной индукции ответов эффекторных Т- и В-клеток. Первая мутированная последовательность WT1 называется CON WT1 с модифицированными "цинковыми пальцами" или ConWT1-L. Последовательность SEQ ID NO: 19 представляет собой нуклеотидную последовательность, кодирующую антиген WT1 CON WT1 с модифицированными "цинковыми пальцами". Последовательность SEQ ID NO: 20 представляет собой аминокислотную последовательность, кодирующую антиген WT1 CON WT1 с модифицированными "цинковыми пальцами". Вторая мутированная последовательность WT1 называется CON WT1 без "цинковых пальцев" или ConWT1-S. Последовательность SEQ ID NO: 21 представляет собой нуклеотидную последовательность, кодирующую антиген WT1 CON WT1 без "цинковых пальцев". Последовательность SEQ ID NO: 22 представляет собой аминокислотную последовательность антигена WT1 CON WT1 без модифицированных "цинковых пальцев".

[00317] Антиген WT1 может представлять собой консенсусную последовательность антигена (или иммуногена), полученную из двух или более видов. Антиген WT1 может содержать консенсусную последовательность и/или модификацию (модификации) для

улучшенной экспрессии. Модификация может включать оптимизацию кодонов, оптимизацию РНК, дополнительно из последовательности Козак (например, GCC ACC) для увеличения инициации трансляции и/или добавления лидерной последовательности иммуноглобулина для увеличения иммуногенности антигена WT1. Антиген WT1 может содержать сигнальный пептид, такой как сигнальный пептид иммуноглобулина, например, без ограничения ими, сигнальный пептид иммуноглобулина E (IgE) или иммуноглобулина G (IgG). В некоторых вариантах реализации изобретения консенсусный антиген WT1 может содержать гемагглютининовую (НА) метку. Консенсусный антиген WT1 может быть предназначен для того, чтобы вызвать более сильные и широкие клеточные и/или гуморальные иммунные ответы, чем соответствующий кодон-оптимизированный антиген WT1.

[00318] Консенсусный антиген WT1 может содержать одну или более мутаций в одном или более "цинковых пальцах", тем самым вызывая более сильные и широкие клеточные и/или гуморальные иммунные ответы, чем соответствующий кодон-оптимизированный антиген WT1. Одна или более мутаций может представлять собой замену одной или более аминокислот, которые координируют ион цинка в одном или более "цинковых пальцах". Одна или более аминокислот, которые координируют ион цинка, может представлять собой мотив ССНН. Соответственно, в некоторых вариантах реализации изобретения одна или более мутаций может заменять 1, 2, 3 или все 4 аминокислоты мотива ССНН.

[00319] В других вариантах реализации изобретения одна или более мутаций являются такими, что остатки 312, 317, 342 и 347 последовательности SEQ ID NO: 20 представляют собой любой остаток, отличный от цистеина (C), а остатки 330, 334, 360 и 364 последовательности SEQ ID NO: 20 представляют собой любой остаток, отличный от гистидина (H). В частности, одна или более мутаций являются такими, что остатки 312, 317, 330, 334, 342, 347, 360 и 364 последовательности SEQ ID NO: 20 представляют собой глицин (G).

[00320] В других вариантах реализации изобретения один или более "цинковых пальцев" могут быть удалены из консенсусного антигена WT1. Один, два, три или все четыре "цинковых пальца" могут быть удалены из консенсусного антигена WT1.

[00321] Консенсусный антиген WT1 может представлять собой нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 19, которая кодирует последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах

реализации изобретения консенсусный антиген WT1 может представлять собой нуклеотидную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью по всей длине нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 19. В других вариантах реализации изобретения консенсусный антиген WT1 может представлять собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 20.

[00322] В других вариантах реализации изобретения консенсусный антиген WT1 может представлять собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 20, при условии, что остатки 312, 317, 342 и 347 последовательности SEQ ID NO: 20 представляют собой любой остаток, отличный от цистеина (C), а остатки 330, 334, 360 и 364 последовательности SEQ ID NO: 20 представляют собой любой остаток, отличный от гистидина (H). В других вариантах реализации изобретения консенсусный антиген WT1 может представлять собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 20, при условии, что остатки 312, 317, 330, 334, 342, 347, 360 и 364 последовательности SEQ ID NO: 20 представляют собой глицин (G).

[00323] Консенсусный антиген WT1 может представлять собой аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 20. В некоторых вариантах реализации изобретения консенсусный антиген WT1 может представлять собой аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 20. Консенсусный антиген WT1 может

представлять собой аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 20, при условии, что остатки 312, 317, 342 и 347 последовательности SEQ ID NO: 20 представляют собой любой остаток, отличный от цистеина (C), а остатки 330, 334, 360 и 364 последовательности SEQ ID NO: 20 представляют собой любой остаток, отличный от гистидина (H). В некоторых вариантах реализации изобретения консенсусный антиген WT1 может представлять собой аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 20, при условии, что остатки 312, 317, 330, 334, 342, 347, 360 и 364 последовательности SEQ ID NO: 20 представляют собой глицин (G).

[00324] Консенсусный антиген WT1 может представлять собой нуклеиновую кислоту последовательности SEQ ID NO: 21, которая кодирует последовательность SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах реализации изобретения консенсусный антиген WT1 может представлять собой нуклеотидную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью по всей длине нуклеотидной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 21. В других вариантах реализации изобретения консенсусный антиген WT1 может представлять собой нуклеотидную последовательность, которая кодирует аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 22.

[00325] Консенсусный антиген WT1 может представлять собой аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах реализации изобретения консенсусный антиген WT1 может представлять собой аминокислотную последовательность, обладающую по меньшей мере около 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% или 99% идентичностью по всей длине аминокислотной последовательности, приведенной в SEQ ID NO: 22.

[00326] Иммуногенные фрагменты последовательностей SEQ ID NO: 20 и SEQ ID NO: 22 могут быть предоставлены. Иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 20 и/или SEQ ID NO: 22. В некоторых вариантах реализации изобретения иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 20, при условии, что если в иммуногенном фрагменте присутствуют остатки 312, 317, 342 и 347 последовательности SEQ ID NO: 20, то эти остатки представляют собой любой остаток, отличный от цистеина (C), и при условии, что если в иммуногенном фрагменте присутствуют остатки 330, 334, 360 и 364 последовательности SEQ ID NO: 20, то эти остатки представляют собой любой остаток, отличный от гистидина (H). В других вариантах реализации изобретения иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 20, при условии, что если в иммуногенном фрагменте присутствуют остатки 312, 317, 330, 334, 342, 347, 360 и 364 последовательности SEQ ID NO: 20, то эти остатки представляют собой глицин (G).

[00327] В некоторых вариантах реализации изобретения иммуногенные фрагменты содержат лидерную последовательность, например, лидерную последовательность иммуноглобулина, такую как лидерная последовательность иммуноглобулина E (IgE). В некоторых вариантах реализации изобретения иммуногенные фрагменты не содержат лидерную последовательность.

[00328] Иммуногенные фрагменты белков с аминокислотными последовательностями, обладающими идентичностью относительно иммуногенных фрагментов последовательностей SEQ ID NO: 20 и 22, могут быть предоставлены. Такие фрагменты могут содержать по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по

меньшей мере 75%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% белков, обладающих 95% или большей идентичностью относительно последовательности SEQ ID NO: 20 и/или SEQ ID NO: 22. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, которые обладают 96% или большей идентичностью относительно иммуногенных фрагментов белковых последовательностей WT1 в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, которые обладают 97% или большей идентичностью относительно иммуногенных фрагментов белковых последовательностей WT1 в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, которые обладают 98% или большей идентичностью относительно иммуногенных фрагментов белковых последовательностей WT1 в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, которые обладают 99% или большей идентичностью относительно иммуногенных фрагментов белковых последовательностей WT1 в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения иммуногенные фрагменты содержат лидерную последовательность, например, лидерную последовательность иммуноглобулина, такую как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения иммуногенные фрагменты не содержат лидерную последовательность.

[00329] Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам последовательностей SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 21. Иммуногенные фрагменты могут содержать по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% последовательности SEQ ID NO: 19 и/или SEQ ID NO: 21. В некоторых вариантах реализации изобретения иммуногенные фрагменты содержат последовательности, которые кодируют лидерную последовательность, например, лидерную последовательность иммуноглобулина, такую как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения иммуногенные

фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность.

[00330] Иммуногенные фрагменты нуклеиновых кислот с нуклеотидными последовательностями, обладающими идентичностью относительно иммуногенных фрагментов последовательностей SEQ ID NO: 19 и SEQ ID NO: 21, могут быть предоставлены. Такие фрагменты могут содержать по меньшей мере 60%, по меньшей мере 65%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 75%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98% или по меньшей мере 99% нуклеиновых кислот, обладающих 95% или большей идентичностью относительно последовательности SEQ ID NO: 19 и/или SEQ ID NO: 21. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, которые обладают 96% или большей идентичностью относительно иммуногенных фрагментов нуклеотидных последовательностей WT1 в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, которые обладают 97% или большей идентичностью относительно иммуногенных фрагментов нуклеотидных последовательностей WT1 в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, которые обладают 98% или большей идентичностью относительно иммуногенных фрагментов нуклеотидных последовательностей WT1 в данном документе. Некоторые варианты реализации изобретения относятся к иммуногенным фрагментам, которые обладают 99% или большей идентичностью относительно иммуногенных фрагментов нуклеотидных последовательностей WT1 в данном документе. В некоторых вариантах реализации изобретения иммуногенные фрагменты содержат последовательности, которые кодируют лидерную последовательность, например, лидерную последовательность иммуноглобулина, такую как лидерная последовательность IgE. В некоторых вариантах реализации изобретения иммуногенные фрагменты не содержат кодирующие последовательности, которые кодируют лидерную последовательность.

(17) gp100

[00331] Вакцина по настоящему изобретению может содержать раковый антиген гликопротеин 100 (gp100; также известный как Trp2 и премеланосомный белок (PMEL)), его фрагмент или его вариант. gp100 кодируется геном PMEL. Это трансмембранный

гликопротеин 1-го типа с молекулярной массой, составляющей 70 кДа, состоящий из 661 аминокислоты, который играет центральную роль в биогенезе меланосом, так как он принимает участие в созревании меланосом от I до II стадии. gp100 обуславливает образование страт из мультивезикулярных телец и непосредственно принимает участие в биогенезе премеланосом. gp100 обогащен премеланосомами по сравнению со зрелыми меланосомами, но сверхэкспрессируется неонатальными пролиферирующими меланоцитами и во время развития опухоли. Белок gp100 содержит ряд иммуногенных эпитопов, которые распознаются цитотоксическими Т-лимфоцитами периферической крови пациентов с меланомой и проникающих в опухоль лимфоцитов.

[00332] Антиген gp100 способен индуцировать антиген-специфический Т-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TFG- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

(18) Вирусные антигены

[00333] Раковый антиген может представлять собой вирусный антиген, его фрагмент или его вариант. Вирусный антиген может представлять собой антиген вируса гепатита В, вируса гепатита С или вируса папилломы человека (HPV). HPV может представлять собой HPV 6, HPV 11, HPV 16 или HPV 18, описанный ниже.

[00334] Вирусный антиген способен индуцировать антиген-специфический Т-клеточный и/или интенсивный гуморальный иммунные ответы, тем самым индуцируя или вызывая иммунный ответ, который направлен на рак или опухоль или реагирует на них экспрессией антигена. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может представлять собой клеточный, гуморальный или как клеточный, так и гуморальный иммунные ответы. В некоторых вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный клеточный иммунный ответ может включать индукцию или секрецию гамма-интерферона (IFN- γ) и/или фактора некроза опухолей альфа (TNF- α). В других вариантах реализации изобретения индуцированный или вызванный иммунный ответ может уменьшать или ингибировать один или более факторов супрессии иммунного ответа, которые стимулируют развитие опухоли или рака, экспрессируя антиген, например, без ограничения ими, факторы, подавляющие презентацию МНС, факторы, активирующие антиген-специфические регуляторные Т-клетки (Tregs), PD-L1, FasL, цитокины, такие как IL-10 и TFG- β , ассоциированные с опухолью макрофаги, ассоциированные с опухолью фибробласты, растворимые факторы, продуцируемые иммунными клетками-супрессорами, CTLA-4, PD-1, MDSC, MCP-1 и молекулы иммунных контрольных точек, что более подробно описано ниже.

Антиген вируса гепатита В

[00335] Вирусный антиген может представлять собой антиген из вируса гепатита В (HBV), его фрагмент или его вариант. Антиген HBV может ассоциироваться с раком печени или вызвать его. В некоторых вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой гетерологичную молекулу (молекулы) нуклеиновой кислоты, такую как плазида (плазмиды), которая кодирует один или более антигенов из HBV. Антиген HBV может представлять собой полноразмерные или иммуногенные фрагменты полноразмерных белков.

[00336] Антиген HBV может содержать консенсусные последовательности и/или одну или более модификаций для улучшенной экспрессии. Генетические модификации, в том числе оптимизация кодонов, оптимизация РНК и добавление высокоэффективной лидерной последовательности иммуноглобулина с целью повышения иммуногенности конструкций, могут быть включены в модифицированные консенсусные последовательности. Консенсусный антиген HBV может содержать сигнальный пептид, такой как

сигнальный пептид иммуноглобулина, такой как сигнальный пептид IgE или IgG, и в некоторых вариантах реализации изобретения может содержать НА-метку. Иммуногены могут быть сконструированы так, чтобы вызывать более сильные и широкие клеточные иммунные ответы, чем соответствующие кодон-оптимизированные иммуногены.

[00337] Антиген HBV может представлять собой коровый белок HBV, поверхностный белок HBV, ДНК-полимеразу HBV, кодируемый геном X белок HBV, его фрагмент, его вариант или их комбинацию. Антиген HBV может представлять собой коровый белок HBV генотипа А, коровый белок HBV генотипа В, коровый белок HBV генотипа С, коровый белок HBV генотипа D, коровый белок HBV генотипа Е, коровый белок HBV генотипа F, коровый белок HBV генотипа G, коровый белок HBV генотипа H, поверхностный белок HBV генотипа А, поверхностный белок HBV генотипа В, поверхностный белок HBV генотипа С, поверхностный белок HBV генотипа D, поверхностный белок HBV генотипа Е, поверхностный белок HBV генотипа F, поверхностный белок HBV генотипа G, поверхностный белок HBV генотипа H, его фрагмент, его вариант или их комбинацию. Антиген HBV может представлять собой консенсусный коровый белок HBV или консенсусный поверхностный белок HBV.

[00338] В некоторых вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную коровую конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа А, лидерную последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для корового белка HBV генотипа А, или консенсусную коровую последовательность белка HBV генотипа А.

[00339] В других вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную коровую конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа В, лидерную последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для корового белка HBV генотипа В, или консенсусную коровую последовательность белка HBV генотипа В.

[00340] В других вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную коровую конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа С, лидерную последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для корового белка HBV генотипа С, или консенсусную коровую последовательность белка HBV генотипа С.

[00341] В некоторых вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную коровую

конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа D, лидерную последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для корового белка HBV генотипа D, или консенсусную коровую последовательность белка HBV генотипа D.

[00342] В других вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную коровую конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа E, лидерную последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для корового белка HBV генотипа E, или консенсусную коровую последовательность белка HBV генотипа E.

[00343] В некоторых вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную коровую конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа F, лидерную последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для корового белка HBV генотипа F, или консенсусную коровую последовательность белка HBV генотипа F.

[00344] В других вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную коровую конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа G, лидерную последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для корового белка HBV генотипа G, или консенсусную коровую последовательность белка HBV генотипа G.

[00345] В некоторых вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную коровую конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа H, лидерную последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для корового белка HBV генотипа H, или консенсусную коровую последовательность белка HBV генотипа H.

[00346] В других вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную поверхностную конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа A, лидерную последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для поверхностного белка HBV генотипа A, или консенсусную поверхностную последовательность белка HBV генотипа A.

[00347] В некоторых вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную поверхностную конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа B, лидерную последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для поверхностного белка HBV генотипа B, или

консенсусную поверхностную последовательность белка HBV генотипа В.

[00348] В других вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную поверхностную конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа С, лидерную последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для поверхностного белка HBV генотипа С, или консенсусную поверхностную последовательность белка HBV генотипа С.

[00349] В других вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную поверхностную конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа D, лидерную последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для поверхностного белка HBV генотипа D, или консенсусную поверхностную последовательность белка HBV генотипа D.

[00350] В некоторых вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную поверхностную конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа E, лидерную последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для поверхностного белка HBV генотипа E, или консенсусную поверхностную последовательность белка HBV генотипа E.

[00351] В других вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную поверхностную конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа F, лидерную последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для поверхностного белка HBV генотипа F, или консенсусную поверхностную последовательность белка HBV генотипа F.

[00352] В других вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную поверхностную конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа G, лидерную последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для поверхностного белка HBV генотипа G, или консенсусную поверхностную последовательность белка HBV генотипа G.

[00353] В других вариантах реализации изобретения антиген HBV может представлять собой консенсусную поверхностную конструкцию последовательности ДНК HBV генотипа H, лидерную

последовательность IgE, связанную с консенсусной последовательностью для поверхностного белка HBV генотипа H, или консенсусную поверхностную последовательность белка HBV генотипа H.

Антиген вируса гепатита С

[00354] Вирусный антиген может представлять собой антиген из вируса гепатита С (HCV), его фрагмент или его вариант. Антиген HCV может ассоциироваться с раком печени или вызвать его. В некоторых вариантах реализации изобретения антиген HCV может представлять собой гетерологичную молекулу (молекулы) нуклеиновой кислоты, такую как плазида (плазмиды), которая кодирует один или более антигенов из HCV. Антиген HCV может представлять собой полноразмерные или иммуногенные фрагменты полноразмерных белков.

[00355] Антиген HCV может содержать консенсусные последовательности и/или одну или более модификаций для улучшенной экспрессии. Генетические модификации, в том числе оптимизация кодонов, оптимизация РНК и добавление высокоэффективной лидерной последовательности иммуноглобулина с целью повышения иммуногенности конструкций, могут быть включены в модифицированные консенсусные последовательности. Консенсусный антиген HCV может содержать сигнальный пептид, такой как сигнальный пептид иммуноглобулина, такой как сигнальный пептид IgE или IgG, и в некоторых вариантах реализации изобретения может содержать HA-метку. Иммуногены могут быть сконструированы так, чтобы вызывать более сильные и широкие клеточные иммунные ответы, чем соответствующие кодон-оптимизированные иммуногены.

[00356] Антиген HCV может представлять собой нуклеокапсидный белок HCV (то есть коровый белок), белок оболочки HCV (например, E1 и E2), неструктурный белок HCV (например, NS1, NS2, NS3, NS4a, NS4b, NS5a и NS5b), его фрагмент, его вариант или их комбинацию.

Вирус папилломы человека

[00357] Вирусный антиген может представлять собой антиген из HPV, его фрагмент или его вариант. Антиген HPV может быть из HPV 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52 и 58 типов, которые вызывают рак шейки матки, рак прямой кишки и/или другие виды рака. Антиген HPV может быть из HPV 6 и/или 11 типов, которые вызывают остроконечные кондиломы, и, как известно, являющиеся причиной рака головы и шеи. Антиген HPV может быть из HPV 16 и/или 18

типов, которые вызывают рак шейки матки. Антиген HPV может быть из HPV 6, 11 и/или 16 типов, которые вызывают RRP и рак анального канала. Раковый антиген HPV может быть дополнительно определен в патенте США № 8168769, поданном 30 июля 2007 года, патенте США № 8389706, поданном 21 января 2010 года, заявке на патент США № 13/271576, поданной 21 октября 2011 года, и заявке на патент США № 61/777198, поданной 12 марта 2013 года, каждые из которых включены посредством ссылки в полном объеме.

