

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202492347** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
2024.11.08

(51) Int. Cl. *A61K 39/00* (2006.01)  
*A61K 39/12* (2006.01)  
*C07K 16/28* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2023.03.15

---

(54) **ОПУХОЛЕВЫЕ АНТИГЕНЫ, СОЕДИНЕНИЯ, СОДЕРЖАЩИЕ ОПУХОЛЕВЫЕ АНТИГЕНЫ KRAS, TRX2 ИЛИ AURKA, И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

---

(31) 22162533.8; 22204783.9

(32) 2022.03.16; 2022.10.31

(33) EP

(86) PCT/EP2023/056591

(87) WO 2023/174998 2023.09.21

(71) Заявитель:

**БЁРИНГЕР ИНГЕЛЬХАЙМ  
ИНТЕРНАЦИОНАЛЬ ГМБХ (DE)**

(72) Изобретатель:

**Белну Элоди, Деруази Мадиха (CH),  
Адам Пауль, Хофман Иргард Мариа  
Рита, Леонхардт Ральф, Луковски  
Самуэль, Нолден Тобиас, Трапани  
Франческа (DE)**

(74) Представитель:

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

---

(57) Настоящее изобретение относится к опухолевым антигенам, закодированным в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR различных мРНК. Предоставлены композиции и пептиды, содержащие такие опухолевые антигены, и вирус, кодирующий такие опухолевые антигены. Настоящее изобретение также относится к применению таких композиций, пептидов и вирусов в лечении рака.

---

**A1**

**202492347**

**202492347**

**A1**

## ОПУХОЛЕВЫЕ АНТИГЕНЫ, СОЕДИНЕНИЯ, СОДЕРЖАЩИЕ ОПУХОЛЕВЫЕ АНТИГЕНЫ KRAS, TPX2 ИЛИ AURKA, И ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

5

Настоящее изобретение относится к области вакцинации и иммунотерапии, в частности, к иммунотерапии рака. Более конкретно, настоящее изобретение относится к опухолевым антигенам, закодированным в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR различных мРНК. Предложены композиции и пептиды, содержащие такие опухолевые антигены, и вирус, кодирующий такие опухолевые антигены. Настоящее изобретение также относится к применению таких композиций, пептидов и вирусов при лечении рака.

Иммунная система может распознавать и в некоторой степени устранять опухолевые клетки, однако эта противоопухолевая реакция часто имеет низкую амплитуду и неэффективна. Усиление этой слабой противоопухолевой реакции с помощью терапевтической вакцинации было долгожданной целью в терапии рака. Таким образом, модуляция иммунной системы для усиления иммунных реакций стала многообещающим терапевтическим подходом в онкологии, поскольку ее можно сочетать со стандартными способами лечения.

Опухолевые клетки обычно экспрессируют несколько антигенов, таких как антигены, ассоциированные с опухолью (ТАА), вирусные антигены (онковирус) или антигены, полученные в результате мутации (неоантигены). Различные ТАА, вирусные антигены или неоантигены, экспрессируемые в раковых клетках, были идентифицированы и использованы в качестве мишеней для противораковых вакцин. Одним из подходов к получению опухолеспецифичных иммунных ответов является пептидная противораковая вакцинация, включающая введение ТАА, вирусных антигенов или неоантигенов для лечения рака в зависимости от природы опухоли.

В то время как антигены, ассоциированные с опухолью, обычно присутствуют и на нормальных клетках, опухолеспецифичные антигены присутствуют только на опухолевых клетках. Опухолеспецифичные антигены включают в себя антигены, полученные в результате мутаций, а также антигены, полученные из криптоических открытых рамок считывания и/или мутаций со

сдвигом рамки считывания. Такие антигены могут быть распознаны иммунной системой как чужеродные антигены и, следовательно, вызывать противоопухолевый иммунный ответ у животных-моделей опухолей и онкологических больных. Однако неоантигены с опухолеспецифичными мутациями часто требуют вакцин, разработанных специально для отдельных 5 пациентов, что является трудоемким и дорогостоящим. В последнее время все больший интерес вызывают так называемые «темные антигены», которые представляют собой пептиды, экспрессируемые специфически в опухолях, которые кодируются в областях последовательности, ранее считавшихся 10 «некодирующими», таких как 5' UTR мРНК.

В связи с этим, задачей настоящего изобретения является предоставление новых опухолевых антигенов, которые специфически экспрессируются в опухолях многих пациентов. Такие опухолевые антигены обеспечивают опухолевую специфичность, но не требуют трудоемких и дорогостоящих 15 персонализированных подходов. Задачей настоящего изобретения также является предоставление вакцин, в частности вакцин, которые могут быть использованы в гетерологичной схеме «прайм-буст», объединяющей такие опухолевые антигены с дополнительными полезными характеристиками, такими как мультиантигенный домен. Это особенно актуально, поскольку у каждого 20 человека есть разный набор молекул МНС, и представление нескольких пептидов позволяет представлять лучшие (с наивысшим сродством) пептиды в соответствующем HLA.

Эта задача решается посредством изложенного ниже объекта и прилагаемой формулы изобретения.

25 Хотя настоящее изобретение подробно описано ниже, следует понимать, что настоящее изобретение не ограничивается конкретными методологиями, протоколами и реагентами, описанными в настоящей заявке, поскольку они могут изменяться. Также следует понимать, что терминология, используемая в настоящей заявке, не предназначена для ограничения объема настоящего 30 изобретения, который будет ограничен только приложенной формулой изобретения. Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в настоящей заявке, имеют те же значения, которые обычно понимаются специалистом в данной области стандартного уровня подготовки.

Далее будут описаны элементы настоящего изобретения. Эти элементы перечислены с конкретными вариантами осуществления, однако следует понимать, что они могут быть объединены любым образом и в любом количестве для создания дополнительных вариантов осуществления. Различные описанные примеры и предпочтительные варианты осуществления не должны толковаться как ограничивающие настоящее изобретение только явно описанными вариантами осуществления. Это описание следует понимать как поддерживающее и охватывающее варианты осуществления, которые объединяют явно описанные варианты осуществления с любым количеством раскрытых и/или предпочтительных элементов. Кроме того, любые перестановки и комбинации всех описанных элементов в этой заявке следует считать раскрытыми описанием настоящей заявки, если контекст не указывает на иное.

В настоящем описании и в последующих пунктах формулы изобретения, если контекст не требует иного, термин «содержать» и его вариации, такие как «содержит» и «содержащий», будут пониматься как подразумевающие включение указанного члена, целого числа или стадии, но не исключение любого другого неуказанного члена, целого числа или стадии. Термин «состоять из» является частным воплощением термина «содержать», в котором любой другой неуказанный член, целое число или стадия исключается. В контексте настоящего изобретения термин «содержать» охватывает термин «состоять из». Термин «содержащий», таким образом, охватывает как «включающий», так и «состоящий», например, композиция «содержащая» X может состоять исключительно из X или может включать что-то дополнительное, например, X + Y.

Термины и аналогичные ссылки, используемые в контексте описания изобретения (особенно в контексте формулы изобретения), должны толковаться как охватывающие как единственное, так и множественное число, если иное не указано в настоящей заявке или явно не противоречит контексту. Перечисление диапазонов значений в настоящей заявке предназначено лишь для того, чтобы служить в качестве сокращенного метода ссылки по отдельности на каждое отдельное значение, попадающее в диапазон. Если иное не указано в настоящей заявке, каждое отдельное значение включено в описание, как если бы оно было индивидуально указано в настоящей заявке. Никакой язык в спецификации не

должен быть истолкован как указание на какой-либо не заявленный элемент, существенный для практики изобретения.

Слово «по существу» не исключает «полностью», например, композиция, которая «по существу не содержит» Y, может вообще полностью не содержать Y. При необходимости слово «по существу» может быть исключено из определения изобретения.

Термин «около» по отношению к числовому значению  $x$  означает  $x \pm 10\%$ .