[00358] Антигены HPV могут представлять собой домены E6 или E7 HPV из каждого типа HPV. Например, для HPV 16 типа (HPV16) антиген HPV16 может включать антиген HPV16 E6, антиген HPV16 E7, фрагменты, варианты или их комбинации. Аналогичным образом, антиген HPV может представлять собой HPV 6 E6 и/или E7, HPV 11 E6 и/или E7, HPV 16 E6 и/или E7, HPV 18 E6 и/или E7, HPV 31 E6 и/или E7, HPV 33 E6 и/или E7, HPV 52 E6 и/или E7, или HPV 58 E6 и/или E7, фрагменты, варианты или их комбинации.

Вирусы герпеса

[00359] Вирусный антиген может представлять собой антиген вируса герпеса. Антиген вируса герпеса может представлять собой антиген, выбранный из группы, состоящей из CMV, HSV1, HSV2, VZV, CеHV1, EBV, розеоловируса, ассоциированного с саркомой Капоши герпесвируса, или MhV, и предпочтительно – CMV, HSV1, HSV2, CеHV1 и VZV.

[00360] Консенсусный белок HCMV-gB (SEQ ID NO: 26), консенсусный белок HCMV-gM (SEQ ID NO: 28), консенсусный белок HCMV-gN (SEQ ID NO: 30), консенсусный белок HCMV-gH (SEQ ID NO: 32), консенсусный белок HCMV-gL (SEQ ID NO: 34), консенсусный белок HCMV-gO (SEQ ID NO: 36), консенсусный белок HCMV-UL128 (SEQ ID NO: 38), консенсусный белок HCMV-UL130 (SEQ ID NO: 40), консенсусный белок HCMV-UL-131A (SEQ ID NO: 42), консенсусный белок HCMV-UL-83 (pp65) (SEQ ID NO: 44).

[00361] Нуклеотидные последовательности, в том числе последовательности, кодирующие SEQ ID NO: 26, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 34, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 38, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 42 или SEQ ID NO: 44. Были получены молекулы нуклеиновых кислот, кодирующие консенсусные аминокислотные последовательности. Вакцины могут содержать одну или более нуклеотидных последовательностей, которые кодируют один или более консенсусных вариантов иммуногенных белков, выбранных из этой группы последовательностей, созданных для

оптимизации стабильности и экспрессии в организме человека. Нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный белок HCMV-gB (SEQ ID NO: 25), нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный белок HCMV-gM (SEQ ID NO: 27), нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный белок HCMV-gN (SEQ ID NO: 29), нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный белок HCMV-gH (SEQ ID NO: 31), нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный белок HCMV-gL (SEQ ID NO: 33), нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный белок HCMV-gO (SEQ ID NO: 35), нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный белок HCMV-UL128 (SEQ ID NO: 37), нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный белок HCMV-UL130 (SEQ ID NO: 39), нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный белок HCMV-UL-131A (SEQ ID NO: 41), нуклеотидная последовательность, кодирующая консенсусный белок HCMV-UL-83 (pp65) (SEQ ID NO: 43). Нуклеотидная последовательность может дополнительно иметь кодирующую лидерную последовательность IgE, связанную с 5'-концом.

[00362] В свете эволюционной дивергенции от клинических штаммов и больших генетических различий среди распространенных циркулирующих штаммов человека были получены консенсусные аминокислотные последовательности для каждого из иммуногенных белков. Консенсусные аминокислотные последовательности для gB, gM, gH, gL, gE, gI, gK, gC, gD, UL128, UL130, UL-131A и UL-83 (pp65) были основаны на последовательностях из клинических штаммов человека. По причине большой эволюционной дивергенции белка gN консенсусная последовательность была получена только из одного (gN-4с) из семи серотипов, который является наиболее серопревалентным (gN-4). Аналогичным образом, в случае gO, консенсусные аминокислотные последовательности были получены из одного (gO-5) из восьми серотипов по причине подтвержденной связи этих определенных серотипов с серотипом gN-4с.

[00363] Как описано выше, антиген вируса герпеса может представлять собой консенсусный антиген вируса герпеса. Консенсусный антиген вируса герпеса может быть снабжен сигнальным пептидом. В некоторых вариантах реализации изобретения лидерная последовательность IgE связана с N-концом. Как описано в данном документе, при ссылке на сигнальный пептид, связанный с N-концом консенсусной последовательности, он

предназначен для того, чтобы специально включать варианты реализации изобретения, в которых N-концевой остаток Хаа консенсусных последовательностей заменен сигнальным пептидом. То есть, при использовании по тексту данного документа, Хаа предназначен для обозначения любой аминокислоты или отсутствия аминокислоты. Белки, которые содержат консенсусную последовательность, приведенную в данном документе последовательностями SEQ ID NO: 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, могут содержать эти последовательности без N-концевого Хаа.

[00364] Были получены аминокислотные последовательности, которые содержали в каждом конкретном случае лидерную последовательность IgE на N-конце консенсусных последовательностей иммуногенного белка вируса герпеса. В некоторых вариантах реализации изобретения представлены конструкции нуклеиновых кислот, в которых два или более антигенов вируса герпеса экспрессируются в виде слитых белков, связанных друг с другом сайтами протеолитического расщепления. Сайт протеолитического расщепления фурина является примером сайта протеолитического расщепления, который может связывать антигены вируса герпеса в слитом белке, экспрессируемом конструкцией. Вирусный раковый антиген семейства герпеса может дополнительно представлять собой любой антиген, описанный в заявке на патент США № 13/982457, содержание которой включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

3. Вакцина в комбинации с ингибитором иммунной контрольной точки

[00365] Вакцина может дополнительно содержать один или более ингибиторов одной или более молекул иммунных контрольных точек (то есть ингибиторов иммунных контрольных точек). Молекулы иммунных контрольных точек описаны ниже более подробно. Данный ингибитор иммунной контрольной точки представляет собой любую нуклеиновую кислоту или белок, который предотвращает супрессию любого компонента в иммунной системе, например, презентацию МНС, презентацию и/или дифференцировку Т-клеток, презентацию и/или дифференцировку В-клеток, любого цитокина, хемокина или сигнализацию для пролиферации и/или дифференцировки иммунных клеток.

[00366] Такой ингибитор может представлять собой нуклеотидную последовательность, аминокислотную

последовательность, малую молекулу или их комбинацию. Нуклеотидная последовательность может представлять собой ДНК, РНК, кДНК, их вариант, их фрагмент или их комбинацию. Нуклеиновая кислота может также содержать дополнительные последовательности, кодирующие линкерные или маркерные последовательности, которые связаны с ингибитором иммунной контрольной точки пептидной связью. Малая молекула может представлять собой низкомолекулярное, например, весом в менее чем 800 дальтон, органическое или неорганическое соединение, которое может служить в качестве ферментного субстрата, лиганда (или его аналога), связанного белком или нуклеиновой кислотой, или регулятора биологического процесса. Аминокислотная последовательность может представлять собой белок, пептид, их вариант, их фрагмент или их комбинацию.

[00367] В некоторых вариантах реализации изобретения ингибитор иммунной контрольной точки может представлять собой одну или более нуклеотидных последовательностей, кодирующих антитело, его вариант, его фрагмент или их комбинацию. В других вариантах реализации изобретения ингибитор иммунной контрольной точки может представлять собой антитело, его вариант, его фрагмент или их комбинацию.

Молекула иммунной контрольной точки

[00368] Молекула иммунной контрольной точки может представлять собой нуклеотидную последовательность, аминокислотную последовательность, малую молекулу или их комбинацию. Нуклеотидная последовательность может представлять собой ДНК, РНК, кДНК, их вариант, их фрагмент или их комбинацию. Нуклеиновая кислота может также содержать дополнительные последовательности, кодирующие линкерные или маркерные последовательности, которые связаны с ингибитором иммунной контрольной точки пептидной связью. Малая молекула может представлять собой низкомолекулярное, например, весом в менее чем 800 дальтон, органическое или неорганическое соединение, которое может служить в качестве ферментного субстрата, лиганда (или его аналога), связанного белком или нуклеиновой кислотой, или регулятора биологического процесса. Аминокислотная последовательность может представлять собой белок, пептид, их вариант, их фрагмент или их комбинацию.

(1) PD-1 и PD-L1

[00369] Молекула иммунной контрольной точки может представлять собой белок программируемой гибели клеток 1 (PD-1), лиганд программируемой гибели клеток 1 (PD-L1), его фрагмент, его вариант или их комбинацию. PD-1 представляет собой белок клеточной поверхности, кодируемый геном *PDCD1*. PD-1 является представителем суперсемейства иммуноглобулинов и экспрессируется на Т-клетках и про-В-клетках, и, таким образом, участвует в судьбе и/или дифференцировке этих клеток. В частности, PD-1 представляет собой мембранный белок 1 типа семейства CD28/CTLA-4 Т-клеточных регуляторов и негативно регулирует сигналы Т-клеточных рецепторов (TCR), тем самым негативно регулируя иммунные ответы. PD-1 может негативно регулировать ответы CD8+ Т-клеток, и, таким образом, ингибирует CD8-опосредованную цитотоксичность и усиливает развитие опухоли.

[00370] PD-1 имеет два лиганда, PD-L1 и PD-L2, которые являются представителями семейства B7. PD-L1 активируется на макрофагах и дендритных клетках (DC) в ответ на лечение LPS и GM-CSF, а также на Т-клетках и В-клетках при сигнализации TCR и В-клеточного рецептора. PD-L1 экспрессируется многими опухолевыми клеточными линиями, в том числе миеломами, мастоцитомами и меланомами.

Антитело к молекуле иммунной контрольной точки

[00371] Как описано выше, ингибитор иммунной контрольной точки может представлять собой антитело. Антитело может связываться или вступать в реакцию с антигеном (то есть молекулой иммунной контрольной точки, описанной выше). Соответственно, антитело может считаться антителом к молекуле иммунной контрольной точки или антителом молекулы иммунной контрольной точки. Антитело может кодироваться нуклеотидной последовательностью, содержащейся в

[00372] Антитело может содержать полипептид тяжелой цепи и полипептид легкой цепи. Полипептид тяжелой цепи может содержать переменную область тяжелой цепи (VH) и/или по меньшей мере одну константную область тяжелой цепи (CH). По меньшей мере одна константная область тяжелой цепи может содержать константную область тяжелой цепи 1 (CH1), константную область тяжелой цепи 2 (CH2), константную область тяжелой цепи 3 (CH3) и/или шарнирный участок.

[00373] В некоторых вариантах реализации изобретения полипептид тяжелой цепи может содержать VH область и CH1

область. В других вариантах реализации изобретения полипептид тяжелой цепи может содержать VH область, CH1 область, шарнирный участок, CH2 область и CH3 область.

[00374] Полипептид тяжелой цепи может содержать набор определяющих комплементарность областей ("CDR"). Набор CDR может содержать три гипервариабельные области VH области. Исходя из N-конца полипептида тяжелой цепи, эти CDR обозначают "CDR1", "CDR2" и "CDR3", соответственно. CDR1, CDR2 и CDR3 полипептида тяжелой цепи могут способствовать связыванию или распознаванию антигена.

[00375] Полипептид легкой цепи может содержать вариабельную область легкой цепи (VL) и/или константную область легкой цепи (CL). Полипептид легкой цепи может содержать набор определяющих комплементарность областей ("CDR"). Набор CDR может содержать три гипервариабельные области VL области. Исходя из N-конца полипептида легкой цепи, эти CDR обозначают "CDR1", "CDR2" и "CDR3", соответственно. CDR1, CDR2 и CDR3 полипептида легкой цепи могут способствовать связыванию или распознаванию антигена.

[00376] Антитело может содержать набор определяющих комплементарность областей ("CDR") тяжелой цепи и легкой цепи, соответственно расположенный между набором каркасов ("FR") тяжелой цепи и легкой цепи, который обеспечивает поддержку CDR и определяет пространственное расположение CDR относительно друг друга. Набор CDR может содержать три гипервариабельные области V области тяжелой или легкой цепи. Исходя из N-конца тяжелой или легкой цепи, эти области обозначают "CDR1", "CDR2" и "CDR3", соответственно. Антигенсвязывающий участок, следовательно, может содержать шесть CDR, включающих набор CDR из каждой V-области тяжелой и легкой цепи.

[00377] Антитело может представлять собой иммуноглобулин (Ig). Ig может представлять собой, например, IgA, IgM, IgD, IgE и IgG. Иммуноглобулин может содержать полипептид тяжелой цепи и полипептид легкой цепи. Полипептид тяжелой цепи иммуноглобулина может содержать VH область, CH1 область, шарнирный участок, CH2 область и CH3 область. Полипептид легкой цепи иммуноглобулина может содержать VL-область и CL-область.

[00378] Кроме того, протеолитический фермент папаин преимущественно расщепляет молекулы IgG с получением нескольких фрагментов, два из которых (фрагменты F(ab)) содержат по ковалентному гетеродимеру, содержащему интактный

антигенсвязывающий участок. Фермент пепсин способен расщеплять молекулы IgG с обеспечением нескольких фрагментов, в том числе фрагмента $F(ab')_2$, который содержит оба антигенсвязывающих участка. Соответственно, антитело может представлять собой Fab или $F(ab')_2$. Fab может содержать полипептид тяжелой цепи и полипептид легкой цепи. Полипептид тяжелой цепи Fab может содержать VH область и CH1 область. Легкая цепь Fab может содержать VL-область и CL-область.

[00379] Антитело может представлять собой поликлональное или моноклональное антитело. Антитело может представлять собой химерное антитело, одноцепочечное антитело, аффинно-зрелое антитело, человеческое антитело, гуманизированное антитело или полностью человеческое антитело. Гуманизированное антитело может представлять собой антитело, отличное от видов нечеловеческого происхождения, которое связывает необходимый антиген, обладающий одной или более определяющими комплементарность областями (CDR) из видов нечеловеческого происхождения и каркасными областями из молекулы иммуноглобулина человека.

(1) Антитело PD-1

[00380] Антитело к молекуле иммунной контрольной точки может представлять собой антитело к PD-1 (также называемое в данном документе "антитело PD-1"), его вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антитело PD-1 может представлять собой Ниволумаб (Nivolumab). Антитело к PD-1 способно ингибировать активность PD-1, тем самым индуцируя, вызывая или усиливая иммунный ответ на опухоль или рак и уменьшая развитие опухоли.

(2) Антитело PD-L1

[00381] Антитело к молекуле иммунной контрольной точки может представлять собой антитело к PD-L1 (также называемое в данном документе "антитело PD-L1"), его вариант, его фрагмент или их комбинацию. Антитело к PD-L1 способно ингибировать активность PD-L1, тем самым индуцируя, вызывая или усиливая иммунный ответ на опухоль или рак и уменьшая развитие опухоли.

4. Конструкции и плазмиды вакцины

[00382] Вакцина может содержать конструкции или плазмиды нуклеиновых кислот, которые кодируют описанные выше антигены и/или антитела. Конструкции или плазмиды нуклеиновых кислот могут включать или содержать одну или более гетерологичных нуклеотидных последовательностей. В данном документе предоставляются генетические конструкции, способные содержать

нуклеотидную последовательность, которая кодирует описанные выше антигены и/или антитела. Генетическая конструкция может присутствовать в клетке в виде функционирующей внехромосомной молекулы. Генетическая конструкция может представлять собой линейную мини-хромосому, в том числе центромеру, теломеру или плазмиды, или космиды. Генетические конструкции могут включать или содержать одну или более гетерологичных нуклеотидных последовательностей.

[00383] Генетические конструкции могут быть в виде плазмид, экспрессирующих описанные выше антигены и/или антитела в любом порядке.

[00384] Генетическая конструкция может также являться частью генома рекомбинантного вирусного вектора, в том числе рекомбинантного аденовируса, ассоциированного с рекомбинантным аденовирусом вируса и рекомбинантного вируса осповакцины. Генетическая конструкция может являться частью генетического материала в ослабленных живых микроорганизмах или рекомбинантных микробных векторах, которые живут в клетках.

[00385] Генетические конструкции могут содержать регуляторные элементы для экспрессии генов кодирующих последовательностей нуклеиновой кислоты. Регуляторные элементы могут представлять собой промотор, энхансер, иницирующий кодон, стоп-кодон или сигнал полиаденилирования.

[00386] Нуклеотидные последовательности могут составлять генетическую конструкцию, которая может представлять собой вектор. Вектор может быть способен экспрессировать описанные выше антигены и/или антитела в клетке млекопитающего в количестве, эффективном для того, чтобы вызывать иммунный ответ у млекопитающего. Вектор может быть рекомбинантным. Вектор может содержать гетерологичную нуклеиновую кислоту, кодирующую описанные выше антигены и/или антитела. Вектор может представлять собой плазмиду. Вектор может служить для трансфекции клеток с нуклеиновой кислотой, кодирующей описанные выше антигены и/или антитела, при этом культивируют трансформированную клетку-хозяина и выдерживают в условиях, при которых происходит экспрессия описанных выше антигенов и/или антител.

[00387] Кодирующие последовательности могут быть оптимизированы для стабильности и высоких уровней экспрессии. В некоторых случаях кодоны выбирают для уменьшения образования

вторичной структуры РНК, такой, которая образуется за счет внутримолекулярной связи.

[00388] Вектор может содержать гетерологичную нуклеиновую кислоту, кодирующую описанные выше антигены и/или антитела, и может дополнительно содержать иницирующий кодон, который может быть расположен против хода транскрипции от одной или более кодирующих раковый антиген последовательностей, а также стоп-кодон, который может быть расположен по ходу транскрипции от кодирующей последовательности (последовательностей) описанных выше антигенов и/или антител. Иницирующий и терминирующий кодон могут быть в рамке с кодирующей последовательностью (последовательностями) описанных выше антигенов и/или антител. Вектор может также содержать промотор, который функционально связан с кодирующей последовательностью (последовательностями) описанных выше антигенов и/или антител. Промотор, функционально связанный с кодирующей последовательностью (последовательностями) описанных выше антигенов и/или антител, может представлять собой промотор из вируса обезьян 40 (SV40), промотор вируса опухоли молочной железы мышей (MMTV), промотор вируса иммунодефицита человека (ВИЧ), такой как промотор длинного концевого повтора (LTR) вируса иммунодефицита крупного рогатого скота (BIV), промотор вируса Молони, промотор вируса лейкоза птиц (ALV), промотор цитомегаловируса (CMV), такой как предранний промотор CMV, промотор вируса Эпштейна-Барр (EBV) или промотор вируса саркомы Рауса (RSV). Промотор может также представлять собой промотор из гена человека, такой как человеческий актин, человеческий миозин, человеческий гемоглобин, человеческий мышечный креатин или человеческий металлотioneин. Промотор может также представлять собой тканеспецифический промотор, такой как мышечноспецифический или кожноспецифический промотор, натуральный или синтетический. Примеры таких промоторов описаны в публикации заявки на патент США № US20040175727, содержание которой включено в данный документ в полном объеме.

[00389] Вектор может также содержать сигнал полиаденилирования, который может быть расположен по ходу транскрипции от кодирующей последовательности (последовательностей) описанных выше антигенов и/или антител. Сигнал полиаденилирования может представлять собой сигнал полиаденилирования SV40, сигнал полиаденилирования LTR, сигнал

полиаденилирования гормона роста крупного рогатого скота (bGH), сигнал полиаденилирования гормона роста человека (hGH) или сигнал полиаденилирования β -глобина человека. Сигнал полиаденилирования SV40 может представлять собой сигнал полиаденилирования из вектора pCER4 (Invitrogen, Сан-Диего, штат Калифорния).

[00390] Вектор может также содержать энхансер против хода транскрипции от описанных выше антигенов и/или антител. Энхансер может быть необходим для экспрессии ДНК. Энхансер может представлять собой человеческий актин, человеческий миозин, человеческий гемоглобин, человеческий мышечный креатин или вирусный энхансер, такой как один из CMV, HA, RSV или EBV. Энхансеры функции полинуклеотидов описаны в патентах США №№ 5593972, 5962428 и W094/016737, содержание которых включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[00391] Вектор может также содержать точку начала репликации млекопитающих с целью поддержания внехромосомного вектора и получения ряда копий вектора в клетке. Вектор может представлять собой pVAX1, pCER4 или pREP4 от Invitrogen (Сан-Диего, штат Калифорния), который может содержать точку начала репликации вируса Эпштейна-Барр и кодирующую область ядерного антигена EBNA-1, которые могут приводить к получению многокопийной эписомной репликации без интеграции. Вектор может представлять собой pVAX1 или вариант pVax1 с изменениями, такой как вариант плазмиды, описанный в данном документе. Вариант плазмиды pVax1 представляет собой вариант с 2998 парами оснований остова плазмидного вектора pVAX1 (Invitrogen, Карлсбад, штат Калифорния). Промотор CMV расположен в основаниях 137-724. Промоторный/примирующий участок T7 расположен в основаниях 664-683. Ряд сайтов встраивания расположен в основаниях 696-811. Сигнал полиаденилирования GH крупного рогатого скота расположен в основаниях 829-1053. Ген устойчивости к канамицину расположен в основаниях 1226-2020. Точка начала репликации pUC расположена в основаниях 2320-2993.

[00392] Судя по последовательности pVAX1, доступного от Invitrogen, следующие мутации были обнаружены в последовательности pVAX1, который использовали в качестве остова для плазмид 1-6, приведенных в данном документе:

[00393] C>G241 в промоторе CMV

[00394] C>T1942 остов, по ходу транскрипции от сигнала полиаденилирования гормона роста крупного рогатого скота (bGHpolyA)

[00395] A> - 2876 остов, по ходу транскрипции от гена канамицина

[00396] C>T 3277 многокопийность мутаций (смотри Nucleic Acid Research 1985) в точке начала репликации pUC (Ori)

[00397] G>C 3753 в самом конце pUC Ori против хода транскрипции от участка РНКазы Н

[00398] Пары оснований 2, 3 и 4 изменяются от АСТ до СТГ в остове, против хода транскрипции от промотора CMV.

[00399] Остов вектора может представлять собой pAV0242. Вектор может представлять собой вектор аденовируса типа 5 (Ad5) с дефектной репликацией.

[00400] Вектор может также содержать регуляторную последовательность, которая может хорошо подходить для экспрессии генов в клетках млекопитающих или человека, в которые вводят вектор. Одна или более последовательностей раковых антигенов, описанных в данном документе, может содержать кодон, который может обеспечивать возможность более эффективной транскрипции кодирующей последовательности в клетке-хозяине.

[00401] Вектор может представлять собой pSE420 (Invitrogen, Сан-Диего, штат Калифорния), который может быть использован для получения белка в *Escherichia coli* (*E. coli*). Вектор может также представлять собой pYES2 (Invitrogen, Сан-Диего, штат Калифорния), который может быть использован для получения белка в штаммах *Saccharomyces cerevisiae* дрожжей. Вектор также может быть из полной бакуловирусной системы экспрессии МАХВАС™ (Invitrogen, Сан-Диего, штат Калифорния), которая может быть использована для получения белка в клетках насекомых. Вектор также может представлять собой плазмидную ДНК pсDNA I или pсDNA3 (Invitrogen, Сан-Диего, штат Калифорния), которая может быть использована для получения белка в клетках млекопитающих, таких как овариальные клетки китайского хомячка (CHO). Вектор может представлять собой экспрессионные векторы или системы для получения белка с помощью обычных методик и легкодоступных исходных материалов, в том числе публикации Sambrook et al., *Molecular Cloning and Laboratory Manual, Second Ed.*, Cold Spring Harbor (1989), которая включена в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[00402] В некоторых вариантах реализации изобретения вектор может содержать одну или более нуклеотидных последовательностей SEQ ID №№: 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 и/или 17.

5. Фармацевтические композиции вакцины

[00403] Вакцина может быть в виде фармацевтической композиции. Фармацевтическая композиция может содержать вакцину. Фармацевтические композиции могут содержать от около 5 нанограмм до около 10 мг ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции в соответствии с настоящим изобретением содержат от около 25 нанограмм до около 5 мг ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 50 нанограмм до около 1 мг ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 0,1 до около 500 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 1 до около 350 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 5 до около 250 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 10 до около 200 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 15 до около 150 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 20 до около 100 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 25 до около 75 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 30 до около 50 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 35 до около 40 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 100 до около 200 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 10 микрограмм до около 100 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 20 микрограмм до около 80 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения

фармацевтические композиции содержат от около 25 микрограмм до около 60 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 30 нанограмм до около 50 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 35 нанограмм до около 45 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых предпочтительных вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 0,1 до около 500 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых предпочтительных вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 1 до около 350 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых предпочтительных вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 25 до около 250 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых предпочтительных вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции содержат от около 100 до около 200 микрограмм ДНК вакцины.

[00404] В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции в соответствии с настоящим изобретением содержат по меньшей мере 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 нанограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтические композиции могут содержать по меньшей мере 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 205, 210, 215, 220, 225, 230, 235, 240, 245, 250, 255, 260, 265, 270, 275, 280, 285, 290, 295, 300, 305, 310, 315, 320, 325, 330, 335, 340, 345, 350, 355, 360, 365, 370, 375, 380, 385, 390, 395, 400, 405, 410, 415, 420, 425, 430, 435, 440, 445, 450, 455, 460, 465, 470, 475, 480, 485, 490, 495, 500, 605, 610, 615, 620, 625, 630, 635, 640, 645, 650, 655, 660, 665, 670, 675, 680, 685, 690, 695, 700, 705, 710, 715, 720, 725, 730, 735, 740, 745, 750, 755, 760, 765, 770, 775, 780, 785, 790, 795, 800, 805, 810, 815, 820, 825, 830, 835, 840, 845, 850, 855, 860, 865, 870, 875, 880, 885, 890, 895, 900, 905, 910, 915, 920, 925, 930, 935, 940, 945, 950, 955, 960, 965, 970, 975, 980, 985, 990, 995 или 1000 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция может содержать по меньшей мере 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 или 10 мг, или более ДНК вакцины.

[00405] В других вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция может содержать вплоть до 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 или 100 наногрaмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция может содержать вплоть до 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 105, 110, 115, 120, 125, 130, 135, 140, 145, 150, 155, 160, 165, 170, 175, 180, 185, 190, 195, 200, 205, 210, 215, 220, 225, 230, 235, 240, 245, 250, 255, 260, 265, 270, 275, 280, 285, 290, 295, 300, 305, 310, 315, 320, 325, 330, 335, 340, 345, 350, 355, 360, 365, 370, 375, 380, 385, 390, 395, 400, 405, 410, 415, 420, 425, 430, 435, 440, 445, 450, 455, 460, 465, 470, 475, 480, 485, 490, 495, 500, 605, 610, 615, 620, 625, 630, 635, 640, 645, 650, 655, 660, 665, 670, 675, 680, 685, 690, 695, 700, 705, 710, 715, 720, 725, 730, 735, 740, 745, 750, 755, 760, 765, 770, 775, 780, 785, 790, 795, 800, 805, 810, 815, 820, 825, 830, 835, 840, 845, 850, 855, 860, 865, 870, 875, 880, 885, 890, 895, 900, 905, 910, 915, 920, 925, 930, 935, 940, 945, 950, 955, 960, 965, 970, 975, 980, 985, 990, 995 или 1000 микрограмм ДНК вакцины. В некоторых вариантах реализации изобретения фармацевтическая композиция может содержать вплоть до 1,5, 2, 2,5, 3, 3,5, 4, 4,5, 5, 5,5, 6, 6,5, 7, 7,5, 8, 8,5, 9, 9,5 или 10 мг ДНК вакцины.

[00406] Фармацевтическая композиция может дополнительно содержать другие агенты для лекарственных форм в соответствии со способом введения, который будет использоваться. В случаях, когда фармацевтические композиции представляют собой инъекционные фармацевтические композиции, они являются стерильными, апирогенными и не содержат примесных частиц. Предпочтительно используют изотоническую лекарственную форму. Как правило, добавки для изотоничности могут включать хлорид натрия, декстрозу, маннитол, сорбитол и лактозу. В некоторых случаях предпочтительными являются изотонические растворы, такие как фосфатно-солевой буферный раствор. Стабилизаторы включают желатин и альбумин. В некоторых вариантах реализации изобретения в композицию добавляют сосудосуживающее средство.

[00407] Вакцина может дополнительно содержать фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество. Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество может представлять собой функциональные молекулы, такие как

наполнители, адъюванты, носители или разбавители. Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество может представлять собой облегчающий трансфекцию агент, который может включать поверхностно-активные вещества, такие как иммуностимулирующие комплексы (ISCOMS), неполный адъювант Фрейнда, аналог ЛПС, в том числе монофосфорил липид А, мурамилпептиды, аналоги хинона, везикулы, такие как сквалан и сквален, гиалуроновая кислота, липиды, липосомы, ионы кальция, вирусные белки, полианионы, поликатионы или наночастицы, или другие известные облегчающие трансфекцию агенты.

[00408] Облегчающими трансфекцию агентами являются полианион, поликатион, в том числе поли-L-глутамат (ЛГС), или липид. Облегчающий трансфекцию агент представляет собой поли-L-глутамат, и более предпочтительно, чтобы поли-L-глутамат присутствовал в вакцине в концентрации, составляющей менее 6 мг/мл. В сочетании с генетической конструкцией можно также вводить облегчающий трансфекцию агент, который может также включать поверхностно-активные вещества, такие как иммуностимулирующие комплексы (ISCOMS), неполный адъювант Фрейнда, аналог ЛПС, в том числе монофосфорил липид А, мурамилпептиды, аналоги хинона и везикулы, такие как сквалан и сквален, а также гиалуроновая кислота. В некоторых вариантах реализации изобретения ДНК-векторные вакцины могут также содержать облегчающий трансфекцию агент, такой как липиды, липосомы, в том числе липосомы на основе лецитина или другие липосомы, известные в данной области техники, такие как ДНК-липосомная смесь (смотри, например, W09324640), ионы кальция, вирусные белки, полианионы, поликатионы или наночастицы, или другие известные облегчающие трансфекцию агенты. Предпочтительно, облегчающий трансфекцию агент представляет собой полианион, поликатион, в том числе поли-L-глутамат (ЛГС), или липид. Концентрация трансфекционного агента в вакцине составляет менее 4 мг/мл, менее 2 мг/мл, менее 1 мг/мл, менее 0,750 мг/мл, менее 0,500 мг/мл, менее 0,250 мг/мл, менее 0,100 мг/мл, менее 0,050 мг/мл или менее 0,010 мг/мл.

[00409] Фармацевтически приемлемое вспомогательное вещество может представлять собой адъювант. Адъювант может представлять собой другие гены, которые экспрессируются в альтернативной плазмиде или доставляются в виде белков в комбинации с упомянутой выше плазмидой в вакцине. Адъювант может быть выбран

из группы, состоящей из: интерферона α (IFN- α), интерферона β (IFN- β), интерферона γ , тромбоцитарного фактора роста (PDGF), TNF α , TNF β , GM-CSF, эпидермального фактора роста (EGF), привлекающего Т-лимфоциты кожи хемокина (СТАСК), эпителиального экспрессируемого в вилочковой железе хемокина (ТЕСК), ассоциированного со слизистыми оболочками эпителиального хемокина (МЕС), IL-12, IL-15, МНС, CD80, CD86, в том числе IL-15 с удаленной сигнальной последовательностью и, необязательно, с сигнальным пептидом из IgE. Адъювант может представлять собой IL-12, IL-15, IL-28, СТАСК, ТЕСК, тромбоцитарный фактор роста (PDGF), TNF α , TNF β , GM-CSF, эпидермальный фактор роста (EGF), IL-1, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12, IL-18 или их комбинацию. В типовом варианте реализации изобретения адъювант представляет собой IL-12.

[00410] Другие гены, которые могут служить адъювантами, включают гены, кодирующие: MCP-1, MIP-1a, MIP-1p, IL-8, RANTES, L-селектин, P-селектин, E-селектин, CD34, GlyCAM-1, MadCAM-1, LFA-1, VLA-1, Mac-1, p150.95, PECAM, ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, CD2, LFA-3, M-CSF, G-CSF, IL-4, мутантные формы IL-18, CD40, CD40L, сосудистый фактор роста, фактор роста фибробластов, IL-7, фактор роста нервов, фактор роста эндотелия сосудов, Fas, рецептор TNF, Flt, Apo-1, p55, WSL-1, DR3, TRAMP, Apo-3, AIR, LARD, NGRF, DR4, DR5, KILLER, TRAIL-R2, TRICK2, DR6, каспазу ICE, Fos, c-jun, Sp-1, Ap-1, Ap-2, p38, p65Rel, MyD88, IRAK, TRAF6, I κ B, неактивную NIK, SAP K, SAP-1, JNK, реагирующие на интерферон гены, NF κ B, Вах, TRAIL, TRAILrec, TRAILrecDRC5, TRAIL-R3, TRAIL-R4, RANK, RANK ЛИГАНД, O \times 40, O \times 40 ЛИГАНД, NKG2D, MICA, MICB, NKG2A, NKG2B, NKG2C, NKG2E, NKG2F, TAP1, TAP2 и их функциональные фрагменты.

6. Комбинированные вакцины для лечения определенных видов рака

[00411] Вакцина может быть в виде различных комбинаций раковых антигенов, которые описаны выше, для лечения определенных видов рака или опухолей. В зависимости от комбинации одного или более раковых антигенов вакцина может воздействовать на различные виды рака или другие типы опухолей. Эти виды рака могут включать меланому, рак крови (например, лейкоз, лимфома, миелома), карциномы легких, плоскоклеточные карциномы пищевода, рак мочевого пузыря, рак ободочной и прямой кишки, рак пищевода, желудочно-кишечного тракта,

гепатокарциному, рак головы и шеи, мозга, рак анального канала, немелкоклеточную карциному легкого, рак поджелудочной железы, синовиальную карциному, рак предстательной железы, рак яичка, рак печени, рак шейки матки, рецидивирующий респираторный папилломатоз, рак кожи и рак желудка. Фигура 15 иллюстрирует примеры определенных комбинаций антигенов, которые могут быть использованы для лечения определенных видов рака.

Меланома

[00412] Вакцина может комбинировать один или более раковых антигенов, таких как тирозиназа, PRAME или gp100-Trp2 для лечения или профилактики меланомы (смотри Фигуру 15). Вакцина может дополнительно комбинировать один или более раковых антигенов – тирозиназу, PRAME или gp100-Trp2 с любым одним или более раковыми антигенами hTERT, NY-ESO-1, MAGE-A1 или WT1 для лечения или профилактики меланомы. Для лечения или профилактики меланомы также могут быть применены другие комбинации раковых антигенов.

Рак головы и шеи

[00413] Вакцина может содержать раковый антиген HPV 16 E6/E7 для лечения или профилактики рака головы и шеи (смотри Фигуру 15). Вакцина может дополнительно комбинировать раковый антиген HPV 16 E6/E7 с любым одним или более раковыми антигенами hTERT, NY-ESO-1, MAGE-A1 или WT1 для лечения или профилактики рака головы и шеи. Для лечения или профилактики рака головы и шеи также могут быть применены другие комбинации раковых антигенов.

Рецидивирующий респираторный папилломатоз/рак анального канала

[00414] Вакцина может комбинировать один или более раковых антигенов, таких как HPV 6, HPV11 или HPV 16 для лечения или профилактики рецидивирующего респираторного папилломатоза или рака анального канала (смотри Фигуру 15). Вакцина может дополнительно комбинировать один или более раковых антигенов HPV 6, HPV11 или HPV16 с одним или более раковыми антигенами hTERT, NY-ESO-1, MAGE-A1 или WT1 для лечения или профилактики рецидивирующего респираторного папилломатоза или рака анального канала. Для лечения или профилактики рецидивирующего респираторного папилломатоза или рака анального канала также могут быть применены другие комбинации раковых антигенов.

Рак шейки матки

[00415] Вакцина может комбинировать один или более раковых антигенов, таких как HPV 16 E6/E7 или HPV 18 E6/E7 для лечения или профилактики рака шейки матки (смотри Фигуру 15). Вакцина может дополнительно комбинировать один или более раковых антигенов, таких как HPV 16 E6/E7 или HPV 18 E6/E7 с одним или более раковыми антигенами hTERT, NY-ESO-1, MAGE-A1 или WT1 для лечения или профилактики рака шейки матки. Для лечения или профилактики рака шейки матки также могут быть применены другие комбинации раковых антигенов.

Рак печени

[00416] Вакцина может комбинировать один или более раковых антигенов, таких как коровый антиген HBV, поверхностный антиген HBV, HCVNS34A, HCVNS5A, HCV NS5B или HCVNS4B для лечения или профилактики рака печени (смотри Фигуру 15). Вакцина может дополнительно комбинировать один или более раковых антигенов, таких как коровый антиген HBV, поверхностный антиген HBV, HCVNS34A, HCVNS5A, HCV NS5B или HCVNS4B с одним или более раковыми антигенами hTERT, NY-ESO-1, MAGE-A1 или WT1 для лечения или профилактики рака печени. Для лечения или профилактики рака печени также могут быть применены другие комбинации раковых антигенов.

Глиобластома

[00417] Вакцина может содержать CMV для лечения или профилактики глиобластомы (смотри Фигуру 15). Вакцина может дополнительно комбинировать CMV с одним или более раковыми антигенами hTERT, NY-ESO-1, MAGE-A1 или WT1 для лечения или профилактики глиобластомы. Для лечения или профилактики глиобластомы также могут быть применены другие комбинации раковых антигенов.

Рак предстательной железы

[00418] Вакцина может комбинировать один или более раковых антигенов, таких как PSA, PSMA или STEAP для лечения или профилактики рака предстательной железы (смотри Фигуру 15). Вакцина может дополнительно комбинировать один или более раковых антигенов PSA, PSMA или STEAP с одним или более раковыми антигенами hTERT, NY-ESO-1, MAGE-A1 или WT1 для лечения или профилактики рака предстательной железы. Для лечения или профилактики рака предстательной железы также могут быть применены другие комбинации раковых антигенов.

Рак крови (например, лейкоз, лимфома, миелома)

[00419] Вакцина может комбинировать один или более раковых антигенов, таких как PRAME, WT-1, hTERT для лечения или профилактики рака крови, такого как лейкоз, лимфома и миелома (смотри Фигуру 51). Вакцина может дополнительно комбинировать один или более раковых антигенов PRAME, WT-1, hTERT с одним или более раковыми антигенами NY-ESO-1 или MAGE-A1 для лечения или профилактики рака крови, такого как лейкоз, лимфома и миелома. Для лечения или профилактики рака крови, такого как лейкоз, лимфома и миелома, также могут быть применены другие комбинации раковых антигенов.

7. Способ вакцинации

[00420] Предоставляется способ лечения или профилактики рака с использованием фармацевтических композиций для обеспечения генетических конструкций и белков одного или более раковых антигенов, описанных выше, которые содержат эпитопы, делающие их особенно эффективными иммуногенами, против которых может индуцироваться иммунный ответ на один или более раковых антигенов. Способ введения вакцины, или вакцинация, может быть предоставлен для того, чтобы индуцировать терапевтический и/или профилактический иммунный ответ. Процесс вакцинации может вызывать у млекопитающего иммунный ответ на один или более раковых антигенов, описанных в данном документе. Вакцина может быть введена индивидууму для модуляции активности иммунной системы млекопитающего и усиления иммунного ответа. Введение вакцины может представлять собой трансфекцию одного или более раковых антигенов, описанных в данном документе, в виде молекулы нуклеиновой кислоты, которая экспрессируется в клетке и, таким образом, доставляется на поверхность клетки, после чего иммунная система распознает и индуцирует клеточный, гуморальный или клеточный и гуморальный ответ. Введение вакцины может быть использовано для того, чтобы индуцировать или вызвать иммунный ответ у млекопитающих на один или более раковых антигенов, описанных в данном документе, посредством введения млекопитающим вакцины, описанной в данном документе.

[00421] После введения вакцины млекопитающему и вслед за этим вектора в клетки млекопитающего, трансфицированные клетки будут экспрессировать и секретировать один или более раковых антигенов, описанных в данном документе. Эти секретлируемые белки, или синтетические антигены, будут распознаваться как чужеродные иммунной системой, которая будет устанавливать

иммунный ответ, который может включать: антитела к одному или более раковым антигенам и Т-клеточный ответ специально на один или более раковых антигенов. В некоторых примерах млекопитающее, вакцинированное вакцинами, описанными в данном документе, будет иметь примированную иммунную систему и при стимуляции одним или более раковыми антигенами, описанными в данном документе, примированная иммунная система обеспечит возможность быстрой очистки дополнительных раковых антигенов, описанных в данном документе, либо посредством гуморального, клеточного, либо как клеточного, так и гуморального иммунных ответов. Вакцина может быть введена индивидууму для модуляции активности иммунной системы индивидуума, тем самым усиливая иммунный ответ.