В настоящем описании термины «пептид», «полипептид», «белок» и вариации этих терминов используют взаимозаменяемо. Эти термины относятся к пептидам, олигопептидам или белкам, включая белки слияния, которые содержат по меньшей мере две аминокислоты, соединенные друг с другом, предпочтительно («нормальной») пептидной связью. В качестве альтернативы аминокислоты могут быть соединены друг с другом модифицированной пептидной связью, например, в случаях изостерических пептидов. Соответственно, используемый в настоящей заявке термин «пептид» относится как к более коротким (олиго)пептидам, так и к более длинным (полипептидам) и к белкам, независимо от их длины. «Классические» пептиды, которые обычно состоят из аминокислот, выбранных из 20 аминокислот, определенных генетическим кодом, связанных друг с другом обычной пептидной связью, являются предпочтительными. Однако пептид может также содержать аминокислоты, отличные от 20 аминокислот, определенных генетическим кодом, в дополнение к этим аминокислотам, или он может состоять из аминокислот, отличных от 20 аминокислот, определенных генетическим кодом. В некоторых вариантах осуществления пептид может состоять из аминокислот, модифицированных естественными процессами, такими как процессы посттрансляционного созревания, или химическими процессами, которые хорошо известны специалисту в данной области. Модификации могут появляться в любом месте пептида: в пептидном скелете, в аминокислотной цепи или даже на карбокси- или аминоконце пептида. Соответственно, термины «пептид», «полипептид», «белок» также включают в себя модифицированные пептиды, полипептиды и белки. Например, модификация пептида может включать ацетилирование, ацилирование, АДФ-рибозилирование, амидирование, ковалентную фиксацию нуклеотида или производного нуклеотида, ковалентную фиксацию липида или липидного производного, ковалентную фиксацию

фосфатидилинозита, ковалентное или нековалентное сшивание, циклизацию, образование дисульфидных связей, деметилирование, гликозилирование, включая пегилирование, гидроксילирование, иодирование, метилирование, миристоилирование, окисление, протеолитические процессы, фосфорилирование, пренилирование, рацемизацию, сенолоилирование, сульфатирование, добавление аминокислот, такое как аргинилирование или убиквитинирование.

Используемый в настоящей заявке (т. е. по всему тексту настоящей заявки) термин «вариант последовательности» относится к любому изменению в эталонной последовательности. Термин «вариант последовательности» включает в себя варианты нуклеотидной последовательности и варианты аминокислотной последовательности. Предпочтительно, эталонная последовательность представляет собой любую из последовательностей, перечисленных в «Таблице последовательностей и номеров SEQ ID» (Перечень последовательностей), т. е. SEQ ID NO: 1 - SEQ ID NO: 51. В частности, вариант последовательности разделяет (по всей длине последовательности) по меньшей мере 70 % или по меньшей мере 75 %, предпочтительно по меньшей мере 80 % или по меньшей мере 85 %, более предпочтительно по меньшей мере 90 % или по меньшей мере 95 %, еще более предпочтительно по меньшей мере 97 % или по меньшей мере 98 %, особенно предпочтительно по меньшей мере 99 % идентичности последовательности с эталонной последовательностью. Идентичность последовательности может быть рассчитана, как описано ниже. В частности, вариант последовательности обычно сохраняет специфическую функцию эталонной последовательности. В некоторых вариантах осуществления вариант аминокислотной последовательности имеет измененную последовательность, в которой одна или несколько (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более) аминокислот в эталонной последовательности удалены или заменены, или одна или несколько (например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более) аминокислот вставлены или добавлены к последовательности эталонной аминокислотной последовательности. В результате изменений вариант аминокислотной последовательности имеет аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70 % или по меньшей мере на 75 %, предпочтительно по меньшей мере на 80 % или по меньшей мере на 85 %, более предпочтительно по меньшей мере на 90 % или по меньшей мере на 95 %, еще более

предпочтительно по меньшей мере на 97 % или по меньшей мере на 98 %, особенно предпочтительно по меньшей мере на 99 % идентична эталонной последовательности. Например, варианты последовательности, которые идентичны по меньшей мере на 90 %, имеют не более 10 изменений, т. е. любую комбинацию делеций, вставок или замен, на 100 аминокислот эталонной последовательности. То же самое, конечно, применимо и к последовательностям нуклеиновых кислот.

Для последовательностей (аминокислот или нуклеиновых кислот) без точного соответствия может быть определен «% идентичности» первой последовательности относительно второй последовательности. Как правило, эти две последовательности для сравнения могут быть выровнены для получения максимальной корреляции между последовательностями. Это может включать в себя вставку «пробелов» или в одну, или в обе последовательности для повышения степени выравнивания. Затем можно определить % идентичности по всей длине каждой из сравниваемых последовательностей (так называемое глобальное выравнивание), что особенно подходит для последовательностей одинаковой или схожей длины, или по более коротким, определенным длинам (так называемое локальное выравнивание), что больше подходит для последовательностей неравной длины. Методы сравнения идентичности и гомологии двух или более последовательностей хорошо известны в данной области. Процент, в котором две последовательности идентичны, можно определить, например, с помощью математического алгоритма. Предпочтительным, но не ограничивающим примером математического алгоритма, который можно использовать, является алгоритм Karlin и соавт. (1993), PNAS USA, 90:5873-5877. Такой алгоритм интегрирован в семейство программ BLAST, например, программу BLAST или NBLAST (см. также Altschul и соавт., 1990, J. Mol. Biol. 215, 403-410 или Altschul *и соавт.* (1997), Nucleic Acids Res, 25:3389-3402), доступную через домашнюю страницу NCBI на сайте всемирной паутины [ncbi.nlm.nih.gov](http://ncbi.nlm.nih.gov) и FASTA (Pearson (1990), Methods Enzymol. 183, 63-98; Pearson and Lipman (1988), Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A 85, 2444-2448.).

Как правило, замены одной или нескольких аминокислот, присутствующих в указанной аминокислотной последовательности, предпочтительно производятся консервативно. Примеры консервативных замен включают замену

одного алифатического остатка на другой, такой как Ile, Val, Leu или Ala друг на друга, или замены одного полярного остатка на другой, например, между Lys и Arg; Glu и Asp; или Gln и Asn. Другие такие консервативные замены, например, замены целых областей, имеющих схожие свойства гидрофобности, хорошо известны (Kyte and Doolittle, 1982, *J. Mol. Biol.* 157(1):105- 132). Замены одной или нескольких L-аминокислот на одну или несколько D-аминокислот следует рассматривать как консервативные замены в контексте настоящего изобретения. Примеры замен аминокислот представлены в таблице 1 ниже:

Исходные остатки	Примеры замен
Ala (A)	Val, Leu, Ile, Gly
Arg (R)	His, Lys
Asn (N)	Gln
Asp (D)	Glu
Cys (C)	Ser
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp
Gly (G)	Pro, Ala
His (H)	Lys, Arg
Ile (I)	Leu, Val, Met, Ala, Phe
Leu (L)	Ile, Val, Met, Ala, Phe
Lys (K)	Arg, His
Met (M)	Leu, Ile, Phe
Phe (F)	Leu, Val, Ile, Tyr, Trp, Met
Pro (P)	Ala, Gly
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr, Phe
Tyr (Y)	Trp, Phe
Исходные остатки	Примеры замен
Val (V)	Ile, Met, Leu, Phe, Ala

10 (таблица 1)

Используемый в настоящей заявке термин «антиген» представляет собой любое структурное вещество, которое служит мишенью для рецепторов адаптивного иммунного ответа, в частности, мишенью для антител, рецепторов Т-клеток и/или рецепторов В-клеток. Предпочтительно, чтобы антиген

15

представлял собой пептид (включая полипептиды и белки). «Эпитоп», также известный как «антигенная детерминанта», представляет собой часть (или фрагмент) антигена, который распознается иммунной системой, в частности, антителами, рецепторами Т-клеток и/или рецепторами В-клеток. Таким образом, один антиген имеет по меньшей мере один эпитоп, т. е. один антиген имеет один или несколько эпитопов. В контексте настоящего изобретения термин «эпитоп» в основном используется для обозначения эпитопов Т-клеток, которые представлены на поверхности антигенпредставляющей клетки, где они связаны с главным комплексом гистосовместимости (МНС). Для пептидных антигенов эпитопы Т-клеток, представленные молекулами МНС класса I, как правило, но не исключительно, представляют собой пептиды длиной от 8 до 11 аминокислот, тогда как молекулы МНС класса II представляют собой более длинные пептиды, как правило, но не исключительно, длиной от 12 до 25 аминокислот.

Термины «эпитоп CD4<sup>+</sup>» или «CD4<sup>+</sup>-ограниченный эпитоп», используемые в настоящей заявке, обозначают эпитоп, распознаваемый Т-клеткой CD4<sup>+</sup>, причем указанный эпитоп, в частности, состоит из фрагмента антигена, лежащего в бороздке молекулы МНС класса II. Одиночный эпитоп CD4<sup>+</sup> предпочтительно состоит из примерно 12 - 25 аминокислот. Он также может состоять, например, из примерно 8 - 25 аминокислот или примерно 6 - 100 аминокислот.

Термины «эпитоп CD8<sup>+</sup>» или «CD8<sup>+</sup>-ограниченный эпитоп», используемый в настоящей заявке, обозначают эпитоп, распознаваемый Т-клеткой CD8<sup>+</sup>, причем указанный эпитоп, в частности, состоит из фрагмента антигена, лежащего в бороздке молекулы МНС класса I. Одиночный эпитоп CD8<sup>+</sup> предпочтительно состоит из примерно 8 - 11 аминокислот. Он также может состоять, например, примерно из 8 - 15 аминокислот или примерно из 6 - 100 аминокислот.