[00422] Способы введения ДНК вакцины описаны в патентах США №№ 4945050 и 5036006, оба из которых включены в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[00423] Вакцина может быть введена млекопитающему для того, чтобы вызвать иммунный ответ у млекопитающего. Млекопитающее может представлять собой человека, нечеловекообразного примата, корову, свинью, овцу, козу, антилопу, бизона, буйвола, полорогих, оленей, ежей, слонов, ламу, альпаку, мышей, крыс или цыпленка, и предпочтительно - человека, корову, свинью или цыпленка.

[00424] Доза вакцины может составлять в пределах от 1 мкг до 10 мг активного компонента/кг массы тела/время и может составлять от 20 мкг до 10 мг компонента/кг массы тела/время. Вакцину можно вводить каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 или 31 день. Количество доз вакцины для эффективного лечения может составлять 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более доз.

Способ создания иммунного ответа с помощью вакцины

[00425] Вакцина может быть использована для создания иммунного ответа у млекопитающего, в том числе терапевтического или профилактического иммунного ответа. Иммунный ответ может создавать антитела и/или Т-клетки-киллеры, которые направлены на один или более раковых антигенов, описанных в данном документе. Такие антитела и Т-клетки могут быть выделены.

[00426] Некоторые варианты реализации изобретения предоставляют способы создания иммунных ответов на один или более раковых антигенов, описанных в данном документе, которые

включают введение индивидууму вакцины. Некоторые варианты реализации изобретения предоставляют способы профилактической вакцинации индивидуума против рака или опухоли, экспрессирующих один или более раковых антигенов, описанных выше, которые включают введение вакцины. Некоторые варианты реализации изобретения предоставляют способы терапевтической вакцинации индивидуума, страдающего от рака или опухоли, экспрессирующих один или более раковых антигенов, которые включают введение вакцины. Диагностика рака или опухоли, экспрессирующих один или более раковых антигенов, описанных в данном документе, может быть выполнена в установленном порядке до введения вакцины.

Способ лечения рака с помощью вакцины

[00427] Вакцина может быть использована для того, чтобы создавать или вызывать у млекопитающего иммунный ответ, который реагирует или направлен на рак или опухоль (например, меланому, рак головы и шеи, шейки матки, печени, предстательной железы, рак крови, плоскоклеточный рак пищевода, рак желудочно-кишечного тракта) млекопитающего или субъекта, нуждающегося в этом. Вызванный иммунный ответ может предотвращать рак или развитие опухоли.

[00428] Вызванный иммунный ответ может предотвращать и/или уменьшать метастазирование раковых или опухолевых клеток. Соответственно, вакцина может быть использована в способе, который лечит и/или предотвращает рак или опухоли у млекопитающего или субъекта, которым вводят вакцину. В зависимости от антигена, используемого в вакцине, рост на основе подлежащего лечению рака или опухоли может представлять собой любой тип рака, такой как, без ограничения ими, меланома, рак крови (например, лейкоз, лимфома, миелома), карциномы легкого, плоскоклеточные карциномы пищевода, рак мочевого пузыря, рак ободочной и прямой кишки, рак пищевода, рак желудочно-кишечного тракта, гепатокарцинома, рак головы и шеи, головного мозга, рак анального канала, немелкоклеточная карцинома легкого, рак поджелудочной железы, синовиальная карцинома, рак предстательной железы, рак яичка, рак печени, рак шейки матки, рецидивирующий респираторный папилломатоз, рак кожи и рак желудка.

[00429] В некоторых вариантах реализации изобретения вакцина может опосредовать клиренс или предотвращать развитие опухолевых клеток посредством индукции (1) гуморального иммунитета за счет ответов В-клеток с получением антител,

которые блокируют образование моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1), тем самым замедляя супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC) и подавляя развитие опухоли; (2) увеличения цитотоксических Т-лимфоцитов, таких как CD8⁺ (CTL), чтобы атаковать и убивать опухолевые клетки; (3) увеличения ответов клеток Т-хелперов; (4) и увеличения воспалительных реакций за счет IFN- γ и TNF- α , или предпочтительно всего из упомянутого выше.

[00430] В некоторых вариантах реализации изобретения иммунный ответ может создавать гуморальный иммунный ответ и/или ответ антиген-специфических цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL), который не вызывает повреждений или воспаления различных тканей или систем (например, головного мозга или нервной системы и т.д.) у субъекта, которому вводят вакцину.

[00431] В некоторых вариантах реализации изобретения вводимая вакцина может увеличивать безопухолевую выживаемость, уменьшать опухолевое образование, увеличивать выживаемость опухоли или приводить к комбинации этого у субъекта. Вводимая вакцина может увеличивать безопухолевую выживаемость на 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59% и 60% у субъекта. Вводимая вакцина может уменьшать опухолевое образование на 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69% и 70% у субъекта после иммунизации. Вводимая вакцина может предотвращать и блокировать рост моноцитарного хемоаттрактантного белка 1 (MCP-1), цитокина, секретируемого супрессорными клетками миелоидного происхождения, у субъекта. В некоторых вариантах реализации изобретения вводимая вакцина может предотвращать и блокировать рост MCP-1 в раковой или опухолевой ткани у субъекта, тем самым снижая васкуляризацию раковой или опухолевой ткани у субъекта.

[00432] Вводимая вакцина может увеличивать выживаемость опухоли на 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%,

69% и 70% у субъекта. В некоторых вариантах реализации изобретения вакцина может быть введена в периферию (как более подробно описано ниже) с целью установления антиген-специфического иммунного ответа, направленного на раковые или опухолевые клетки или ткани, для очистки или устранения рака или опухоли, экспрессирующих один или более раковых антигенов, не повреждая и не вызывая заболевание или смерть у субъекта, которому вводят вакцину.

[00433] Вводимая вакцина может повышать клеточный иммунный ответ у субъекта до от около 50-кратного до около 6000-кратного, от около 50-кратного до около 5500-кратного, от около 50-кратного до около 5000-кратного, от около 50-кратного до около 4500-кратного, от около 100-кратного до около 6000-кратного, от около 150-кратного до около 6000-кратного, от около 200-кратного до около 6000-кратного, от около 250-кратного до около 6000-кратного или от около 300-кратного до около 6000-кратного размера. В некоторых вариантах реализации изобретения вводимая вакцина может увеличивать клеточный иммунный ответ у субъекта почти в около 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900, 3000, 3100, 3200, 3300, 3400, 3500, 3600, 3700, 3800, 3900, 4000, 4100, 4200, 4300, 4400, 4500, 4600, 4700, 4800, 4900, 5000, 5100, 5200, 5300, 5400, 5500, 5600, 5700, 5800, 5900 или 6000 раз.

[00434] Вводимая вакцина может повышать уровни гамма-интерферона (IFN- γ) у субъекта до от около 50-кратного до около 6000-кратного, от около 50-кратного до около 5500-кратного, от около 50-кратного до около 5000-кратного, от около 50-кратного до около 4500-кратного, от около 100-кратного до около 6000-кратного, от около 150-кратного до около 6000-кратного, от около 200-кратного до около 6000-кратного, от около 250-кратного до около 6000-кратного или от около 300-кратного до около 6000-кратного размера. В некоторых вариантах реализации изобретения вводимая вакцина может увеличивать уровни IFN- γ у субъекта почти в около 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950, 1000, 1100, 1200, 1300, 1400, 1500, 1600, 1700, 1800, 1900, 2000, 2100, 2200, 2300, 2400, 2500, 2600, 2700, 2800, 2900, 3000, 3100, 3200, 3300, 3400, 3500, 3600, 3700, 3800, 3900, 4000, 4100, 4200, 4300,

4400, 4500, 4600, 4700, 4800, 4900, 5000, 5100, 5200, 5300, 5400, 5500, 5600, 5700, 5800, 5900 или 6000 раз.

[00435] Доза вакцины может составлять в пределах от 1 мкг до 10 мг активного компонента/кг массы тела/время и может составлять от 20 мкг до 10 мг компонента/кг массы тела/время. Вакцину можно вводить каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 или 31 день. Количество доз вакцины для эффективного лечения может составлять 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

(1) Комбинированная терапия с применением антител PD-1 и/или PD-L1

[00436] Настоящее изобретение также относится к способу повышения иммунного ответа у млекопитающего с помощью вакцины, описанной выше. Вакцина, описанная выше, может содержать раковый антиген, а также антитело PD1 и/или антитело PDL1, описанные выше. Комбинация может представлять собой единую композицию или может быть отдельной и вводиться по очереди (либо сначала раковый антиген, а затем антитело PD1 или антитело PDL1, либо сначала антитело PD1 или антитело PDL1, а затем раковый антиген). В некоторых вариантах реализации изобретения раковый антиген может быть введен субъекту за около 30 секунд, 1 минуту, 2 минуты, 3 минуты, 4 минуты, 5 минут, 10 минут, 15 минут, 20 минут, 25 минут, 30 минут, 35 минут, 40 минут, 45 минут, 50 минут, 55 минут, 60 минут, 0,25 часа, 0,5 часа, 0,75 часа, 1 час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 7 часов, 8 часов, 9 часов, 10 часов, 11 часов, 12 часов, 13 часов, 14 часов, 15 часов, 16 часов, 17 часов, 18 часов, 19 часов, 20 часов, 21 час, 22 часа, 23 часа, 24 часа, 36 часов, 48 часов, 60 часов, 72 часа, 84 часа, 96 часов, 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней, 9 дней, 10 дней, 11 дней, 12 дней, 13 дней, 14 дней, 15 дней, 16 дней, 17 дней, 18 дней, 19 дней, 20 дней, 21 день, 22 дня, 23 дня, 24 дня, 25 дней, 26 дней, 27 дней, 28 дней, 29 дней, 30 дней, 31 день, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель или 8 недель до введения субъекту антитела PD-1 или антитела PD-L1. В других вариантах реализации изобретения антитело PD-1 или антитело PD-L1 может быть введено субъекту за около 30 секунд, 1 минуту, 2 минуты, 3 минуты, 4 минуты, 5 минут, 10 минут, 15 минут, 20 минут, 25 минут, 30 минут, 35 минут, 40 минут, 45 минут, 50 минут, 55 минут, 60 минут, 0,25 часа, 0,5 часа, 0,75 часа, 1

час, 2 часа, 3 часа, 4 часа, 5 часов, 6 часов, 7 часов, 8 часов, 9 часов, 10 часов, 11 часов, 12 часов, 13 часов, 14 часов, 15 часов, 16 часов, 17 часов, 18 часов, 19 часов, 20 часов, 21 час, 22 часа, 23 часа, 24 часа, 36 часов, 48 часов, 60 часов, 72 часа, 84 часа, 96 часов, 1 день, 2 дня, 3 дня, 4 дня, 5 дней, 6 дней, 7 дней, 8 дней, 9 дней, 10 дней, 11 дней, 12 дней, 13 дней, 14 дней, 15 дней, 16 дней, 17 дней, 18 дней, 19 дней, 20 дней, 21 день, 22 дня, 23 дня, 24 дня, 25 дней, 26 дней, 27 дней, 28 дней, 29 дней, 30 дней, 31 день, 1 неделю, 2 недели, 3 недели, 4 недели, 5 недель, 6 недель, 7 недель или 8 недель до введения субъекту ракового антигена.

[00437] Комбинация ракового антигена и антитела PD1 или антитела PDL1 индуцирует иммунную систему более эффективно, чем вакцина, содержащая только раковый антиген. Этот более эффективный иммунный ответ обеспечивает повышенную эффективность в лечении и/или профилактике определенного рака. В зависимости от используемого в вакцине антигена в комбинации с антителом PDL1 или антителом PD1, рост на основе подлежащего лечению рака или опухоли может представлять собой любой тип рака, такой как, без ограничения ими, меланома, рак крови (например, лейкоз, лимфома, миелома), карциномы легкого, плоскоклеточные карциномы пищевода, рак мочевого пузыря, рак ободочной и прямой кишки, рак пищевода, рак желудочно-кишечного тракта, гепатокарцинома, рак головы и шеи, головного мозга, рак анального канала, немелкоклеточная карцинома легкого, рак поджелудочной железы, синовиальная карцинома, рак предстательной железы, рак яичка, рак печени, рак шейки матки, рецидивирующий респираторный папилломатоз, рак кожи и рак желудка.

[00438] В некоторых вариантах реализации изобретения иммунный ответ может быть повышен до от около 0,5-кратного до около 15-кратного, от около 0,5-кратного до около 10-кратного или от около 0,5-кратного до 8-кратного размера. В альтернативном варианте иммунный ответ у субъекта, которому вводят вакцину, может быть повышен по меньшей мере в около 0,5 раза, по меньшей мере в около 1,0 раз, по меньшей мере в около 1,5 раза, по меньшей мере в около 2,0 раз, по меньшей мере в около 2,5 раз, по меньшей мере в около 3,0 раз, по меньшей мере в около 3,5 раз, по меньшей мере в около 4,0 раз, по меньшей мере в около 4,5 раз, по меньшей мере в около 5,0 раз, по меньшей мере в около 5,5 раз, по меньшей мере в около 6,0

раз, по меньшей мере в около 6,5 раз, по меньшей мере в около 7,0 раз, по меньшей мере в около 7,5 раз, по меньшей мере в около 8,0 раз, по меньшей мере в около 8,5 раз, по меньшей мере в около 9,0 раз, по меньшей мере в около 9,5 раз, по меньшей мере в около 10,0 раз, по меньшей мере в около 10,5 раз, по меньшей мере в около 11,0 раз, по меньшей мере в около 11,5 раз, по меньшей мере в около 12,0 раз, по меньшей мере в около 12,5 раз, по меньшей мере в около 13,0 раз, по меньшей мере в около 13,5 раз, по меньшей мере в около 14,0 раз, по меньшей мере в около 14,5 раз или по меньшей мере в около 15,0 раз.

[00439] В других альтернативных вариантах реализации изобретения иммунный ответ у субъекта, которому вводят вакцину, может быть повышен на от около 50% до около 1500%, от около 50% до около 1000% или от около 50% до около 800%. В других вариантах реализации изобретения иммунный ответ у субъекта, которому вводят вакцину, может быть повышен по меньшей мере на около 50%, по меньшей мере на около 100%, по меньшей мере на около 150%, по меньшей мере на около 200%, по меньшей мере на около 250%, по меньшей мере на около 300%, по меньшей мере на около 350%, по меньшей мере на около 400%, по меньшей мере на около 450%, по меньшей мере на около 500%, по меньшей мере на около 550%, по меньшей мере на около 600%, по меньшей мере на около 650%, по меньшей мере на около 700%, по меньшей мере на около 750%, по меньшей мере на около 800%, по меньшей мере на около 850%, по меньшей мере на около 900%, по меньшей мере на около 950%, по меньшей мере на около 1000%, по меньшей мере на около 1050%, по меньшей мере на около 1100%, по меньшей мере на около 1150%, по меньшей мере на около 1200%, по меньшей мере на около 1250%, по меньшей мере на около 1300%, по меньшей мере на около 1350%, по меньшей мере на около 1450% или по меньшей мере на около 1500%.

[00440] Доза вакцины может составлять в пределах от 1 мкг до 10 мг активного компонента/кг массы тела/время и может составлять от 20 мкг до 10 мг компонента/кг массы тела/время. Вакцину можно вводить каждые 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30 или 31 день. Количество доз вакцины для эффективного лечения может составлять 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10.

(2) Меланома

[00441] Вакцина может быть использована для того, чтобы создавать или вызывать у млекопитающего иммунный ответ, который реагирует или направлен на меланому у млекопитающего или субъекта, нуждающегося в этом. Вызванный иммунный ответ может предотвращать развитие меланомы. Вызванный иммунный ответ может уменьшать развитие меланомы. Вызванный иммунный ответ может предотвращать и/или уменьшать метастазирование раковых или опухолевых клеток меланомы. Соответственно, вакцина может быть использована в способе, который лечит и/или предотвращает меланому у млекопитающего или субъекта, которым вводят вакцину.

[00442] В некоторых вариантах реализации изобретения вводимая вакцина может опосредовать клиренс или предотвращать развитие клеток меланомы посредством индукции (1) гуморального иммунитета за счет ответов В-клеток с получением антител, которые блокируют образование моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 (MCP-1), тем самым замедляя супрессорные клетки миелоидного происхождения (MDSC) и подавляя развитие меланомы; (2) увеличения цитотоксических Т-лимфоцитов, таких как CD8⁺ (CTL), чтобы атаковать и убивать клетки меланомы; (3) увеличения ответов клеток Т-хелперов; (4) и увеличения воспалительных реакций за счет IFN- γ и TNF- α , или предпочтительно всего из упомянутого выше.

[00443] В некоторых вариантах реализации изобретения вводимая вакцина может увеличивать выживаемость без меланомы, уменьшать меланомное образование, увеличивать выживаемость меланомы или приводить к комбинации этого у субъекта. Вводимая вакцина может увеличивать выживаемость без меланомы на 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44% и 45% у субъекта. Вводимая вакцина может уменьшать меланомное образование на 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59% и 60% у субъекта после иммунизации. Вводимая вакцина может предотвращать и блокировать рост моноцитарного хемоаттрактантного белка 1 (MCP-1), цитокина, секретируемого супрессорными клетками миелоидного происхождения, у субъекта. В некоторых вариантах реализации изобретения вводимая вакцина может предотвращать и блокировать рост MCP-1 в ткани меланомы у субъекта, тем самым снижая васкуляризацию ткани меланомы у субъекта. Вводимая вакцина может увеличивать выживаемость меланомы на 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%,

38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59% и 60% у субъекта.

8. Способы введения

[00444] Вакцина или фармацевтическая композиция может быть введена различными способами, в том числе перорально, парентерально, сублингвально, внутрикожно, ректально, трансмукозально, местно, посредством ингаляции, посредством трансбуккального введения, внутривенно, внутриплеврально, внутримышечно, внутриартериально, внутрибрюшинно, подкожно, внутримышечно, интраназально, интратекально и внутрисуставно или посредством их комбинации. Для применения в ветеринарии композиция может быть введена в виде правильно подобранной приемлемой лекарственной формы в соответствии с обычной ветеринарной практикой. Ветеринар может легко определить схему применения и способ введения, который является наиболее подходящим для определенного животного. Вакцина может быть введена с помощью традиционных шприцев, безыгольных инъекторов, "баллистической трансфекции (генные пушки)" или посредством других физических способов, таких как электропорация ("EP"), "гидродинамический способ" или ультразвук.

[00445] Вектор вакцины может быть введен млекопитающему с помощью нескольких хорошо известных технологий, в том числе инъекции ДНК (также называемой вакцинацией ДНК) с и без *in vivo* электропорации, липосома-опосредованных, ускоренных наночастицами, рекомбинантных векторов, таких как рекомбинантный аденовирус, ассоциированный с рекомбинантным аденовирусом вирус и рекомбинантный вирус осповакцины. Один или более раковых антигенов вакцины могут быть введены посредством инъекции ДНК, а также наряду с *in vivo* электропорацией.

Электропорация

[00446] Вакцина или фармацевтическая композиция может быть введена посредством электропорации. Введение вакцины посредством электропорации может быть достигнуто с применением устройств для электропорации, которые могут быть выполнены с возможностью доставки к необходимой ткани млекопитающего импульса энергии, достаточного для того, чтобы вызвать образование обратимых пор в клеточных мембранах, и предпочтительно, чтобы импульс энергии представлял собой ток постоянной величины, подобный заданному пользователем входному току. Устройство для электропорации может содержать компонент электропорации и электрод в сборе или

рукоятку в сборе. Компонент электропорации может включать и объединять в себе один или более различных элементов устройств для электропорации, в том числе: контроллер, генератор токовых сигналов, тестер импеданса, регистратор сигнала, входной элемент, элемент создания отчетов о состоянии, порт связи, компонент памяти, источник питания и выключатель. Электропорация может быть выполнена с применением *in vivo* устройства для электропорации, например, системы CELLECTRA® EP (Inovio Pharmaceuticals, Inc., Блу Белл, штат Пенсильвания) или электропоратора Elgen (Inovio Pharmaceuticals, Inc.) для облегчения трансфекции клеток плазмидой.

[00447] Примеры устройств для электропорации и способов электропорации, которые могут облегчать введение ДНК-вакцин по настоящему изобретению, включают примеры и способы, описанные в патенте США № 7245963 Draghia-Akli, et al., публикации патента США № 2005/0052630, представленной Smith с соавторами, содержание которых включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме. Другие устройства для электропорации и способы электропорации, которые могут быть использованы для облегчения введения ДНК-вакцины, включают устройства и способы, предоставленные в принадлежащей этому же заявителю и одновременно находящейся на рассмотрении заявке на патент США с серийным № 11/874072, поданной 17 октября 2007 года, по которой испрашивается приоритет в соответствии с § 119(e) раздела 35 Кодекса США (35 USC) на основании предварительных заявок США с серийными № 60/852149, поданной 17 октября 2006 года, и № 60/978982, поданной 10 октября 2007 года, все из которых включены в данный документ в полном объеме.

[00448] Патент США № 7245963 Draghia-Akli, et al. описывает модульные электродные системы и их использование для облегчения внедрения биомолекулы в клетки выбранной ткани в теле или растении. Модульные электродные системы могут содержать ряд игольчатых электродов; иглу для подкожных инъекций; электрический соединительный элемент, который обеспечивает проводящее соединение от программируемого импульсного контроллера с током постоянной величины к ряду игольчатых электродов; и источник питания. Оператор может захватывать ряд игольчатых электродов, которые установлены на опорной конструкции, и плотно вставлять их в выбранную ткань в теле или растении. Затем биомолекулы вводят через иглу для подкожных

инъекций в выбранную ткань. Программируемый импульсный контроллер с током постоянной величины активируется, и электрический импульс с током постоянной величины подается на ряд игольчатых электродов. Применяемый электрический импульс с током постоянной величины облегчает введение биомолекулы в клетку между рядом электродов. Полное содержание патента США № 7245963 включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[00449] Публикация патента США № 2005/0052630, представленная Smith, et al. описывает устройство для электропорации, которое может быть использовано для эффективного облегчения введения биомолекулы в клетки выбранной ткани в теле или растении. Устройство для электропорации содержит электрокинетическое устройство ("устройство ЕKD"), работа которого определяется программным обеспечением или встроенным программным обеспечением. Устройство ЕKD производит серию программируемых импульсных последовательностей с током постоянной величины между электродами в массиве на основе пользовательского элемента управления и ввод параметров импульса, а также обеспечивает возможность хранения и получения текущих данных о сигнале. Устройство для электропорации также содержит сменный электродный диск с массивом игольчатых электродов, центральный инъекционный канал для инъекционной иглы и съемный направляющий диск. Полное содержание публикации патента США № 2005/0052630 включено в данный документ посредством ссылки в полном объеме.

[00450] Массивы электродов и способы, описанные в патенте США № 7245963 и публикации патента США № 2005/0052630, могут быть адаптированы для глубокого проникновения не только в ткани, такие как мышцы, но и в другие ткани или органы. Из-за конфигурации массива электродов инъекционную иглу (в неврологическую систему предпочтительной биомолекулы) также полностью вставляют в орган-мишень и вводят инъекцию перпендикулярно ткани-мишени, в области, которая предварительно очерчена электродами. Электроды, описанные в патенте США № 7245963 и публикации патента США № 2005/005263, предпочтительно имеют длину 20 мм и калибр 21.

[00451] Кроме того, предполагается, что в некоторых вариантах реализации изобретения, включающих устройства для электропорации и их применение, устройства для электропорации представляют собой те, которые описаны в следующих патентах:

патент США № 5273525, выданный 28 декабря 1993 года, патенты США № 6110161, выданный 29 августа 2000 года, № 6261281, выданный 17 июля 2001 года, и № 6958060, выданный 25 октября 2005 года, а также патент США № 6939862, выданный 6 сентября 2005 года. Кроме того, в данном документе рассматриваются патенты, охватывающие объект изобретения, представленный в патенте США № 6697669, выданном 24 февраля 2004 года, который касается введения ДНК с использованием любого из множества устройств, и в патенте США № 7328064, выданном 5 февраля 2008 года, который обращается к методу введения инъекций ДНК. Указанные выше патенты включены посредством ссылки в полном объеме.

9. Способ получения вакцины

[00452] В настоящем документе представлены способы получения плазмид ДНК, которые содержат вакцины, рассмотренные в данном документе. Плазмиды ДНК, после конечного этапа субклонирования в экспрессионные плазмиды млекопитающих, могут быть использованы для инокуляции клеточной культуры в бродильном чане большого размера, с использованием известных в данной области техники способов.

[00453] Плазмиды ДНК для использования с устройствами EP по настоящему изобретению могут быть получены или изготовлены с использованием комбинации известных устройств и технологий, но предпочтительно их получают с использованием оптимизированной технологии получения плазмиды, описанной в опубликованной заявке на патент США № 20090004716, которая была подана 23 мая 2007 года. В некоторых примерах плазмиды ДНК, используемые в этих исследованиях, могут быть приготовлены в концентрациях, которые больше или равны 10 мг/мл. Технологии получения также включают или объединяют различные устройства и рабочие стандарты, общеизвестные для специалистов в данной области техники, в дополнение к тем, которые описаны в заявке на патент США с серийным номером № 60/939792, в том числе к тем, которые описаны в патенте, составляющем предмет лицензии, патенте США № 7238522, выданном 3 июля 2007 года. Указанные выше заявка и патент, заявка на патент США с серийным номером № 60/939792 и патент США № 7238522, соответственно, включены в данный документ в полном объеме.

[00454] Настоящее изобретение имеет несколько аспектов, проиллюстрированных следующими неограничивающими примерами.

10. Примеры

Пример 1

Конструирование рTyr

[00455] Как проиллюстрировано на Фиг. 1A и 9, тирозиназа (Tyr) может содержаться в различных организмах. Соответственно, консенсусную Tyr получали посредством выравнивания последовательностей, соответствующих Tyr из организмов, проиллюстрированных на Фиг. 1A, и выбора наиболее распространенной аминокислоты и/или нуклеотида для консенсусной Tyr. Соответствующие последовательности Tyr для каждого организма получали из GenBank (NCBI). Таким образом, консенсусная Tyr отражала консервативные элементы последовательностей Tyr у разных видов.

[00456] Нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусную Tyr, адаптировали с включением лидерной последовательности IgE. В частности, лидерную последовательность IgE сливали в рамке против хода транскрипции от консенсусной нуклеотидной последовательности Tyr (Фиг. 1B). Затем полученную последовательность вставляли в экспрессионный вектор pVax1 с получением конструкции тирозиназы или плазмиды (pTyr) таким образом, чтобы последовательность Козак предшествовала нуклеотидной последовательности, кодирующей лидерную последовательность IgE и консенсусную Tyr.

[00457] Инсерцию консенсусной нуклеотидной последовательности Tyr в pVax1 подтверждали рестрикционным анализом. Как проиллюстрировано на Фиг. 1C, консенсусную нуклеотидную последовательность Tyr отделяли от плазмиды pVax1 на агарозном геле ДНК (то есть дорожка, обозначенная BamH1/Xho1), тем самым подтверждая, что вектор pVax1 содержал консенсусную нуклеотидную последовательность Tyr.

[00458] Экспрессию консенсусной Tyr подтверждали посредством трансфекции клеток HeLa с pTyr. Вестерн-блоттинг с антителом к Tyr человека подтверждал экспрессию консенсусного белка Tyr в клетках HeLa (Фиг. 1D). Окрашивание GFP дополнительно показало экспрессию консенсусного белка Tyr в трансфицированных клетках HeLa (Фиг. 1E). В обоих экспериментах вестерн-блоттинга и окрашивания,

Пример 2

Вакцинация рTyr с индуцированным клеточно-опосредованным иммунным ответом

[00459] Описанную выше рТур использовали для вакцинации мышей с оценкой того, был ли с помощью рТур индуцирован клеточный иммунный ответ. Мышей C57/B6 иммунизировали с применением стратегии иммунизации, проиллюстрированной на Фиг. 2А. Некоторых мышей иммунизировали рVax1, в то время как других мышей иммунизировали рТур. Мышей, иммунизированных рТур, дополнительно разбивали на следующие группы: (1) дозировка рТур 5 мкг; (2) дозировка рТур 20 мкг; (3) дозировка рТур 30 мкг; и (4) дозировка рТур 60 мкг.

[00460] На 35-й день стратегии иммунизации из мышей C57B/6 выделяли спленоциты и оценивали на индукцию интерферона- γ (IFN- γ) с помощью ELISPOT анализа IFN- γ . Как проиллюстрировано на Фиг. 2В, дозировка в 20 мкг рТур индуцировала наиболее высокие уровни IFN- γ .

[00461] Дополнительно оценивали у иммунизированных мышей Balb/c и C57B/6 клеточный иммунный ответ на рТур. Мышей иммунизировали либо рVax1, либо рТур. Спленоциты выделяли через две недели после третьей иммунизации и стимулировали консенсусным пептидом Тур. После стимуляции количество спленоцитов, секретирующих IFN- γ , рассчитывали как среднее количество точек в трех повторах стимулированных лунок. Этот анализ показал, что мыши C57/B6 подходили для вакцинации рТур (данные не показаны).

Пример 3

Вакцинация рТур с увеличением цитокинов IFN- γ и TNF- α

[00462] Получение цитокинов исследовали у мышей, иммунизированных рТур и рVax1. Мышей иммунизировали с применением стратегии, проиллюстрированной на Фиг. 2А. На 35-й день стратегии иммунизации клетки, выделенные из иммунизированных мышей, стимулировали пептидами Тур на протяжении ночи. После стимуляции анализ полифункциональных ответов измеряли с помощью FACS. В частности, при анализе исследовали CD8⁺ и CD4⁺ Т-клетки. FACS позволил идентифицировать Т-клетки, положительные в отношении цитокинов IL-2, TNF- α и IFN- γ . Из клеток CD44 hi значительный процент CD8⁺ Т-клеток производил IFN- γ у мышей, иммунизированных рТур, по сравнению с мышами, иммунизированными рVax1 (Фиг. 3).

Пример 4

Тур специфические антитела продуцируются в ответ на вакцинацию рТур

[00463] Гуморальный иммунный ответ исследовали у мышей, вакцинированных рТур. В частности, мышей С57В1/6 (n=4) иммунизировали либо рТур, либо рVax1 три раза с 2-недельными интервалами. Каждая иммунизация состояла из 20 мкг/внутримышечной инъекции с последующей электропорацией MID-EP. После третьей иммунизации (то есть 35 день) из мышей собирали сыворотку и измеряли титры антител посредством ELISA с использованием всех IgG-специфических меченых HRP вторичных антител. Сыворотку разводили, как показано на Фиг. 4А. Как проиллюстрировано на Фиг. 4А, специфические к Тур антитела продуцировались мышами, иммунизированными рТур. Мыши, иммунизированные рТур, представлены закрашенным кружком на Фиг. 4А, в то время как мыши, иммунизированные рVax1, представлены незакрашенным треугольником на Фиг. 4А.

[00464] Кроме того, сыворотку из иммунизированных мышей серийно разводили при 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, 1:320 и 1:640. Каждое разведение сыворотки добавляли в трех повторностях в отдельные лунки (50 мкл/лунка), содержащие пептиды Тур. Пиковое увеличение Тур-специфического титра, по сравнению с неиммунной сывороткой, обнаруживали во всех иммунизированных группах мышей при повторной проверке на 90-й и 120-й дни. Типичные результаты трех независимых экспериментов при каждой стадии серийного разведения проиллюстрированы на Фиг. 4В. Эти данные дополнительно свидетельствовали о том, что иммунизация рТур индуцировала продуцирование Тур специфических антител у мышей, иммунизированных рТур.

Пример 5

Мыши, вакцинированные рТур, обладают повышенной выживаемостью при введении опухоли

[00465] рТур дополнительно анализировали с определением того, может ли вакцинация рТур обеспечить защиту от опухолей. В частности, мышей С57В1/6 (10 на группу) иммунизировали либо рТур, либо рVax1 с 2-недельными интервалами. Каждая иммунизация состояла из 20 мкг/внутримышечной инъекции с последующей электропорацией MID-EP. Через неделю после третьей иммунизации (то есть 35-й день) иммунизированных мышей заражали внутрикожно меланомой В16 до тех пор, пока диаметр опухоли не превысил 200 мм².

[00466] Впоследствии, в иммунизированных группах мышей оценивали безопухолевую выживаемость и объем опухоли. Как

проиллюстрировано на Фиг. 5А (кривая выживаемости Каплана-Мейера), у мышей, иммунизированных рТур, была улучшена безопухолевая выживаемость (то есть на 40% на 40 день и после введения опухоли) по сравнению с мышами, вакцинированными рVax1 ($p=0,05$), все их которых умерли на 20 день после введения опухоли. У мышей, иммунизированных рТур, также уменьшился объем опухоли (то есть на около 50%) по сравнению с мышами, иммунизированными рVax1 (Фиг. 5В). Как на Фиг. 5А, так и на Фиг. 5В, мыши, иммунизированные рVax1, представлены закрашенными квадратами, в то время как мыши, иммунизированные рТур, представлены закрашенными кружками. Соответственно, эти данные показали, что вакцинация рТур обеспечила защиту от меланомы, а именно повышенную безопухолевую выживаемость и уменьшение объема опухоли.

Пример 6

Популяция MDSC снижается в опухолях из мышей, вакцинированных рТур

[00467] У иммунизированных рТур мышей и неиммунизированных мышей, исследовали популяции MDSC для изучения того, изменяет ли вакцинация рТур уровни MDSC в опухолях из соответствующих групп мышей. В частности, изучали процент Gr-1+ и CD11b+ клеток у иммунизированных и неиммунизированных мышей.

[00468] Как проиллюстрировано на Фиг. 6 и 7, уровни MDSC были значительно снижены в опухолях из мышей, иммунизированных рТур, по сравнению с неиммунизированными мышами ($p=0,0004$). Процент популяции MDSC у неиммунизированных мышей составлял $40,00 \pm 4,826$. Процент популяции MDSC у мышей, иммунизированных рТур, составлял $5,103 \pm 0,7718$. Соответственно, эти данные показали, что иммунизация рТур уменьшила популяцию MDSC в опухолях мышей, вакцинированных рТур.

Пример 7

Вакцинация рТур снизила уровни MCP-1

[00469] MDSC могут секретировать цитокин MCP-1, который стимулирует ангиогенез или васкуляризацию посредством миграции эндотелиальных клеток. Учитывая описанное выше воздействие вакцинации рТур на уровни MDSC в опухолях, после вакцинации рТур рассматривали уровни MCP-1.

[00470] Как проиллюстрировано на Фиг. 8А, MDSC в меланоме B16 могут секретировать MCP-1. В связи с этим мышам, иммунизированных рТур, и мышам, иммунизированным рVax1, заражали

меланомой B16 для исследования того, изменяет ли иммунизация рТур уровни МСР-1. Интактных мышей включали в качестве дополнительной контрольной группы. После заражения MDSC выделяли непосредственно из опухолевой ткани и анализировали уровни цитокинов МСР-1 посредством ELISA. Эксперимент выполняли в трех повторностях и повторяли дважды.

[00471] Как проиллюстрировано на Фиг. 8B, MDSC в меланоме B16 или опухолевой ткани значительно секретировали МСР-1 (смотри мышей, иммунизированных рVax1). Тем не менее, у мышей, иммунизированных рТур, не было значительного увеличения уровней МСР-1. Скорее, уровни МСР-1 у мышей, иммунизированных рТур, были примерно в 3 раза ниже, чем у мышей, иммунизированных рVax1. Соответственно, эти данные показали, что вакцинация рТур снизила уровень секреции МСР-1 клетками MDSC в опухоли мышей, иммунизированных рТур.

Пример 8

Конструирование рPRAME

[00472] Создавали консенсусную последовательность для PRAME и вставляли нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген PRAME, в сайты рестрикционного фермента BamHI и XhoI экспрессионного вектора или плазмиды рVAX (также называемой в данном документе как рVAX1) с получением рGX1411 (также известного в данном документе как рPRAME) (смотри Фиг. 10A).

[00473] Для подтверждения того, что рPRAME привел к экспрессии консенсусного антигена PRAME, рVAX и рPRAME трансфицировали в клетки RD и клетки 293T. Для окрашивания ядер использовали DAPI, и также флуоресцентно окрашивали консенсусный антиген PRAME. Это окрашивание, наряду со слиянием окрашивания DAPI и консенсусного антигена PRAME, показано на Фиг. 10B. Эти окрашивания продемонстрировали, что консенсусный антиген PRAME экспрессировался из рPRAME, и консенсусный антиген PRAME не был детектирован в клетках, трансфицированных рVAX (то есть отрицательный контроль).

[00474] Кроме того, использовали вестерн-блоттинг анализ лизатов из трансфицированных клеток для подтверждения экспрессии консенсусного антигена PRAME в трансфицированных клетках (Фиг. 10C). Нетрансфицированные клетки и клетки, трансфицированные рVAX, использовали в качестве отрицательного контроля (смотри дорожки, обозначенные "контроль" и "рVAX", соответственно на

Фиг. 10С). На Фиг. 10С бета-актиновое детектирование использовали в качестве контроля нанесения. Таким образом, окрашивание трансфицированных клеток и вестерн-блоттинг лизатов из трансфицированных клеток показали, что вектор pPRAME обеспечивал экспрессию консенсусного антигена PRAME в клетках.

Пример 9

Ответ гамма-интерферона на вакцинацию pPRAME

[00475] Описанный выше pPRAME использовали для вакцинации мышей с оценкой того, был ли с помощью pPRAME индуцирован клеточный иммунный ответ. Мышей C57BL/6 разделяли на группы. Первая группа была интактной и не получала pPRAME. Вторая, третья, четвертая, пятая и шестая группы мышей получали 5 мкг, 10 мкг, 15 мкг, 25 мкг и 50 мкг pPRAME, соответственно.

[00476] После иммунизации из мышей C57BL/6 выделяли спленоциты и оценивали на индукцию гамма-интерферона (IFN- γ) с помощью ELISPOT анализа IFN- γ . Как проиллюстрировано на Фиг. 11А и 11В, каждая доза pPRAME индуцировала продуцирование или секрецию IFN- γ в отличие от интактных мышей отрицательного контроля. В частности, у вакцинированных мышей по сравнению с невакцинированными мышами уровни IFN- γ были увеличены до от около 3000-кратного до около 4500-кратного размера. Соответственно, эти данные показали, что вакцинация pPRAME, который кодирует консенсусный антиген PRAME, индуцировала клеточный иммунный ответ, о чем свидетельствуют повышенные уровни IFN- γ , в сравнении с отсутствием вакцинации.

Пример 10

Конструирование pNY-ESO-1

[00477] Создавали консенсусную последовательность для NY-ESO-1, и вставляли нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген NY-ESO-1, в сайты рестрикционного фермента BamHI и XhoI экспрессионного вектора или плазмиды pVAX (также называемой в данном документе как pVAX1) с получением pGX1409 (также известного в данном документе как pNY-ESO-1) (смотри Фиг. 12А).

[00478] Для подтверждения того, что pNY-ESO-1 привел к экспрессии консенсусного антигена NY-ESO-1, в клетки трансфицировали pVAX и pNY-ESO-1. Для окрашивания ядер использовали DAPI, и также флуоресцентно окрашивали консенсусный антиген NY-ESO-1. Это окрашивание, наряду со слиянием окрашивания DAPI и консенсусного антигена NY-ESO-1,

проиллюстрировано на Фиг. 12В. Эти окрашивания продемонстрировали, что консенсусный антиген NY-ESO-1 экспрессировался из pNY-ESO-1, и консенсусный антиген NY-ESO-1 не был детектирован в клетках, трансфицированных pVAX (то есть отрицательный контроль).