В настоящей заявке «фрагмент» антигена обычно имеет минимальную длину из 8 аминокислот, т. е. фрагмент содержит по меньшей мере 8 последовательных аминокислот антигена, предпочтительно по меньшей мере 10 последовательных аминокислот антигена, более предпочтительно по меньшей мере 15 последовательных аминокислот антигена, еще более предпочтительно по меньшей мере 20 последовательных аминокислот антигена, еще более предпочтительно по меньшей мере 25 последовательных аминокислот антигена

и наиболее предпочтительно по меньшей мере 30 последовательных аминокислот антигена. Фрагмент антигена обычно содержит один или несколько эпитопов. Соответственно, фрагмент антигена обычно является иммуногенным. «Вариант последовательности» антигена (или его фрагмент) обычно имеет (аминокислотную) последовательность, которая по меньшей мере на 70 % или по меньшей мере на 75 %, предпочтительно по меньшей мере на 80 % или по меньшей мере на 85 %, более предпочтительно по меньшей мере на 90 % или по меньшей мере на 95 %, еще более предпочтительно по меньшей мере на 97 % или по меньшей мере на 98 %, особенно предпочтительно по меньшей мере на 99 % идентична эталонной последовательности. «Функциональный» вариант последовательности означает в контексте антигена/фрагмента антигена, что функция эпитопа(ов), например, входящего в состав антигена (фрагмента), не нарушена и не отменена. Другими словами, «функциональный» вариант последовательности антигена (фрагмента) является иммуногенным, предпочтительно он имеет по существу ту же иммуногенность, что и референтный антиген (фрагмент). В некоторых вариантах осуществления аминокислотная последовательность одного или нескольких эпитопов, например, входящих в состав опухолевого антигена (фрагмента), не мутирует и, таким образом, идентична (природной) эталонной последовательности эпитопа.

Понятно, что специалист в данной области обычно выбирает антиген или его фрагмент с учетом заболевания, которое необходимо лечить. Соответственно, антиген или антигенный эпитоп обычно ассоциируется с (или связан с) заболеванием, которое необходимо лечить. В данной области техники известно большое количество антигенов в контексте конкретных заболеваний. Например, для лечения опухоли/рака специалист выбирает опухолевый антиген (или его фрагмент), который пригоден для конкретного типа опухоли/рака. В некоторых вариантах осуществления пациент может быть протестирован/проверен на наличие конкретных антигенов (например, с использованием изолированного образца) для определения того, экспрессирует ли рак/опухоль конкретный антиген.

В настоящей заявке термин «опухолевый антиген» означает антиген, вырабатываемый раковыми/опухолевыми клетками. Опухолевые антигены включают опухолеассоциированные антигены и опухолеспецифические антигены. Опухолеассоциированные (также связанные с опухолью) антигены

(ТАА) представляют собой антигены, которые экспрессируются как в раковых/опухолевых клетках, так и в нормальных клетках. Опухолеспецифические антигены (TSA), напротив, представляют собой антигены, которые экспрессируются специфически раковыми/опухолевыми клетками, но не нормальными клетками. Примерами TSA являются неоантигены, которые не присутствовали в организме до развития рака/опухоли и, таким образом, являются «новыми» для иммунной системы. Неоантигены часто возникают из-за соматических мутаций. Подходящие эпитопы опухолевых антигенов можно извлечь, например, из баз данных эпитопов рака/опухоли, например, как описано в Vigneron и соавт. 2013, Cancer Immun.13:15; URL: <http://www.cancerimmunity.org/peptide/>, или из базы данных «Tantigen» (TANTIGEN version 1.0, Dec 1, 2009; разработанной Bioinformatics Core at Cancer Vaccine Center, Dana-Farber Cancer Institute; URL: <http://cvc.dfci.harvard.edu/tadb/>).

Термин «фармацевтическая композиция», используемый в настоящей заявке относится, в частности, к препаратам, которые находятся в такой форме, которая позволяет биологической активности активного ингредиента(ов) быть однозначно эффективной, и которые не содержат дополнительных компонентов, которые были бы токсичны для субъектов, которым будет вводиться указанный состав. В некоторых вариантах осуществления (фармацевтическая) композиция не содержит дополнительных активных компонентов (например, «активных» в отношении лечения рака) в дополнение к активным компонентам, описанным ниже.

Используемый в настоящей заявке термин «вакцина» относится к биологическому препарату, который обеспечивает врожденный и/или адаптивный иммунитет, как правило, к определенному заболеванию, предпочтительно раку. Таким образом, вакцина поддерживает, в частности, врожденный и/или адаптивный иммунный ответ иммунной системы субъекта, подлежащего лечению. Например, антигены или мультиантигенный домен, как описано в настоящей заявке, обычно приводят к адаптивному иммунному ответу у пациента, подлежащего лечению, или поддерживают его, а агонист пептида TLR, как описано в настоящей заявке может приводить к врожденному иммунному ответу или поддерживать его.

Термин «заболевание», используемый в настоящей заявке, в целом является синонимом и используется взаимозаменяемо с терминами «расстройство» и «состояние» (как в медицинском состоянии), поскольку все они отражают ненормальное состояние организма человека или животного или одной из его частей, которое нарушает нормальное функционирование, обычно проявляется отличительными признаками и симптомами и приводит к сокращению продолжительности или качества жизни человека или животного.

Используемая в настоящей заявке ссылка на «лечение» субъекта или пациента подразумевает профилактику, ослабление, улучшение и терапию. Термины «субъект» или «пациент» используют в настоящей заявке взаимозаменяемо и означают всех млекопитающих, включая людей. Примерами субъектов являются люди, коровы, собаки, кошки, лошади, козы, овцы, свиньи и кролики. Предпочтительно, чтобы субъектом или пациентом был человек.

#### Композиция

В первом аспекте настоящее изобретение предлагает композицию, содержащую:

(i) по меньшей мере один опухолевый антиген или его фрагмент или вариант последовательности,

где опухолевый антиген кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1), мРНК TPX2 (TPX2-uORF1) или мРНК AURKA (AURKA-uORF2);

(ii) нуклеиновую кислоту, кодирующую указанный опухолевый антиген, или фрагмент или вариант его последовательности;

(iii) антигенпредставляющую клетку (АПК), содержащую (i) или (ii); или

(iv) Т-клетку, экспрессирующую или Т-клеточный рецептор, или Т-клеточный рецептор CAR, нацеленный на указанный опухолевый антиген.

Авторы настоящего изобретения идентифицировали открытые рамки считывания (ORF) против хода транскрипции, т. е., ORF, закодированные в 5'-UTR (5'-нетранслируемой области) опухолевых антигенов, путем анализа выбранных наборов данных Ribo-seq, например, из базы данных RPFdb v.2.0 (Wang и соавт, 2019, Nucleic Acids Res. 47, D230-D234).

Таким образом, изобретатели неожиданно идентифицировали пептиды, закодированные в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах мРНК 5'-UTR KRAS (гомолог вирусного онкогена саркомы крыс

Кирстен), пептиды, закодированные в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах мРНК 5'-UTR TPX2 (белок-мишень для Xklp2) и пептиды, закодированные в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах мРНК 5'-UTR AURKA (киназа Аврора А) в качестве опухолевых антигенов. Как показано в прилагаемых примерах, было обнаружено, что такие транскрипты KRAS, TPX2 и AURKA сильно экспрессируются в опухолях в отличие от нормальной здоровой ткани. Изобретатели настоящего изобретения также обнаружили иммуногенные эпитопы в пептидах KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2 и что эпитопы, полученные из пептидов KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2, были представлены человеческими дендритными клетками в контексте МНС класса I и/или МНС класса II. Подводя итог, эти результаты подтверждают роль пептидов KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2 в качестве новых опухолеспецифических антигенов, пригодных для иммунотерапии рака.

Соответственно, настоящее изобретение обеспечивает композицию, содержащую по меньшей мере один опухолевый антиген, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1), мРНК TPX2 (TPX2-uORF1) или мРНК AURKA (AURKA-uORF2); или его фрагмент или вариант последовательности. Опухолевый антиген обычно представляет собой пептидный опухолевый антиген. Эти опухолевые антигены (т. е. на пептидном уровне) также упоминаются в настоящей заявке как «KRAS-uORF1», «TPX2-uORF1» и «AURKA-uORF2», соответственно. Специалист в данной области сразу отличит из каждого контекста, относятся ли они к нуклеотиду или к пептиду.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит

- опухолевый антиген или его фрагмент или вариант последовательности, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1),
- опухолевый антиген или его фрагмент или вариант последовательности, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК TPX2 (TPX2-uORF1), и/или
- опухолевый антиген или его фрагмент или вариант последовательности, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК AURKA (AURKA-uORF2).

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит опухолевый антиген, закодированный в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1), содержит (или состоит из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 или 2. Композиция может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т.е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1. Композиция может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп).

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит опухолевый антиген, закодированный в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК TPX2 (TPX2-uORF1) содержит (или состоит из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3 или 4. Композиция может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3. Композиция может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности,

имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4.

5 Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп).