[00479] Кроме того, использовали вестерн-блоттинг анализ лизатов из трансфицированных клеток 293Т и RD для подтверждения экспрессии консенсусного антигена NY-ESO-1 в трансфицированных клетках (Фиг. 12С). Нетрансфицированные клетки и клетки, трансфицированные pVAX, использовали в качестве отрицательного контроля (смотри дорожки, обозначенные "контроль" и "pVAX", соответственно на Фиг. 12С). На Фиг. 12С альфа-актиновое детектирование использовали в качестве контроля нанесения. Таким образом, окрашивание трансфицированных клеток и вестерн-блоттинг лизатов из трансфицированных клеток показали, что вектор pNY-ESO-1 обеспечивал экспрессию консенсусного антигена NY-ESO-1 в клетках.

[00480]

Пример 11

Ответ гамма-интерферона на вакцинацию pNY-ESO-1

[00481] Описанный выше pNY-ESO-1 использовали для вакцинации мышей с оценкой того, был ли с помощью pNY-ESO-1 индуцирован клеточный иммунный ответ. Мышей C57BL/6 разделяли на группы. Первая группа была интактной и не получала pNY-ESO-1. Вторая и третья группы мышей получали 25 мкг и 50 мкг pNY-ESO-1, соответственно.

[00482] После иммунизации из мышей C57BL/6 выделяли спленоциты и оценивали на индукцию гамма-интерферона (IFN- γ) с помощью ELISPOT анализа IFN- γ . Как проиллюстрировано на Фиг. 13, каждая доза pPRAME индуцировала продуцирование или секрецию IFN- γ в отличие от интактных мышей отрицательного контроля. В частности, у вакцинированных мышей по сравнению с невакцинированными мышами уровни IFN- γ были увеличены до от около 700-кратного до около 1100-кратного размера. Соответственно, эти данные показали, что вакцинация pNY-ESO-1, который кодирует консенсусный антиген NY-ESO-1, индуцировала клеточный иммунный ответ, о чем свидетельствуют повышенные уровни IFN- γ , в сравнении с отсутствием вакцинации.

Пример 12

Ответ гамма-интерферона на вакцинацию pNY-ESO-2

[00483] Создавали консенсусную последовательность для NY-ESO-2 и вставляли нуклеотидную последовательность, кодирующую консенсусный антиген NY-ESO-2, во множественный сайт встраивания экспрессионного вектора или плазмиды pVAX (также известной в данном документе как pVAX1) с получением pNY-ESO-2.

[00484] Этот pNY-ESO-2 использовали для вакцинации мышей с оценкой того, был ли с помощью pNY-ESO-2 индуцирован клеточный иммунный ответ. Мышей C57BL/6 разделяли на группы. Первая группа была интактной и не получала pNY-ESO-2. Вторая и третья группы мышей получали 25 мкг и 50 мкг pNY-ESO-2, соответственно.

[00485] После иммунизации из мышей C57BL/6 выделяли спленоциты и оценивали на индукцию гамма-интерферона (IFN- γ) с помощью ELISPOT анализа IFN- γ . Как проиллюстрировано на Фиг. 14, каждая доза pNY-ESO-2 индуцировала продуцирование или секрецию IFN- γ в отличие от интактных мышей отрицательного контроля. В частности, у вакцинированных мышей по сравнению с невакцинированными мышами уровни IFN- γ были увеличены до от около 400-кратного до около 500-кратного размера. Соответственно, эти данные показали, что вакцинация pNY-ESO-2, который кодирует консенсусный антиген NY-ESO-2, индуцировала клеточный иммунный ответ, о чем свидетельствуют повышенные уровни IFN- γ , в сравнении с отсутствием вакцинации.

[00486] Понятно, что приведенное выше подробное описание и прилагаемые примеры являются только иллюстративными и не должны рассматриваться как ограничивающие объем настоящего изобретения, который определен исключительно прилагаемой формулой изобретения и ее эквивалентами.

[00487] Специалистам в данной области техники будут очевидны различные изменения и модификации в раскрытых вариантах реализации изобретения. Такие изменения и модификации, в том числе без ограничения теми, которые касаются химических структур, заместителей, производных, промежуточных соединений, композиций, составов или способов использования настоящего изобретения, могут быть сделаны без отхода от его сущности и объема.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Молекула нуклеиновой кислоты, содержащая одну или более нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из:

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 85% или более идентична нуклеотидной последовательности тирозиназы (Tyr) (SEQ ID NO:1);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 85% или более идентична нуклеотидной последовательности белка 1, родственного тирозиназе (TYRP1) (SEQ ID NO:3);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 85% или более идентична нуклеотидной последовательности белка 2, родственного тирозиназе (TYRP2) (SEQ ID NO:5);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 85% или более идентична нуклеотидной последовательности белка антигена 4, ассоциированного с меланомой (MAGEA4) (SEQ ID NO:7);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 85% или более идентична нуклеотидной последовательности соматотропин-рилизинг фактора (GHRH) (SEQ ID NO:9);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 85% или более идентична нуклеотидной последовательности антигена MART-1/мелан-А (MART-1/Melan-A) (SEQ ID NO:11);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 85% или более идентична нуклеотидной последовательности антигена рака яичка (NY-ESO-1) (SEQ ID NO:13);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 85% или более идентична нуклеотидной последовательности антигена II рака яичка (NY-ESO-2) (SEQ ID NO:15);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 85% или более идентична нуклеотидной последовательности PRAME (SEQ ID NO:17);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 85% или более идентична нуклеотидной последовательности WT1 (SEQ ID NO:19);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 85% или более идентична нуклеотидной последовательности WT1 (SEQ ID

NO:21);

и нуклеотидной последовательности, которая примерно на 85% или более идентична нуклеотидной последовательности hTERT (SEQ ID NO:23).

2. Молекула нуклеиновой кислоты по п.1, где молекула нуклеиновой кислоты содержит одну или более нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из:

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 90% или более идентична нуклеотидной последовательности тирозиназы (Tyr) (SEQ ID NO:1);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 90% или более идентична нуклеотидной последовательности белка 1, родственного тирозиназе (TYRP1) (SEQ ID NO:3);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 90% или более идентична нуклеотидной последовательности белка 2, родственного тирозиназе (TYRP2) (SEQ ID NO:5);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 90% или более идентична нуклеотидной последовательности белка антигена 4, ассоциированного с меланомой (MAGEA4) (SEQ ID NO:7);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 90% или более идентична нуклеотидной последовательности соматотропин-рилизинг фактора (GHRH) (SEQ ID NO:9);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 90% или более идентична нуклеотидной последовательности антигена MART-1/мелан-А (MART-1/Melan-A) (SEQ ID NO:11);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 90% или более идентична нуклеотидной последовательности антигена рака яичка (NY-ESO-1) (SEQ ID NO:13);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 90% или более идентична нуклеотидной последовательности антигена II рака яичка (NY-ESO-2) (SEQ ID NO:15);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 90% или более идентична нуклеотидной последовательности PRAME (SEQ ID NO:17);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 90% или более идентична нуклеотидной последовательности WT1 (SEQ ID

NO:19);

нуклеотидной последовательности, которая примерно на 90% или более идентична нуклеотидной последовательности WT1 (SEQ ID NO:21);

и нуклеотидной последовательности, которая примерно на 90% или более идентична нуклеотидной последовательности hTERT (SEQ ID NO:23).

3. Молекула нуклеиновой кислоты по п.1, где молекула нуклеиновой кислоты содержит одну или более нуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из: SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:5, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:9, SEQ ID NO:11, SEQ ID NO:13, SEQ ID NO:15, SEQ ID NO:17, SEQ ID NO:19, SEQ ID NO:21 и SEQ ID NO:23.

4. Молекула нуклеиновой кислоты по п.1, где молекула нуклеиновой кислоты также содержит нуклеиновую кислоту, кодирующую один или более антигенов, выбранных из группы, состоящей из: PSA, PSMA, STEAP, PSCA, MAGE A1, gp100, вирусного антигена и их комбинаций.

5. Молекула нуклеиновой кислоты по п.4, где вирусный антиген представляет собой антиген из вируса гепатита В (HBV), вируса гепатита С (HCV) или вируса папилломы человека (HPV).

6. Молекула нуклеиновой кислоты по п.4, где антиген HBV представляет собой коровый антиген HBV или поверхностный антиген HBV, или их комбинацию.

7. Молекула нуклеиновой кислоты по п.4, где антиген ВГС представляет собой антиген NS34A HCV, антиген NS5A HCV, антиген NS5B HCV, антиген NS4B HCV или их комбинацию.

8. Молекула нуклеиновой кислоты по п.4, где антиген HPV представляет собой антиген HPV типа 6 E6, антиген HPV типа 6 E7, антиген HPV типа 11 E6, антиген HPV типа 11 E7, антиген HPV типа 16 E6, антиген HPV типа 16 E7, антиген HPV типа 18 E6, антиген HPV типа 18 E7 или их комбинацию.

9. Молекула нуклеиновой кислоты по п.1, где молекула нуклеиновой кислоты представляет собой плазмиду.

10. Молекула нуклеиновой кислоты по п.1, где молекула нуклеиновой кислоты представляет собой одну или более плазмид.

11. Композиция, содержащая по меньшей мере одну молекулу нуклеиновой кислоты по п.1.

12. Композиция по п.11, где композиция также содержит ингибитор иммунных контрольных точек, выбранный из группы, состоящей из: анти-PD-1 антитела, анти-PD-L1 антитела и их комбинации.

13. Композиция по п.11, где композиция также содержит адъювант.

14. Композиция по п.13, где адъювант представляет собой IL-12, IL-15, IL-28 или RANTES.

15. Композиция по п.11, где композиция представляет собой фармацевтическую композицию.

16. Способ профилактики или лечения рака у пациента, где способ включает введение указанному пациенту по меньшей мере одной молекулы нуклеиновой кислоты по п.1 или ее композиции.

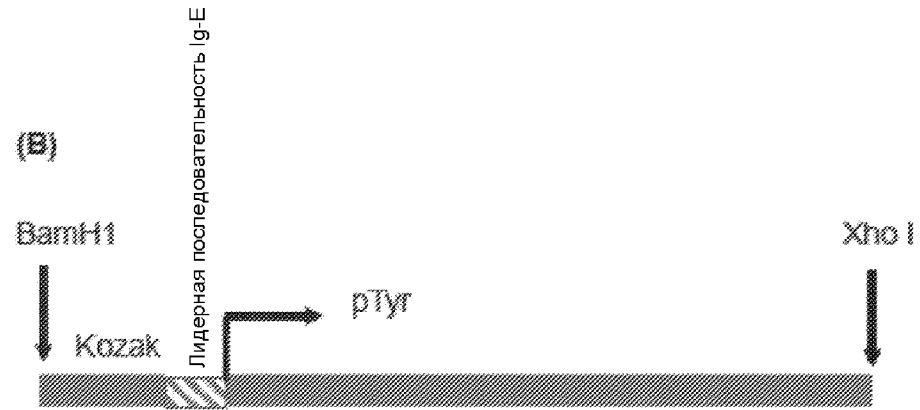
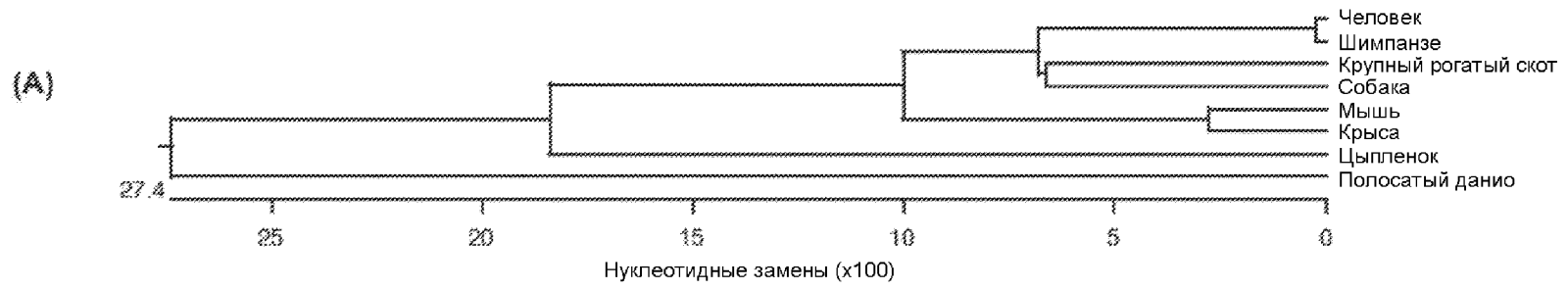
17. Способ по п.16, где способ также включает введение пациенту ингибитора иммунной контрольной точки.

18. Способ по п.17, где ингибитор иммунной контрольной точки выбран из группы, состоящей из: анти-PD-1 антитела, анти-PD-L1 антитела и их комбинации.

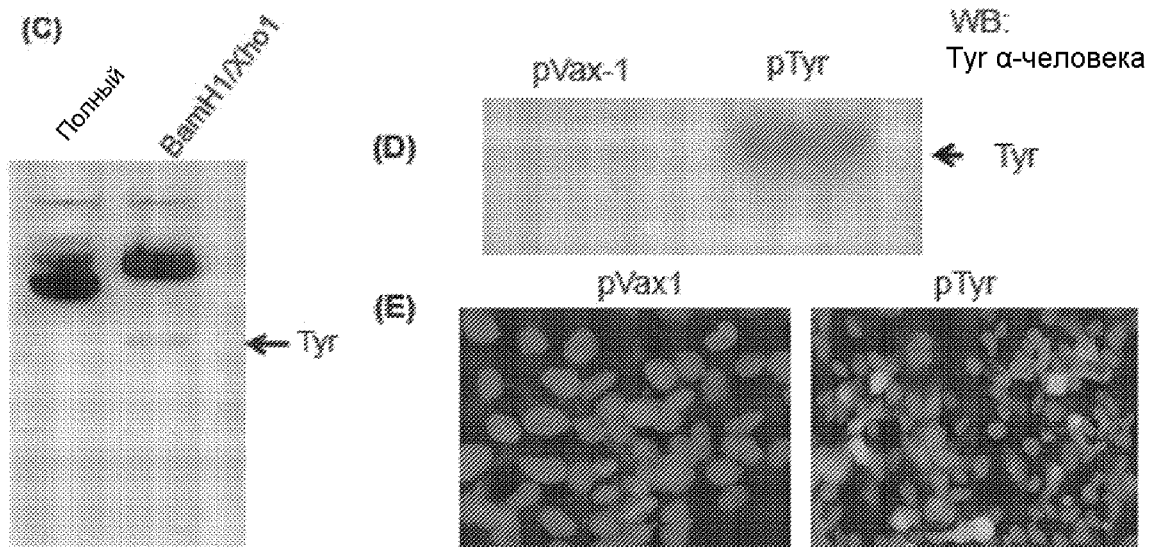
19. Способ по п.16, где рак выбран из группы, состоящей из: меланомы, рака головы и шеи, рака предстательной железы, рака печени, рака шейки матки, рецидивирующего респираторного папилломатоза (RRP), рака анального канала, рака крови и любой их комбинации.

20. Способ индукции иммунного ответа у пациента, где способ включает введение пациенту по меньшей мере одной молекулы нуклеиновой кислоты по п.1 или ее композиции.

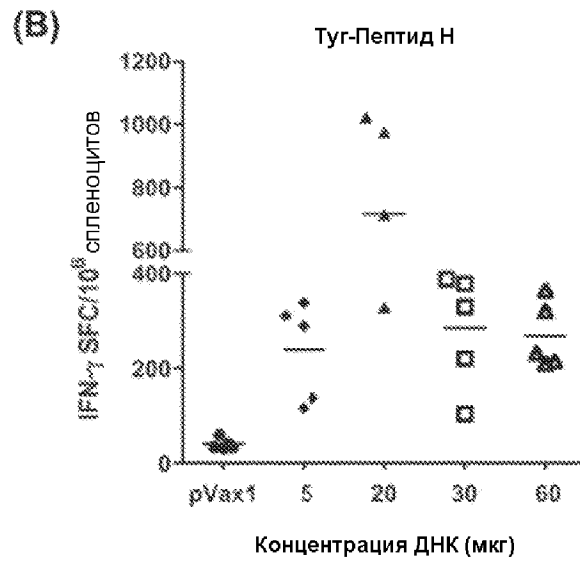
По доверенности



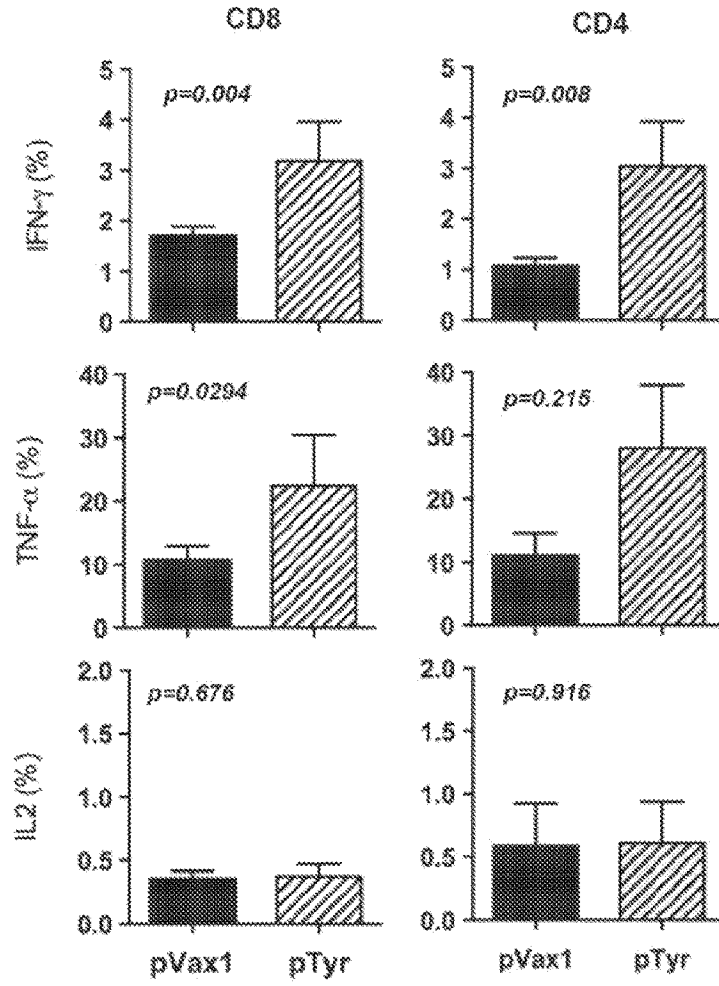
ФИГ. 1



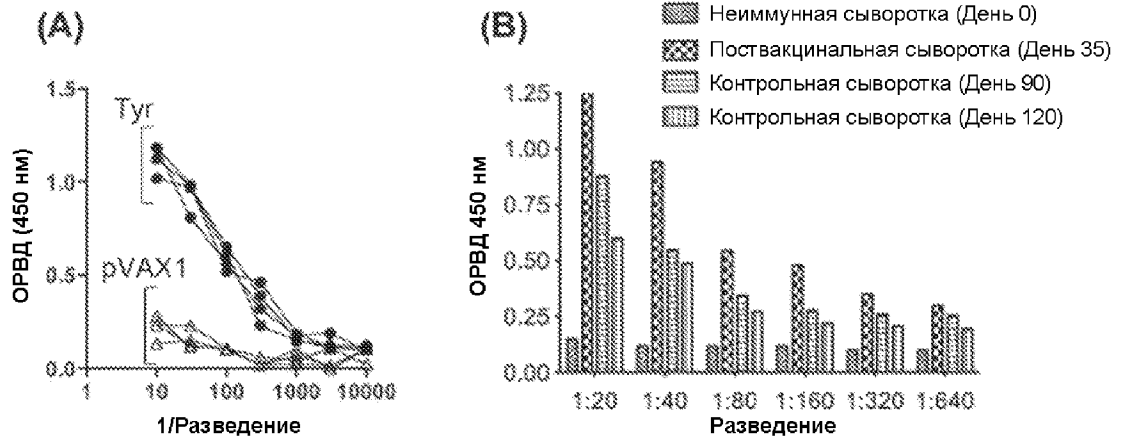
ФИГ. 1 (прод.)



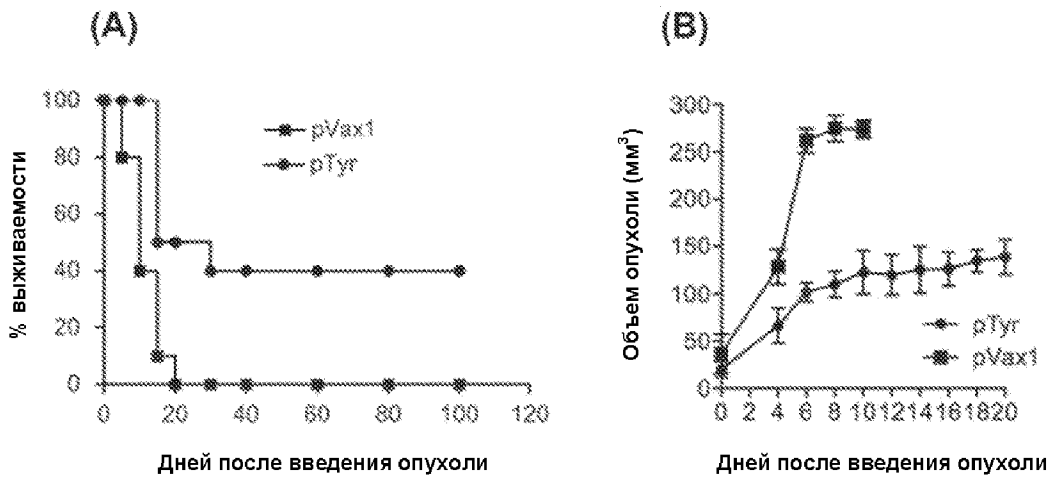
ФИГ. 2



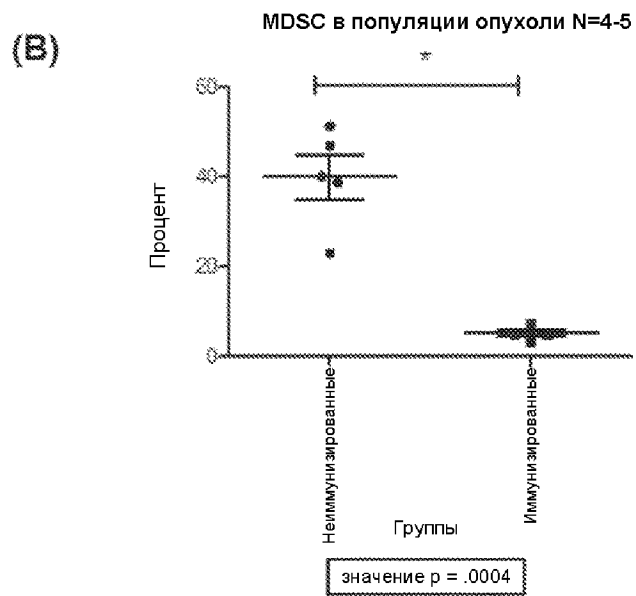
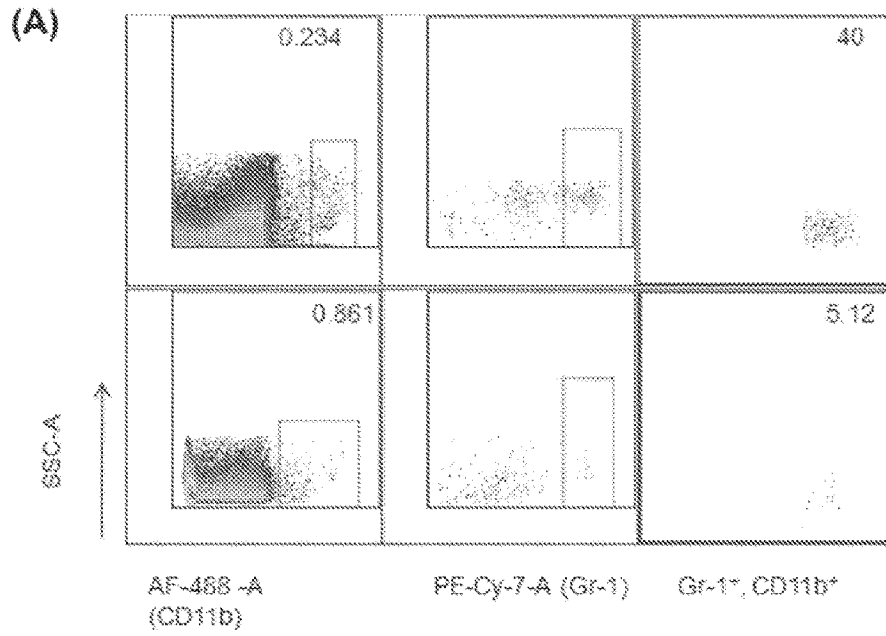
ФИГ. 3



ФИГ. 4



ФИГ. 5



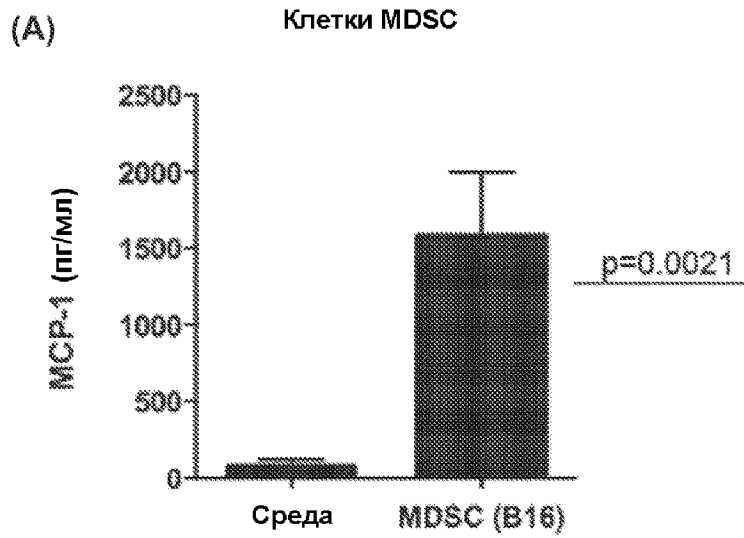
ФИГ. 6

Окрашивание клеток MDSC



ФИГ. 7

Тканевая культура

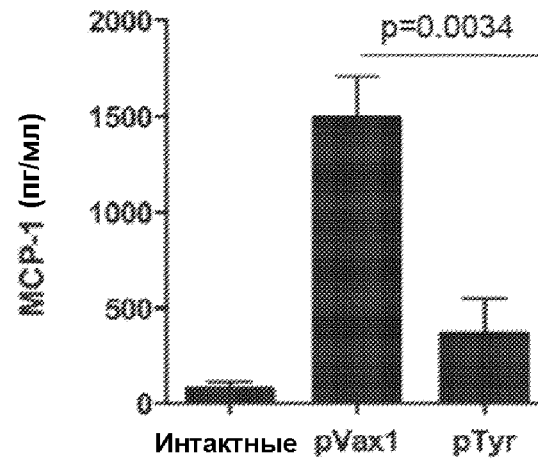


ФИГ. 8

Иммунизированные мыши в сравнении с
неиммунизированными

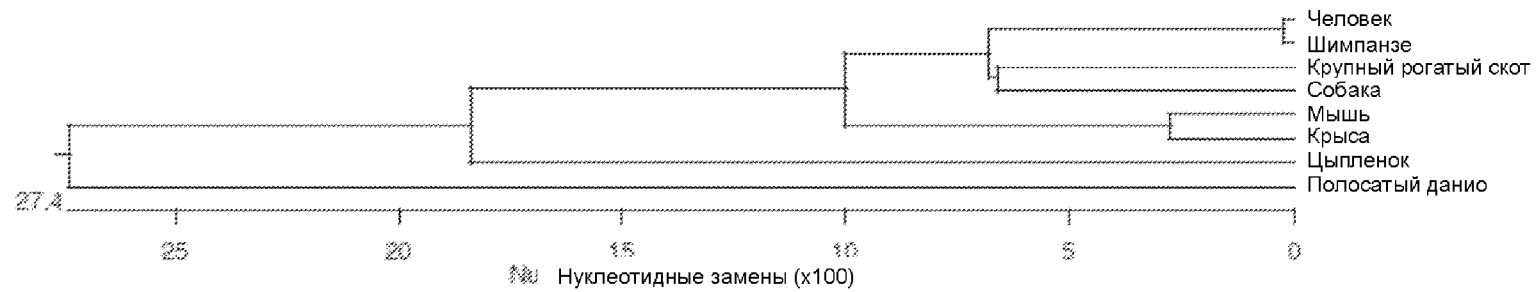
(B)

Вакцинация pTug



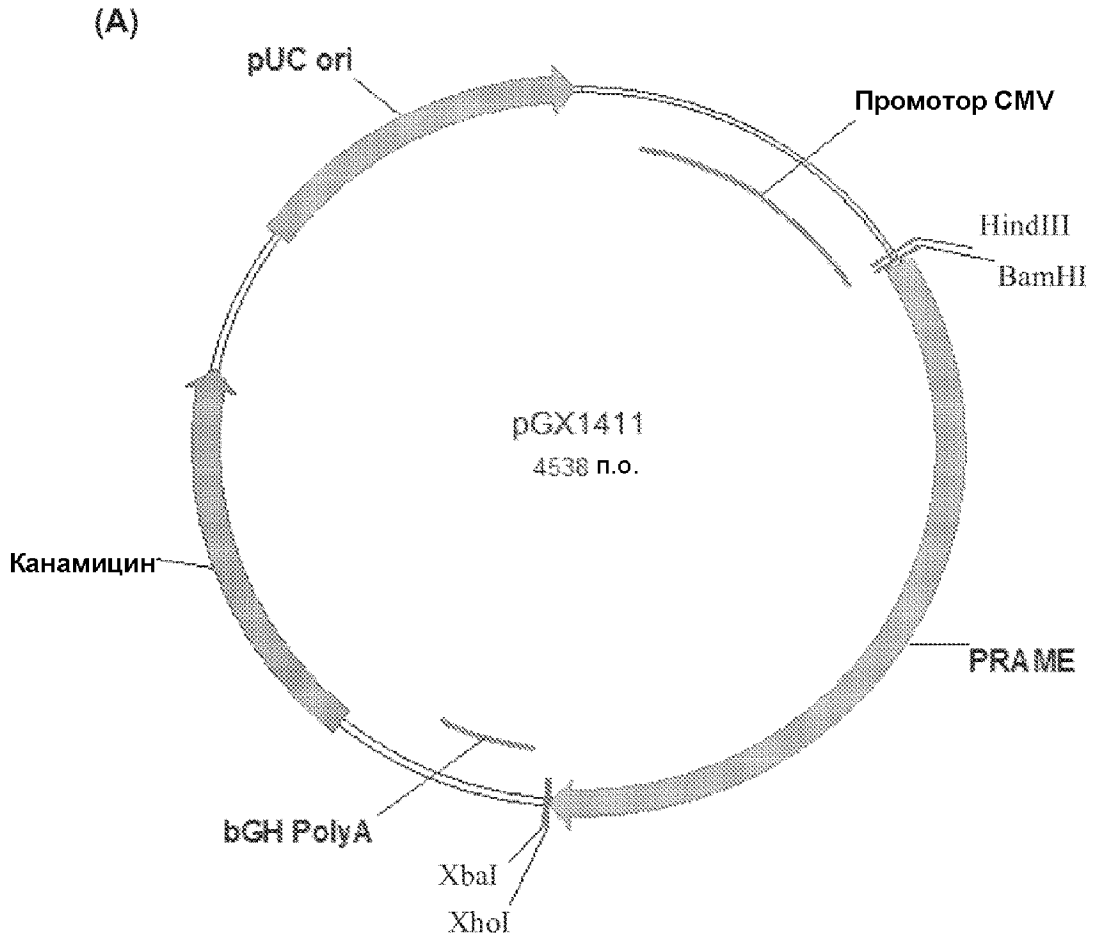
ФИГ. 8 (прод.)

Филогенетическое древо Tug

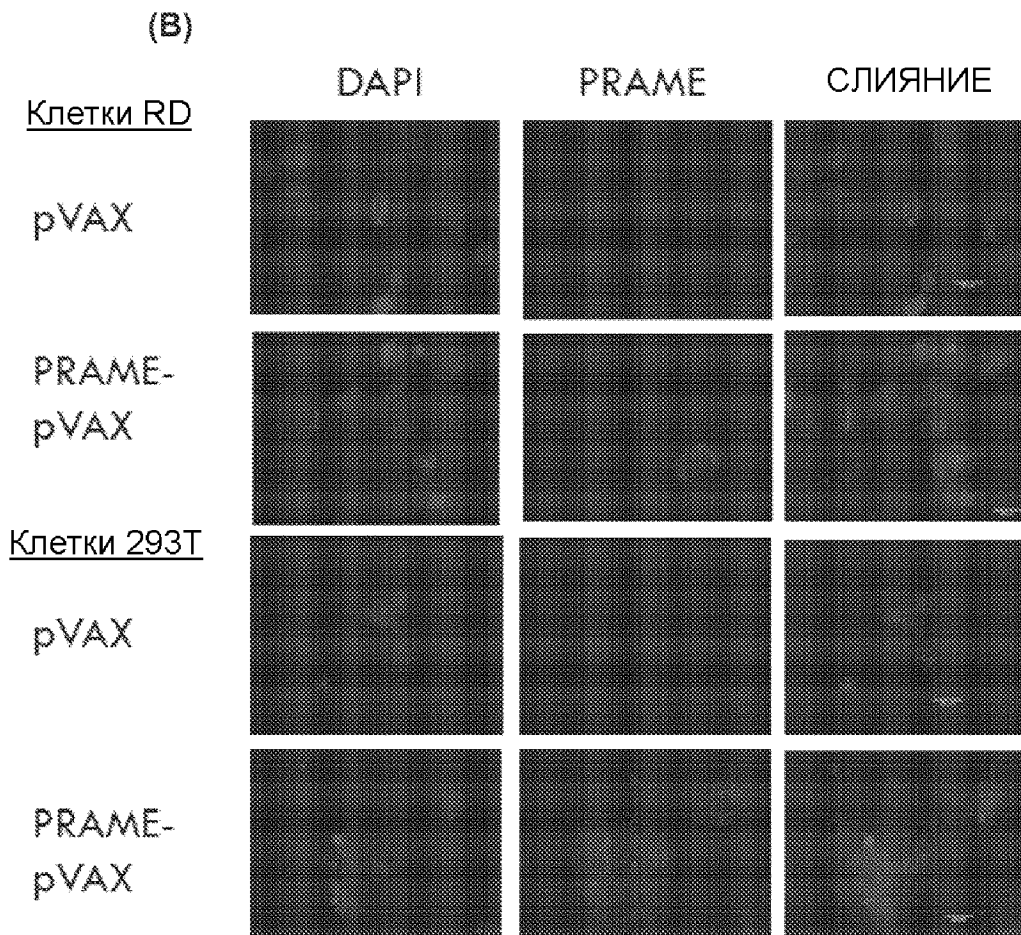


ФИГ. 9

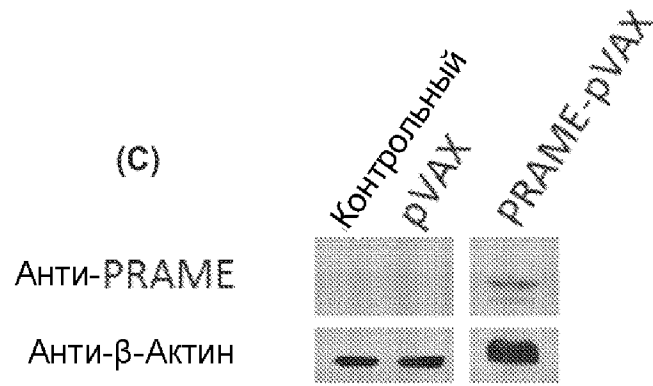
Конструкция вакцины PRAME



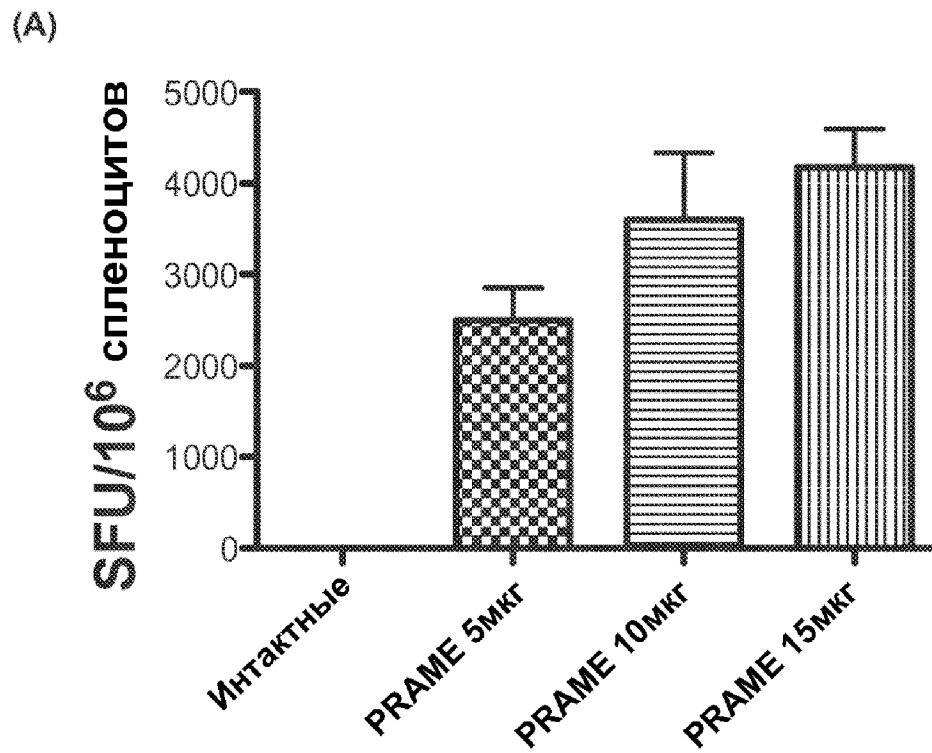
ФИГ. 10



ФИГ. 10 (прод.)

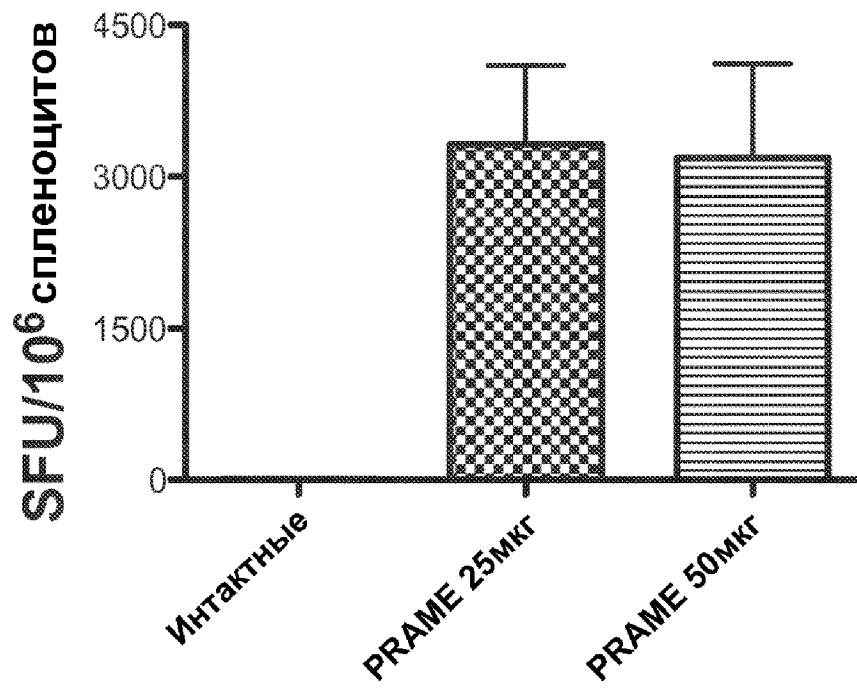


ФИГ. 10 (прод.)