10 В некоторых вариантах осуществления композиция содержит опухолевый антиген, закодированный в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК AURKA (AURKA-uORF2) содержит (или состоит из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5. Композиция может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т.е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот  
15 или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5. Функциональность в качестве опухолевого  
20 антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп).

В дополнение к опухолевым антигенам, описанным выше, композиция может дополнительно содержать по меньшей мере один опухолевый антиген,  
25 выбранный из группы, включающей в себя CEACAM5 (или его фрагмент или вариант последовательности, как определено выше), DUOXA2 (или его фрагмент или вариант последовательности, как определено выше) и KRAS (или его фрагмент или вариант последовательности, как определено выше). В отличие от опухолевых антигенов, закодированных в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR, как описано выше, дополнительные  
30 антигены CEACAM5, DUOXA2 и KRAS, как указано в настоящей заявке, являются опухолевыми антигенами, которые закодированы в («классической») кодирующей последовательности (CDS) мРНК (т.е. не в «нетранслируемой» области/UTR).

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит фрагмент CEACAM5 (молекула клеточной адгезии, связанная с раковым эмбриональным антигеном 5), который может содержать (или состоять из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 6. Композиция может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп).

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит фрагмент CEACAM5, который может содержать (или состоять из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 7. Композиция может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т.е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 7. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп).

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит фрагмент CEACAM5, который может содержать (или состоять из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 8. Композиция может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т.е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп).

90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп).

В некоторых вариантах осуществления фрагменты SEACAM5, как описано выше, могут быть связаны друг с другом (в частности, как слитый пептид/белок). Соответственно, композиция может содержать (слитый) пептид, содержащий (или состоящий из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9. Композиция может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т.е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп).

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит фрагмент DUOXA2 (фактор созревания двойной оксидазы 2), который может содержать (или состоять из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10. Композиция может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т.е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп).

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит фрагмент KRAS. Поскольку мутации KRAS распространены при раке, фрагмент KRAS предпочтительно включает мутацию. Мутация KRAS может возникать, например, в G12, G13 или Q61 KRAS. Соответственно, фрагмент KRAS может включать положения G12, G13 и/или Q61 KRAS, при этом предпочтительно по меньшей мере один из аминокислотных остатков в этих положениях заменен. Предпочтительно, фрагмент KRAS включает замену в G12. Неограничивающие примеры таких замен включают в себя G12D, G12V, G12C, G12A и G12R. Предпочтительно, фрагмент KRAS включает положение G12 KRAS с заменой G12D или G12V. Соответственно, KRAS или его фрагмент предпочтительно представляет собой KRAS-G12D или его фрагмент, или KRAS-G12V или его фрагмент (где фрагмент включает положение G12 KRAS и соответствующую замену).

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит фрагмент KRAS, который может содержать (или состоять из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или 12. Композиция может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11. Композиция может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп).

Предпочтительно композиция содержит различные опухолевые антигены, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит (ровно или по меньшей мере) два различных опухолевых антигена, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит (ровно или по меньшей мере) три различных опухолевых антигена, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит (ровно или по меньшей мере) четыре различных опухолевых антигена, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит (ровно или по меньшей мере) пять различных опухолевых антигена, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит все из шести различных опухолевых антигенов, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. Мультиантигенная вакцина позволит (i) избежать разрастания вариантов с потерей антигена, (ii) воздействовать на различные опухолевые клетки в гетерогенной опухолевой массе и (iii) обойти вариабельность опухоли от пациента к пациенту.

Предпочтительно композиция содержит различные опухолевые антигены, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS-G12D, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит различные опухолевые антигены, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS-G12V, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит различные опухолевые антигены, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS-G12D, KRAS-G12V, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2.

Предпочтительно опухолевый антиген, выбранный из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2, или их фрагмент или вариант последовательности, содержит эпитоп CD4<sup>+</sup> и/или CD8<sup>+</sup>.

В некоторых вариантах осуществления композиция в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере один эпитоп CD4<sup>+</sup> и по меньшей мере один эпитоп CD8<sup>+</sup>, которые могут быть включены в те же или разные опухолевые антигены (или их фрагменты или варианты). T<sub>h</sub>-клетки (T-клетки CD4<sup>+</sup>) играют главную роль в противоопухолевом иммунном ответе как в лицензировании DC (дендритных клеток), так и в рекрутинге и поддержании CTL (T-клетки CD8<sup>+</sup>, цитотоксические T-лимфоциты) в месте опухоли. Поэтому композиция в соответствии с настоящим изобретением, содержащая по меньшей мере один эпитоп CD4<sup>+</sup> и по меньшей мере один эпитоп CD8<sup>+</sup>, обеспечивает интегрированный иммунный ответ, позволяющий одновременное праймирование CTL и T<sub>h</sub>-клеток, и таким образом, является предпочтительнее иммунитета только против эпитопов CD8<sup>+</sup> или только эпитопов CD4<sup>+</sup>.

Предпочтительно композиция содержит (i) различные опухолевые антигены, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2; и (ii) различные эпитопы CD4<sup>+</sup> и различные эпитопы CD8<sup>+</sup>. Такая композиция индуцирует мультиэпитопные CD8<sup>+</sup> CTL и CD4<sup>+</sup> T<sub>h</sub>-клетки для синергического функционирования, чтобы противодействовать опухолевым клеткам и содействовать эффективному противоопухолевому иммунитету. T<sub>h</sub>-клетки также участвуют в поддержании длительного клеточного иммунитета, который отслеживали после вакцинации. Такая композиция индуцирует поликлональные, мультиэпитопные иммунные ответы и полифункциональные T-клетки CD8<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>, и, таким образом, эффективную противоопухолевую активность.

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит опухолевый антиген, содержащий по меньшей мере одну из аминокислотной последовательности, где аминокислотная последовательность представляет собой:

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %

или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11;

5 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12;

10 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, или аминокислотную последовательность  
15 согласно SEQ ID NO: 2, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2;

20 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной  
25 последовательностью SEQ ID NO: 3, или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 4, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности  
30 с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %

или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5;

5 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9; и/или

10 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10.

15 В некоторых вариантах осуществления композиция содержит

- опухолевый антиген, содержащий (или состоящий из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 20 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11;

- опухолевый антиген, содержащий (или состоящий из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12, или её вариант 25 последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12;

30 - опухолевый антиген, содержащий (или состоящий из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %

или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, или опухолевый антиген, содержащий (или состоящий из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 2, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2;

5  
10  
15  
20  
- опухолевый антиген, содержащий (или состоящий из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3, или опухолевый антиген, содержащий (или состоящий из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 4, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4;

25  
- опухолевый антиген, содержащий (или состоящий из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5;

30  
- опухолевый антиген, содержащий (или состоящий из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %

или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9; и/или

5 - опухолевый антиген, содержащий (или состоящий из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10.

10 Понятно, что опухолевые антигены (или их фрагменты или варианты) предпочтительно содержатся в композиции в виде пептидов, как описано выше. Альтернативно (или дополнительно) композиция может содержать нуклеиновую кислоту, кодирующую опухолевый антиген (или его фрагмент или вариант), как описано выше.

15 Нуклеиновые кислоты предпочтительно включают одноцепочечные, двуцепочечные или частично двуцепочечные нуклеиновые кислоты, предпочтительно выбранные из геномной ДНК, кДНК, РНК, миРНК, антисмысловой ДНК, антисмысловой РНК, рибозима, комплементарных последовательностей РНК/ДНК с элементами экспрессии или без них, мини-гена, фрагментов генов, регуляторных элементов, промоторов и их комбинаций. Дополнительные предпочтительные примеры (молекул) нуклеиновой кислоты и/или полинуклеотидов включают, например, рекомбинантный полинуклеотид, вектор, олигонуклеотид, молекулу РНК, такую как рРНК, мРНК, микроРНК, миРНК или тРНК, или молекулу ДНК, как описано выше. Таким образом, 20 предпочтительно, чтобы (молекула) нуклеиновой кислоты представляла собой молекулу ДНК или молекулу РНК; предпочтительно выбранную из геномной ДНК; кДНК; миРНК; рРНК; мРНК; антисмысловой ДНК; антисмысловой РНК; рибозима; комплементарных последовательностей РНК и/или ДНК; последовательностей РНК и/или ДНК с элементами экспрессии, регуляторными 25 элементами и/или промоторами или без них; вектора; и их комбинаций. 30

В некоторых вариантах осуществления композиция содержит:

- нуклеиновую кислоту, кодирующую KRAS-uORF1, нуклеиновую кислоту, предпочтительно содержащую полинуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 37, или её вариант последовательности, имеющий по

меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 37;

5           - нуклеиновую кислоту, кодирующую TPX2-uORF1, нуклеиновую кислоту, предпочтительно содержащую полинуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 38, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 10       93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 38;

          - нуклеиновую кислоту, кодирующую AURKA-uORF2, нуклеиновую кислоту, предпочтительно содержащую полинуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 39, или её вариант последовательности, имеющий по 15       меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 39;

          - нуклеиновую кислоту, кодирующую фрагмент CEACAM5, 20       нуклеиновую кислоту, предпочтительно содержащую полинуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 40, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % 25       или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 40;

          - нуклеиновую кислоту, кодирующую фрагмент CEACAM5, нуклеиновую кислоту, предпочтительно содержащую полинуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 41, или её вариант 30       последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 41;

5 - нуклеиновую кислоту, кодирующую фрагмент CEACAM5, нуклеиновую кислоту, предпочтительно содержащую полинуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 42, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 42;

10 - нуклеиновую кислоту, кодирующую фрагмент DUOXA2, нуклеиновую кислоту, предпочтительно содержащую полинуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 43, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 43;

20 - нуклеиновую кислоту, кодирующую фрагмент KRAS-G12D, нуклеиновую кислоту, предпочтительно содержащую полинуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 44, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 44; и/или

25 - нуклеиновую кислоту, кодирующую фрагмент KRAS-G12V, нуклеиновую кислоту, предпочтительно содержащую полинуклеотидную последовательность согласно SEQ ID NO: 45, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 45.