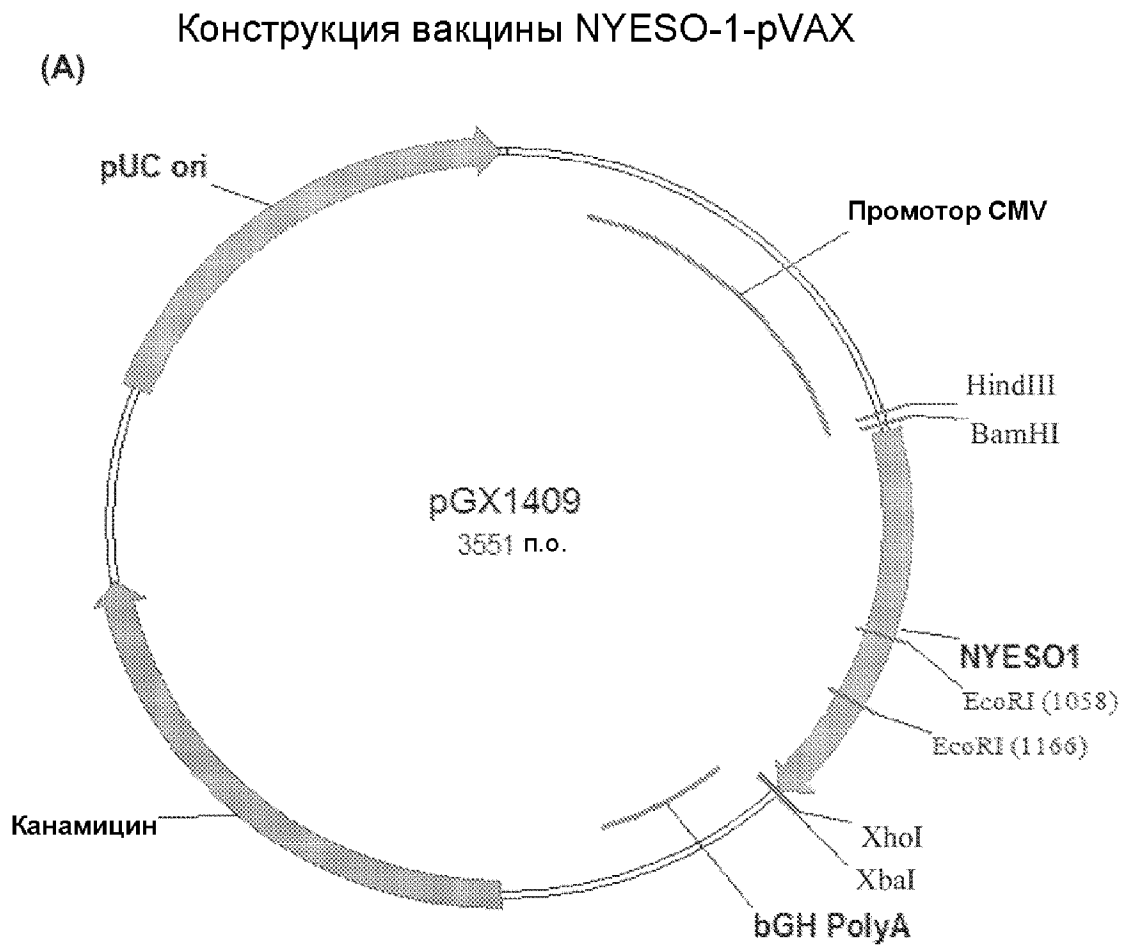


ФИГ. 11

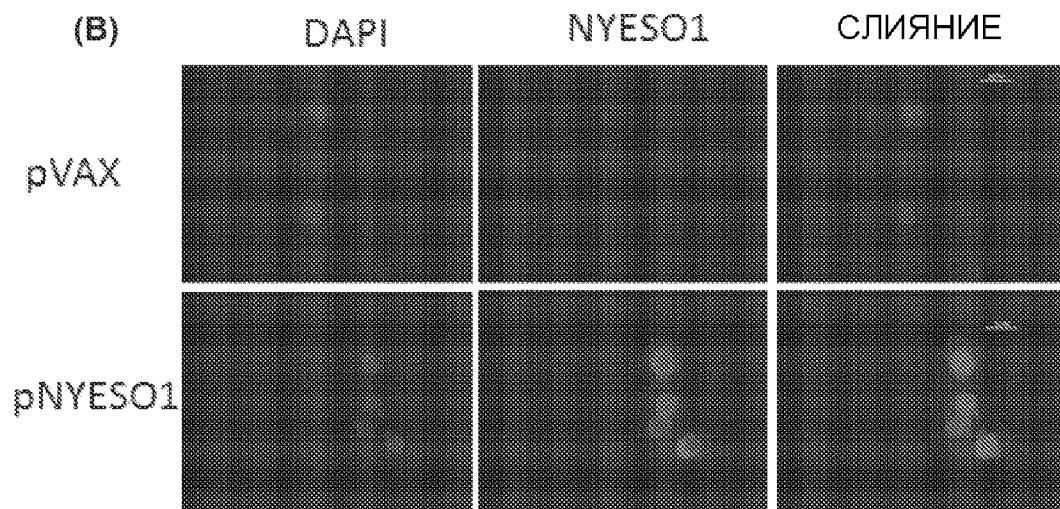
(B)



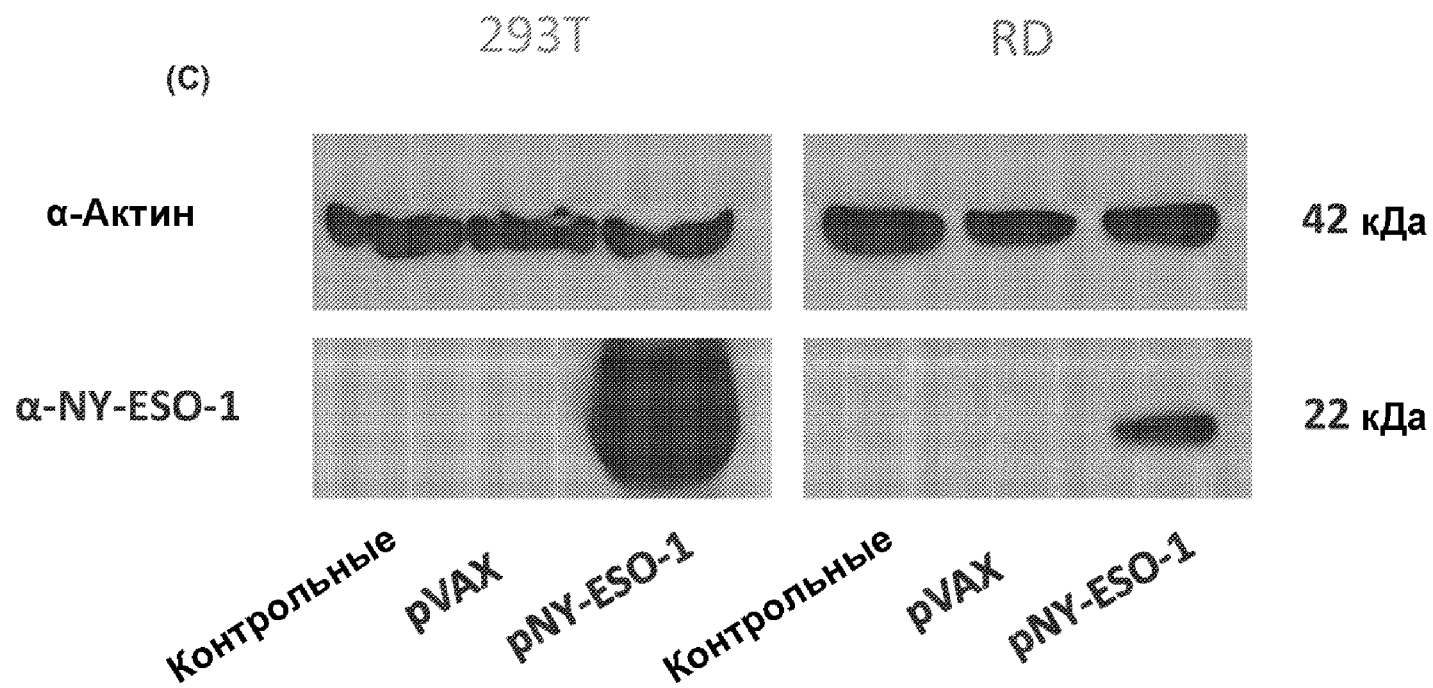
ФИГ. 11 (прод.)



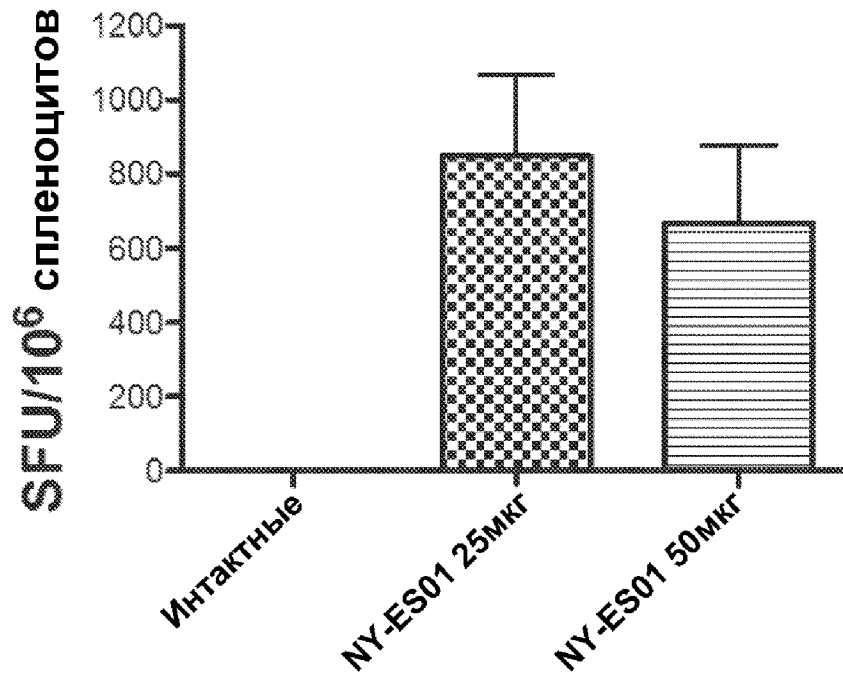
ФИГ. 12



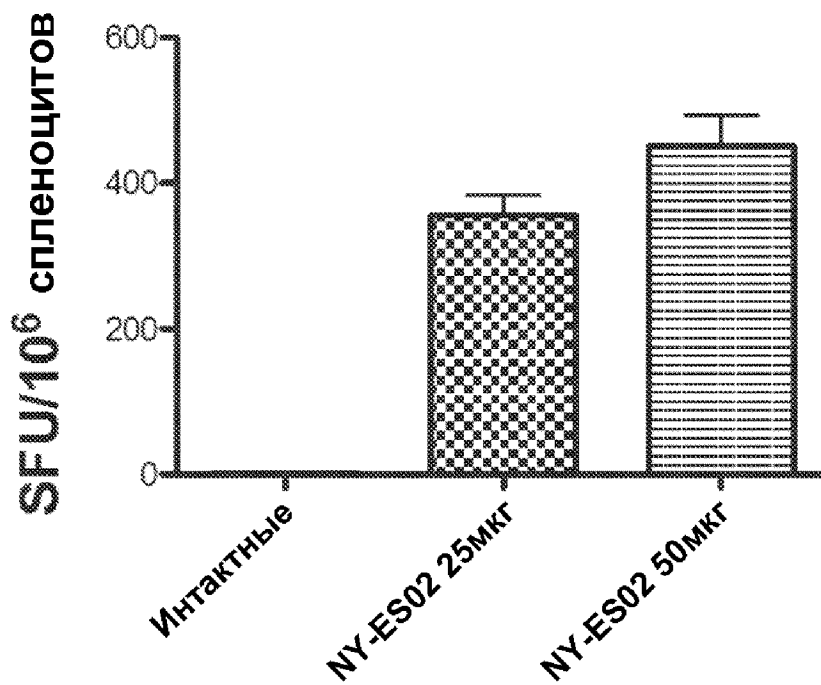
ФИГ. 12 (прод.)



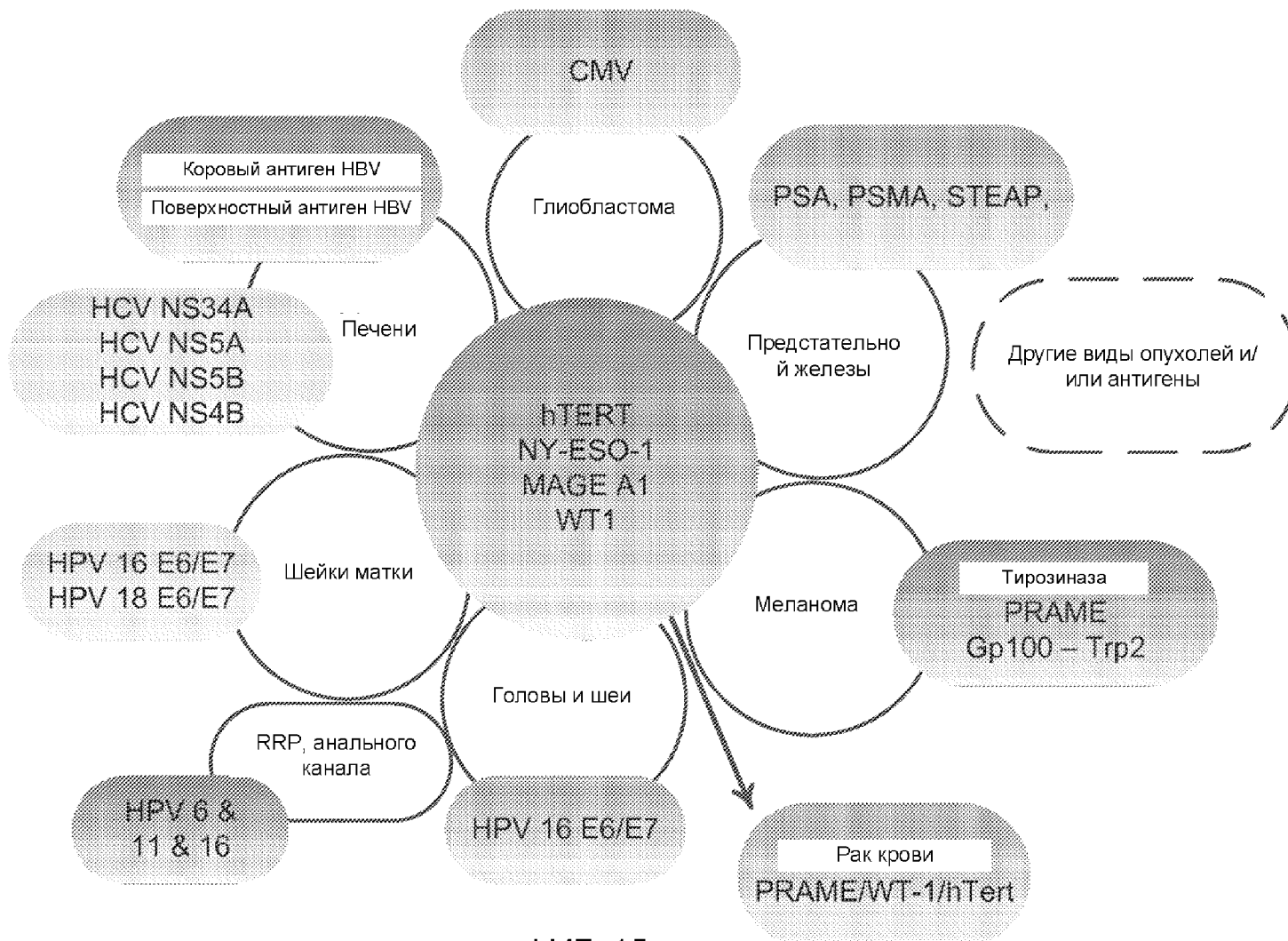
ФИГ. 12 (прод.)



ФИГ. 13



ФИГ. 14



ФИГ. 15

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

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

Номер евразийской заявки:

202392845А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:
См. дополнительный лист

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

A61K 48/00, A61P 35/00, C07H 21/00

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

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
Y	US20030138808A1 (SIMARD JOHN J.L et al), 24.06.2003, abstract, описание п-фы 0019-0026, 0031-0034, 0041, 0077,0081, 0132,0142,0147,0163 abstract, описание п-фы 0019-0026, 0031-0034, 0041, 0077,0081, 0132,0142,0147,0163	1-20
Y	WO 2002068653 A3 (IMCLONE SYSTEMS INCORPORATED И ДР.) 2002-09-06 ф-ла пп.1-3, описание п-фы 0001,0004,0009, раздел summary of the invention.	1-20
Y	EP 1806403 A2 (THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES) 2007-07-11 описание п-фы 0003,0127,0141; ф-ла пп.25,32,34,35	1-20
Y	WO 2010088160 A1 (THE UNITED STATES OF AMERICA, AS REPRESENTED BY THE SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES И ДР.) 2010-08-05 реферат, описание п-фы 0003-0005, 0034-0039,0071	1-20
Y	RU 2007144895 A (ЦИТОС БАЙОТЕКНОЛОДЖИ АГ) 2009-06-10 ф-ла пп.7,19,20	1-20

 последующие документы указаны в продолжении графы

* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

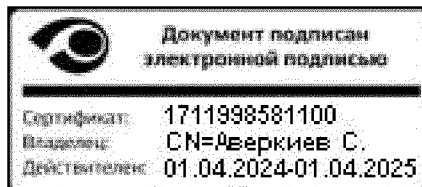
«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«E» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи
евразийской заявки или после нее«O» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию
и т.д."P" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки,
но после даты испрашиваемого приоритета"«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и при-
веденный для понимания изобретения«X» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска,
порочающий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности«Y» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска,
порочающий изобретательский уровень в сочетании с другими документами
той же категории

«&» - документ, являющийся патентом-аналогом

«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: 17 сентября 2024 (17.09.2024)

Уполномоченное лицо:
Начальник Управления экспертизы

С.Е. Аверкиев

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ
(дополнительный лист)

Номер евразийской заявки:

202392845

КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ (продолжение графы А)

МПК:

C12N 15/52 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
C12N15/63 (2006.01)
C12N 15/86 (2006.01)

СПК:

C12N 15/52
A61K 48/0016
A61P 35/00

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ
(дополнительный лист)

Номер евразийской заявки:

202392845

ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ (продолжение графы В)

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
У	RU 2008120665 А (ДБЮК ЮНИВЕРСИТИ И ДР.) 2009-11-27 ф-ла пп.25-26,29,39-42	1-20

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ
(дополнительный лист)

Номер евразийской заявки:

202392845

Раздел I. ЗАМЕЧАНИЯ ДЛЯ СЛУЧАЯ, КОГДА НЕКОТОРЫЕ ПУНКТЫ ФОРМУЛЫ ИЗОБРЕТЕНИЯ НЕ ПОДЛЕЖАТ ПОИСКУ

Настоящий отчет о патентном поиске не охватывает некоторые пункты формулы изобретения по следующим причинам:

1. пункты формулы изобретения №:
т.к. они относятся к объектам, указанным в правиле 3(3) Патентной инструкции к ЕАПК, а именно:

2. пункты формулы изобретения №:
т.к. они относятся к части евразийской заявки, которая не отвечает установленным требованиям в такой степени, что по ней невозможно провести полноценный патентный поиск, а именно:

Раздел II. ЗАМЕЧАНИЯ ДЛЯ СЛУЧАЯ НЕСОБЛЮДЕНИЯ ЕДИНСТВА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Единство изобретения не соблюдено по следующим причинам:

В п. 1 заявлено множество нуклеотидных последовательностей, имеющих различное происхождение и не имеющих общего структурного элемента. В соответствии с Правилем 4 Инструкции для вариантов в п. 1 должен быть общий технический признак, вносящий вклад в уровень техники, а именно, общий структурный элемент. Однако все последовательности, указанные в п. 1, имеют различное происхождение и структуру. Учитывая изложенное, указанные в п. 1 последовательности образуют 12 групп, в соответствии с каждым из сиквенсов.