30 Композиция может содержать одну или несколько молекул нуклеиновой кислоты, кодирующих различные опухолевые антигены (или их фрагменты или варианты), как описано выше, например, 2, 3, 4, 5 или все 6 опухолевых

антигенов (или их фрагменты или варианты), как описано выше. Различные опухолевые антигены (или их фрагменты или варианты), как описано выше, могут кодироваться одной и той же молекулой нуклеиновой кислоты (например, полицистронным образом) или в различных молекулах нуклеиновой кислоты.

5           Альтернативно (или дополнительно) композиция может содержать антигенпредставляющую клетку (АПК), содержащую (i) опухолевый антиген (или его фрагмент или вариант), как описано выше, или (ii) нуклеиновую кислоту, как описано выше, кодирующую опухолевый антиген (или его фрагмент или вариант). В некоторых вариантах осуществления  
10 антигенпредставляющая клетка (АПК) может быть дендритной клеткой (DC).

В некоторых вариантах осуществления АПК может быть загружена опухолевым антигеном (или его фрагментом или вариантом), как описано выше, так что АПК может представлять один или несколько эпитопов опухолевого антигена (или его фрагмента или варианта).

15           Композиция может содержать различные антигенпредставляющие клетки, содержащие (i) различные опухолевые антигены (или их фрагменты или варианты); или (ii) различные молекулы нуклеиновых кислот, как описано выше. Однако одна АПК может также содержать (i) различные опухолевые антигены (или их фрагменты или варианты); или (ii) различные молекулы нуклеиновых  
20 кислот, как описано выше.

Альтернативно (или дополнительно) композиция может содержать Т-клетку, экспрессирующую либо Т-клеточный рецептор, либо Т-клеточный рецептор CAR, нацеленный на опухолевые антигены (или их фрагменты или варианты), как описано выше. В некоторых вариантах осуществления  
25 композиция может содержать разные Т-клетки, каждая из которых экспрессирует разный Т-клеточный рецептор или Т-клеточный рецептор CAR, нацеленный на разный опухолевый антиген (или их фрагменты или варианты), как описано выше.

Как правило, композиция может быть фармацевтической композицией  
30 и/или вакциной. В частности, такая композиция предпочтительно является (фармацевтической) композицией, которая необязательно содержит фармацевтически приемлемый носитель и/или лекарственную основу, или любое вспомогательное вещество, буфер, стабилизатор или другие материалы, хорошо известные специалистам в данной области.

В качестве дополнительного ингредиента (фармацевтическая) композиция может, в частности, содержать фармацевтически приемлемый носитель и/или лекарственную основу. В контексте настоящего изобретения фармацевтически приемлемый носитель обычно включает жидкую или нежидкую основу (фармацевтической) композиции. Если (фармацевтическая) композиция представлена в жидкой форме, то носителем обычно будет апиrogenная вода; изотонический солевой раствор или забуференные (водные) растворы, например, фосфатные, цитратные и т. д. забуференные растворы. В частности, для инъектирования (фармацевтической) композиции может быть использована вода или предпочтительно буфер, более предпочтительно водный буфер, содержащий натриевую соль, предпочтительно по меньшей мере 30 мМ натриевой соли, кальциевой соли, предпочтительно по меньшей мере 0,05 мМ кальциевой соли, и необязательно калиевую соль, предпочтительно по меньшей мере 1 мМ калиевой соли. Согласно предпочтительному варианту осуществления соли натрия, кальция и, необязательно, калия могут находиться в форме их галогенидов, например, хлоридов, иодидов или бромидов, в форме их гидроксидов, карбонатов, гидрокарбонатов или сульфатов и т. д. Не ограничиваясь этим, примеры солей натрия включают в себя, например, NaCl, NaI, NaBr, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaHCO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, примеры необязательных солей калия включают в себя, например, KCl, KI, KBr, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, KHCO<sub>3</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, и примеры солей кальция включают в себя, например, CaCl<sub>2</sub>, CaI<sub>2</sub>, CaBr<sub>2</sub>, CaCO<sub>3</sub>, CaSO<sub>4</sub>, Ca(OH)<sub>2</sub>. Кроме того, в буфере могут содержаться органические анионы вышеупомянутых катионов. Согласно более предпочтительному варианту осуществления, буфер, подходящий для инъекционных целей, как определено выше, может содержать соли, выбранные из хлорида натрия (NaCl), хлорида кальция (CaCl<sub>2</sub>) и необязательно хлорида калия (KCl), где могут присутствовать другие анионы в дополнение к хлоридам. CaCl<sub>2</sub> также может быть заменен другой солью, такой как KCl. Обычно соли в инъекционном буфере присутствуют в концентрации не менее 30 мМ хлорида натрия (NaCl), по меньшей мере 1 мМ хлорида калия (KCl) и по меньшей мере 0,05 мМ хлорида кальция (CaCl<sub>2</sub>). Инъекционный буфер может быть гипертоническим, изотоническим или гипотоническим относительно конкретной эталонной среды, т. е. буфер может иметь более высокое, одинаковое или более низкое содержание соли относительно конкретной эталонной среды, при этом предпочтительно могут быть использованы такие

концентрации вышеупомянутых солей, которые не приводят к повреждению клеток из-за осмоса или других эффектов концентрации. Эталонными средами являются, например, жидкости, встречающиеся в методах «*in vivo*», такие как кровь, лимфа, цитозольные жидкости или другие жидкости организма, или, например, жидкости, которые могут использоваться в качестве эталонных сред в методах «*in vitro*», такие как обычные буферы или жидкости. Подобные обычные буферы или жидкости известны специалисту в данной области техники. В качестве жидкой основы особенно предпочтительны физиологический раствор (0,9 % NaCl) и раствор Рингера лактат. В некоторых вариантах осуществления (фармацевтическая) композиция дополнительно содержит аргинин, такой как L-аргинин.

В этом контексте назначение лечения, например, принятие решений о дозировке и т. д. при использовании вышеуказанной (фармацевтической) композиции, как правило, входит в компетенцию врачей общей практики и других врачей и обычно учитывает расстройство, подлежащее лечению, состояние конкретного пациента, место доставки, способ введения и другие факторы, известные практикующим врачам. Соответственно, (фармацевтическая) композиция, как правило, содержит терапевтически эффективное количество активных компонентов (опухолевого антигена(ов)). (Фармацевтическая) композиция может быть использована для человеческих и также для ветеринарных медицинских целей, предпочтительно для человеческих медицинских целей, как (фармацевтическая) композиция в целом или как вакцина.

Примеры подходящих адьювантов и/или иммуномодулирующих материалов в контексте настоящего изобретения включают в себя MPL® (Cogiha), минералы на основе алюминия, включая соединения алюминия (в общем называемые Alum), ASO1-4, MF59, фосфат кальция, липосомы, Iscom, полиинозиновую:

полицитидиловую кислоту (polyIC), включая ее стабилизированную форму poly-ICLC (Hiltonol), олигодезоксинуклеотиды CpG, колониестимулирующий фактор гранулоцитов-макрофагов (GM-CSF), липополисахарид (LPS), Montanide, полилактид ко-гликолид (PLG), Flagellin, сапонины коры мыльного дерева (QS21), аминокилглюкозамидные соединения (например, RC529), двухкомпонентные антибактериальные пептиды с синтетическими

олигодезоксинуклеотидами (например, IC31), Imiquimod, Resiquimod, иммуностимулирующие последовательности (ISS), монофосфориллипид А (MPLA) и липопептид, стимулирующий фибробласты (FSL1).

5       Дополнительные материалы, а также методы обработки составов и т. п.,  
которые пригодны в контексте композиций, в частности, фармацевтических  
композиций и вакцин, или в контексте их приготовления, известны специалисту  
в данной области техники.

#### Пептид

10       В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к пептиду,  
содержащему:

а) проникающий в клетку пептид;

б) мультиантигенный домен, содержащий по меньшей мере один  
опухолевый антиген или его фрагмент или вариант последовательности,

15       где опухолевый антиген кодируется в направлении 5' открытой рамки  
считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1), мРНК TPX2  
(TPX2-uORF1) или мРНК AURKA (AURKA-uORF2); и

в) агонист пептида TLR.

20       В пептиде, предлагаемом в настоящем изобретении, компоненты а) – с)  
ковалентно связаны, обычно пептидной связью. Соответственно, указанный  
пептид является рекомбинантным пептидом (не встречающимся в природе) или  
«слитым» пептидом (в котором компоненты а) – с) «слиты» друг с другом).

25       Такой пептид обеспечивает одновременную (i) стимуляцию  
мультиэпитопного цитотоксического иммунитета, опосредованного Т-клетками,  
(ii) индукцию Т<sub>H</sub>-клеток и (iii) стимулирование иммунологической памяти.  
Таким образом, пептид в соответствии с настоящим изобретением обеспечивает  
сильнодействующую вакцину, в частности, имеющую улучшенную  
противоопухолевую активность.

#### Мультиантигенный домен

30       Пептид в соответствии с изобретением содержит мультиантигенный домен.  
Используемый в настоящей заявке термин «мультиантигенный домен» относится  
к домену, такому как пептид, содержащий по меньшей мере два (например, 2, 3,  
4, 5, 6, 7, 8, 9 или большее количество) отдельных антигена или фрагмента по  
меньшей мере двух (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или большее количество)  
отдельных антигенов. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный

домен содержит три или большее количество различных антигенов или их фрагментов, в частности 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или большее количество различных антигенов или их фрагментов. Предпочтительно «мультиантигенный домен» содержит (фрагменты) по меньшей мере двух (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или  
5 большее количество) отдельных антигенов, где каждый фрагмент или антиген содержит по меньшей мере один антигенный эпитоп. Более предпочтительно «мультиантигенный домен» содержит (фрагменты) по меньшей мере от двух до восьми отдельных антигенов, где каждый фрагмент/антиген содержит по меньшей мере один антигенный эпитоп. Еще более предпочтительно  
10 «мультиантигенный домен» содержит (фрагменты) пяти или шести отдельных антигенов, где каждый фрагмент содержит по меньшей мере один антигенный эпитоп.

В частности, различные (фрагменты) антигенов расположены последовательно в мультиантигенном домене. В некоторых вариантах  
15 осуществления различные (фрагменты) антигенов связаны друг с другом, например, пептидным спейсером или линкером (например, GS-линкером). Спейсер или линкер обычно не является ни компонентом а), т. е. проникающим в клетку пептидом, ни компонентом с), т. е. агонистом пептида TLR. В других вариантах осуществления различные (фрагменты) антигенов напрямую связаны  
20 друг с другом, т. е. без спейсера или линкера.

В некоторых вариантах осуществления каждый антиген или его фрагмент в мультиантигенном домене содержит по меньшей мере один эпитоп CD4<sup>+</sup> и/или по меньшей мере один эпитоп CD8<sup>+</sup>, которые могут быть включены в те же или  
25 разные опухолевые антигены (или их фрагменты или варианты). T<sub>h</sub>-клетки (T-клетки CD4<sup>+</sup>) играют главную роль в противоопухолевом иммунном ответе как в лицензировании DC (дендритных клеток), так и в рекрутинге и поддержании CTL (T-клетки CD8<sup>+</sup>, цитотоксические T-лимфоциты) в месте опухоли. Поэтому мультиантигенный домен, содержащий по меньшей мере один эпитоп CD4<sup>+</sup> и по  
30 меньшей мере один эпитоп CD8<sup>+</sup>, обеспечивает интегрированный иммунный ответ, позволяющий одновременное праймирование CTL и T<sub>h</sub>-клеток, и таким образом, является предпочтительнее иммунитета только против эпитопов CD8<sup>+</sup> или только эпитопов CD4<sup>+</sup>.

Мультиантигенный домен пептида содержит по меньшей мере один опухолевый антиген, который кодируется в направлении 5' открытой рамки

считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1), мРНК TPX2 (TPX2-uORF1) или мРНК AURKA (AURKA-uORF2); или его фрагмент или вариант последовательности, как определено выше. Опухолевый антиген обычно представляет собой пептидный опухолевый антиген. Эти опухолевые антигены (т. е. на уровне пептидов) также упоминаются в настоящей заявке как «KRAS-uORF1», «TPX2-uORF1» и «AURKA-uORF2», соответственно. Специалист в данной области сразу определит из каждого контекста, относятся ли они к нуклеотиду и/или к пептиду.

- В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит:
- 10 - опухолевый антиген или его фрагмент или вариант последовательности, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1),
  - опухолевый антиген или его фрагмент или вариант последовательности, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК TPX2 (TPX2-uORF1) и/или
  - 15 - опухолевый антиген или его фрагмент или вариант последовательности, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК AURKA (AURKA-uORF2).

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит

20 опухолевый антиген, закодированный в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1) содержит (или состоит из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 или 2. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий

25 минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1.

30 Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т.е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1.

90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 или 2, или её вариант последовательности.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит опухолевый антиген, закодированный в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК TPX2 (uORF- TPX2) содержит (или состоит из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3 или 4. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3 или 4, или её вариант последовательности.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит опухолевый антиген, закодированный в направлении 5' открытой рамки

считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК AURKA (AURKA-uORF2) содержит (или состоит из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5.

5

10

15

Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5, или её вариант последовательности.

В дополнение к опухолевым антигенам, описанным выше, мультиантигенный домен может дополнительно содержать по меньшей мере один опухолевый антиген, выбранный из группы, включающей в себя CEACAM5 (или его фрагмент или вариант последовательности, как определено выше), DUOXA2 (или его фрагмент или вариант последовательности, как определено выше) и KRAS (или его фрагмент или вариант последовательности, как определено выше).

20

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (фрагмент) CEACAM5 (Молекула клеточной адгезии, связанная с раковым эмбриональным антигеном 5), который может содержать (или состоять из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 6. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т.е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 6.

25

30

Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно

сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 6 или её вариант последовательности.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (фрагмент) SEACAM5, который может содержать (или состоять из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 7. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 7. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 7 или её вариант последовательности.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (фрагмент) SEACAM5, который может содержать (или включать в себя) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 8. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т.е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 8. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей

мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 8 или её вариант последовательности.

5 В некоторых вариантах осуществления фрагменты CEACAM5, как описано выше, могут быть связаны друг с другом (в частности, в виде слитого пептида/белка). Соответственно, мультиантигенный домен может содержать (слитый) пептид, содержащий (или состоящий из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено 10 выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной 15 последовательностью SEQ ID NO: 9. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную 20 последовательность согласно SEQ ID NO: 9 или её вариант последовательности.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (фрагмент) DUOXA2 (фактор созревания двойной оксидазы 2), который может содержать (или состоять из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или 25 вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности 30 последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно

содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10 или её вариант последовательности.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (фрагмент) KRAS. Поскольку мутации KRAS распространены при раке, (фрагмент) KRAS предпочтительно включает мутацию. Мутация KRAS может возникать, например, в G12, G13 или Q61 KRAS. Соответственно, фрагмент KRAS может включать положения G12, G13 и/или Q61 KRAS, при этом предпочтительно по меньшей мере один из аминокислотных остатков в этих положениях заменен. Предпочтительно фрагмент KRAS включает замену в G12. Неограничивающие примеры таких замен включают в себя G12D, G12V, G12C, G12A и G12R. Предпочтительно фрагмент KRAS включает положение G12 KRAS с заменой G12D или G12V. Соответственно, KRAS или его фрагмент предпочтительно представляет собой KRAS-G12D или его фрагмент, или KRAS-G12V или его фрагмент (где фрагмент включает положение G12 KRAS и соответствующую замену).

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит фрагмент KRAS, который может содержать (или состоять из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или 12. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант

последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или 12, или её вариант последовательности.

5 Соответственно, мультиантигенный домен может содержать по меньшей мере одну аминокислотную последовательность, выбранную из группы, включающей в себя:

10 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9;

15 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12;

20 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11;

25 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 2, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2;

93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2;

5 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3, или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 4, или её вариант последовательности, имеющий по 10 меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4;

15 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5; или

20 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной 25 последовательностью SEQ ID NO: 10.

Предпочтительно мультиантигенный домен содержит различные опухолевые антигены или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (ровно 30 или по меньшей мере) два различных опухолевых антигена, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (ровно или по меньшей мере) три различных опухолевых антигена, или их фрагменты или варианты, выбранные из

CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (ровно или по меньшей мере) четыре различных опухолевых антигена, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (ровно или по меньшей мере) пять различных опухолевых антигена, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит все из шести различных опухолевых антигенов, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. Мультиантигенная вакцина позволит (i) избежать разрастания вариантов с потерей антигена, (ii) воздействовать на различные опухолевые клетки в гетерогенной опухолевой массе и (iii) обойти вариабельность опухоли от пациента к пациенту.

Предпочтительно мультиантигенный домен содержит различные опухолевые антигены или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS-G12D, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит различные опухолевые антигены, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS-G12V, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления композиция содержит различные опухолевые антигены, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS-G12D, KRAS-G12V, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2.

Предпочтительно опухолевый антиген, выбранный из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2 или их фрагмент или вариант последовательности содержит эпитоп CD4<sup>+</sup> и/или CD8<sup>+</sup>. Предпочтительно мультиантигенный домен содержит (i) различные опухолевые антигены или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2; и (ii) различные эпитопы CD4<sup>+</sup> и различные эпитопы CD8<sup>+</sup>. Пептид, содержащий такой мультиантигенный домен, индуцирует мультиэпитопные CTL CD8<sup>+</sup> и T<sub>H</sub>-клетки CD4<sup>+</sup> для синергического функционирования, чтобы противодействовать опухолевым

клеткам и содействовать эффективному противоопухолевому иммунитету. Т<sub>h</sub>-клетки также участвуют в поддержании длительного клеточного иммунитета, который отслеживали после вакцинации. Пептид, содержащий такой мультиантигенный домен, индуцирует поликлональные, мультиэпитопные иммунные ответы и полифункциональные Т-клетки CD8<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>, и таким образом, эффективную противоопухолевую активность.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит, предпочтительно в направлении от N- к С-концу:

- CEACAM5 или его фрагмент или вариант последовательности,
- KRAS или его фрагмент или вариант последовательности,
- KRAS-uORF1 или его фрагмент или вариант последовательности,
- TPX2-uORF1 или его фрагмент или вариант последовательности,
- AURKA-uORF2 или его фрагмент или вариант последовательности, и
- DUOXA2 или его фрагмент или вариант последовательности.

Предпочтительно мультиантигенный домен содержит, предпочтительно в направлении от N- к С-концу:

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11, и/или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12;



Более предпочтительно мультиантигенный домен содержит (или состоит из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 13 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13. Также более предпочтительно, если мультиантигенный домен содержит (или состоит из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 14, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14.

#### 15 Проникающий в клетку пептид

Проникающий в клетку пептид (СРР) обеспечивает эффективную доставку, т. е. транспортировку и загрузку, в частности, мультиантигенного домена, в антигенпредставляющие клетки (АПК), в частности, в дендритные клетки (ДК) и таким образом, в механизм обработки антигена дендритными клетками.

20 Термин «проникающий в клетку пептид» («СРР») обычно используют для обозначения коротких пептидов, которые способны транспортировать различные типы молекул груза через плазматическую мембрану и, таким образом, облегчать поглощение клеткой различных молекулярных грузов (от наноразмерных частиц до небольших химических молекул и крупных фрагментов ДНК). «Клеточная интернализация» молекулы груза, связанной с  
25 проникающим в клетку пептидом, обычно означает транспорт молекулы груза через плазматическую мембрану и, таким образом, проникновение молекулы груза в клетку. В зависимости от конкретного случая, молекула груза затем может быть высвобождена в цитоплазму, направлена во внутриклеточную  
30 органеллу или далее представлена на поверхности клетки. Способность проникать в клетки или интернализацию проникающего в клетку пептида или пептида (содержащего указанный проникающий в клетку пептид) в соответствии с изобретением можно проверить стандартными методами, известными специалисту в данной области, включая проточную цитометрию или

флуоресцентную микроскопию живых и фиксированных клеток, иммуноцитохимию клеток, трансдуцированных указанным пептидом, и вестерн-блоттинг.

Обычно проникающие в клетки пептиды (СРР) имеют длину от 8 до 50  
5 остатков. Проникающие в клетки пептиды обычно имеют аминокислотный  
состав, который либо содержит высокое относительное обилие положительно  
заряженных аминокислот, таких как лизин или аргинин, либо имеют  
последовательность, которая содержит чередующийся паттерн  
10 полярных/заряженных аминокислот и неполярных, гидрофобных аминокислот.  
Эти два типа структур называются поликатионными или амфипатическими  
соответственно. Проникающие в клетки пептиды имеют разные размеры,  
аминокислотные последовательности и заряды, но все СРР имеют общую  
характеристику, которая заключается в способности транслоцировать  
плазматическую мембрану и облегчать доставку различных молекулярных  
15 грузов в цитоплазму или органеллу клетки. Проникающие в клетки пептиды  
нашли многочисленные применения в медицине в качестве средств доставки  
лекарственных средств при лечении различных заболеваний, включая рак и  
ингибиторы вирусов, а также в качестве контрастных средств для мечения и  
визуализации клеток. Различные СРР, которые могут быть использованы в  
20 качестве проникающего в клетку пептида, т. е. в качестве компонента а), в  
пептиде в соответствии с настоящим изобретением, также раскрыты в обзоре:  
Milletti, F., Cell-penetrating peptides: classes, origin, and current landscape. Drug  
Discov Today 17 (15-16): 850-60, 2012.

Предпочтительно проникающий в клетку пептид, содержащийся в пептиде  
25 согласно настоящему изобретению, имеет аминокислотную последовательность,  
содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности согласно  
SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22 или SEQ ID NO: 23, или  
представляет собой её вариант последовательности, как описано выше.

В некоторых вариантах осуществления проникающий в клетку пептид в  
30 соответствии с изобретением имеет аминокислотную последовательность,  
содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 15, или её вариант  
последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности  
последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %

или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 15.

В некоторых вариантах осуществления проникающий в клетку пептид в соответствии с изобретением имеет аминокислотную последовательность, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 21, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 21.

В некоторых вариантах осуществления проникающий в клетку пептид в соответствии с изобретением имеет аминокислотную последовательность, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 22, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 22.

В некоторых вариантах осуществления проникающий в клетку пептид в соответствии с изобретением имеет аминокислотную последовательность, содержащую или состоящую из SEQ ID NO: 23, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 23.

Эти проникающие в клетки пептиды получены из белка «ZEBRA» вируса Эпштейна-Барр (EBV). «ZEBRA» (также известный как Zta, Z, EB1 или BZLF1) обычно относится к активатору транскрипции основной лейциновой молнии (bZIP) вируса Эпштейна-Барр (EBV). Не привязываясь к какой-либо теории, предполагают, что эти проникающие в клетки пептиды способствуют как ограниченному по МНС I и II классу представлению антигенов-грузов Т-клеткам CD8<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>, соответственно. Поэтому такой CPP может доставлять мультиэпитопные пептиды дендритные клетки (DC) и впоследствии

способствовать активации CTL и Th-клеток и противоопухолевой функции. Таким образом, такой CPP может эффективно доставлять пептид в соответствии с настоящим изобретением в антигенпредставляющие клетки (АПК) и приводить к ограниченному по МНС I и II классу представлению.

5 Предпочтительно проникающий в клетку пептид имеет аминокислотную последовательность, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 15, или представляет собой её вариант последовательности, как описано выше.

10 Специалисту в данной области будет понятно, что первичная аминокислотная последовательность проникающего в клетку пептида может быть дополнительно модифицирована посттрансляционно, например, путем гликозилирования или фосфорилирования, не выходя за рамки объема изобретения.

15 В некоторых вариантах осуществления проникающий в клетку пептид, необязательно дополнительно содержит, в дополнение к своей аминокислотной последовательности, как описано выше, любой из или любую комбинацию из:

(i) ядерного локализационного сигнала (NLS). Такие сигналы хорошо известны специалисту в данной области техники и описаны в Naig и соавт. (2003, *Nucleic Acids Res.* 31(1): 397–399); и/или

20 (ii) нацеливающего пептида, включая пептиды самонаведения на опухоль, такие как описаны в Кароог и соавт. (2012, *PLoS ONE* 7(4): e35187).

Предпочтительно, чтобы проникающий в клетку пептид был (напрямую) связан с мультиантигенным доменом и способствовал клеточной интернализации мультиантигенного домена.

### 25 Агонист пептида TLR

В пептиде в соответствии с настоящим изобретением агонист пептида TLR обеспечивает повышенную направленность вакцины на дендритные клетки вместе с самоадьюванностью. Физическая связь агониста пептида TLR с CPP и по меньшей мере одним антигеном или антигенным эпитопом в пептиде в соответствии с настоящим изобретением обеспечивает усиленный иммунный ответ путем одновременной стимуляции антигенпредставляющих клеток, в частности, дендритных клеток, которые интернализуют, метаболизируют и демонстрируют антиген(ы).

Используемый в настоящей заявке «агонист пептида TLR» представляет собой агонист Toll-подобного рецептора (TLR), т. е., он связывается с TLR и активирует TLR, в частности, для получения биологического ответа. Более того, агонист пептида TLR представляет собой пептид, как определено выше.

5 Предпочтительно агонист пептида TLR содержит от 10 до 150 аминокислот, более предпочтительно от 15 до 130 аминокислот, еще более предпочтительно от 20 до 120 аминокислот, особенно предпочтительно от 25 до 110 аминокислот и наиболее предпочтительно от 30 до 100 аминокислот.

10 Toll-подобные рецепторы (TLR) представляют собой трансмембранные белки, которые характеризуются внеклеточными, трансмембранными и цитозольными доменами. Внеклеточные домены, содержащие богатые лейцином повторы (LRR) подковообразной формы, участвуют в распознавании общих молекулярных паттернов, полученных от различных микробов. Toll-подобные рецепторы включают TLRs1 - 10. Соединения, способные активировать

15 рецепторы TLR, а также их модификации и производные, хорошо задокументированы в данной области. TLR1 может активироваться бактериальными липопротеинами и их ацетилированными формами, TLR2 может дополнительно активироваться грамположительными бактериальными гликолипидами, LPS, LP A, LTA, фимбриями, белками внешней мембраны,

20 белками теплового шока из бактерий или хозяина и липоарабиноманнанами микобактерий. TLR3 может активироваться посредством дцРНК, в частности вирусного происхождения, или химическим соединением поли(LC). TLR4 может быть активирован грамотрицательными LPS, LTA, белками теплового шока из организма хозяина или бактериального происхождения, белками вирусной

25 оболочки или оболочечными белками, таксомом или его производными, гиалуронансодержащими олигосахаридами и фибронектинами. TLR5 может быть активирован бактериальными жгутиками или флагеллином. TLR6 может быть активирован микобактериальными липопротеинами и термолабильным растворимым фактором стрептококка группы В (GBS-F) или модулинами стафилококка. TLR7 может быть активирован имидазохинолинами. TLR9 может

30 быть активирован неметиловой CpG ДНК или комплексами хроматин - IgG.

Предпочтительно агонист пептида TLR, входящий в состав пептида в соответствии с настоящим изобретением, является агонистом TLR1, 2, 4, 5, 6,

и/или 10. TLR экспрессируются либо на поверхности клеток (TLR1, 2, 4, 5, 6 и 10), либо на мембранах внутриклеточных органелл, таких как эндосомы (TLR3, 4, 7, 8 и 9). Природными лигандами для эндосомальных рецепторов оказались молекулы на основе нуклеиновых кислот (за исключением TLR4).  
5 Экспрессируемые на поверхности клеток TLR1, 2, 4, 5, 6 и 10 распознают молекулярные паттерны внеклеточных микробов (Monie, T. P., Bryant, C. E., и соавт. 2009: Activating immunity: Lessons from the TLRs and NLRs. Trends Biochem. Sci. 34(11), 553–561). TLR экспрессируются на нескольких типах клеток, но практически все TLR экспрессируются на DC, что позволяет этим  
10 специализированным клеткам обнаруживать все возможные патогены и сигналы опасности.

Тем не менее, TLR2, 4, и 5 конститутивно экспрессируются на поверхности DC. Соответственно, агонист пептида TLR, входящий в состав пептида в соответствии с настоящим изобретением, более предпочтительно является  
15 агонистом пептида TLR2, TLR4 и/или TLR5. Еще более предпочтительно агонист пептида TLR представляет собой агонист пептида TLR2 и/или агонист пептида TLR4.

TLR2 может обнаруживать широкий спектр лигандов, полученных из бактерий, вирусов, паразитов и грибов. TLR2 взаимодействует с широким и  
20 структурно разнообразным спектром лигандов, включая молекулы, экспрессируемые микробами и грибами.

Предпочтительным агонистом пептида TLR2 является аннексин II или его иммуномодулирующий фрагмент (имеющий функциональность агониста TLR), который подробно описан в WO 2012/048190 A1 и патентной заявке США  
25 13/0331546, в частности, предпочтительным является агонист пептида TLR2, содержащий аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 7 из WO 2012/048190 A1 или его фрагменты или варианты.

Агонист пептида TLR2, содержащий или состоящий из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 16 или 24; или её варианта  
30 последовательности (который представляет собой или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной

последовательностью SEQ ID NO: 16, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 24), является предпочтительным в качестве компонента в), т. е. в качестве агониста пептида TLR, входящего в состав пептида. Особенно предпочтительно агонист пептида TLR имеет аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 16.

10 Разнообразие лигандов взаимодействует с TLR4, включая монофосфориллипид А из *Salmonella minnesota* R595 (MPLA), липополисахариды (LPS), маннаны (*Candida albicans*), гликоинозитолфосфолипиды (*Trypanosoma*), белки вирусной оболочки (RSV и MMTV) и эндогенные антигены, включая фибриноген и белки теплового шока.

15 Предпочтительные агонисты пептидов TLR4 соответствуют мотивам, которые связываются с TLR4, в частности (i) пептиды, имитирующие естественный лиганд (RS01: Gln-Glu-Ile-Asn-Ser-Ser- Tyr и RS09: Ala-Pro-Pro-His-Ala-Leu-Ser) и (ii) пептиды, полученные из фибронектина. Клеточный гликопротеин фибронектин (FN) имеет несколько изоформ, полученных из одного гена путем

20 альтернативного сплайсинга трех экзонов. Одной из этих изоформ является дополнительный домен А (EDA), который взаимодействует с TLR4. Соответственно, подходящие агонисты пептида TLR включают домен EDA фибронектина или его фрагмент или вариант. Такие подходящие домены EDA фибронектина или его фрагменты или варианты раскрыты в EP 1 913 954 B1, EP

25 2 476 440 A1, US 2009/0220532 A1, и WO 2011/101332 A1.

В некоторых вариантах осуществления пептид в соответствии с настоящим изобретением содержит:

а) проникающий в клетку пептид, имеющий аминокислотную последовательность, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, или SEQ ID NO: 23; или их варианты последовательности, имеющие по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

б) мультиантигенный домен, содержащий:

- фрагмент CEACAM5, имеющий минимальную длину 8 аминокислот,

- фрагмент DUOXA2, имеющий минимальную длину 8 аминокислот,
- фрагмент KRAS имеющий минимальную длину 8 аминокислот,
- KRAS-uORF1 или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот,

5           - TPX2-uORF1 или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот, и/или

- AURKA-uORF2 или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот;

и

10           в) агонист пептида TLR, который представляет собой агонист пептида TLR2 и/или агонист пептида TLR4.

Различные компоненты а), б) и с) пептида могут быть связаны напрямую или косвенно (например, пептидной связью). Другими словами, два компонента могут напрямую примыкать или они могут быть связаны дополнительным компонентом пептида, например, пептидным спейсером или линкером. Предпочтительно пептидный спейсер состоит из приблизительно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 аминокислот, более предпочтительно из приблизительно 1, 2, 3, 4 или 5 аминокислот. Аминокислотная последовательность пептидного спейсера может быть идентична последовательности N-концевой или C-концевой фланкирующей области любого из компонентов а), б), или с). Альтернативно, пептидный спейсер может состоять из неприродных аминокислотных последовательностей, таких как аминокислотная последовательность, полученная в результате консервативных аминокислотных замен указанных природных фланкирующих областей или последовательностей известных сайтов расщепления для протеаз. В некоторых вариантах осуществления пептидный спейсер не содержит остатков Cys (C). В некоторых вариантах осуществления линкерная последовательность содержит по меньшей мере 20 %, более предпочтительно по меньшей мере 40 % и еще более предпочтительно по меньшей мере 50 % остатков Gly или β-аланина. Соответствующие линкерные последовательности могут быть легко выбраны и подготовлены специалистом в данной области. Они могут состоять из D и/или L аминокислот.

Предпочтительно все три компонента а), б) и с) связаны посредством связи основная цепь/основная цепь, что приводит к образованию основной цепи пептида, которая включает основную цепь проникающего в клетку пептида,

основную цепь мультиантигенного домена и основную цепь агониста пептида TLR. Другими словами основная цепь проникающего в клетку пептида, основная цепь мультиантигенного домена и основная цепь агониста пептида TLR составляют основную цепь пептида, необязательно вместе с дополнительными компонентами, например, линкером(ами) или спейсером(ами). Соответственно, предпочтительны следующие расположения компонентов а), b) и с), где указанные предпочтительные расположения показаны ниже в направлении N-конец → С-конец основной цепи пептида и где все три компонента а), b) и с) связаны посредством связи основная цепь/основная цепь и могут быть необязательно связаны линкером, спейсером или другим дополнительным компонентом:

(α) компонент а) (проникающий в клетку пептид) – компонент b) (мультиантигенный домен) – компонент с) (агонист пептида TLR);

(β) компонент с) (агонист пептида TLR) – компонент а) (проникающий в клетку пептид) – компонент b) (мультиантигенный домен);

(γ) компонент а) (проникающий в клетку пептид) – компонент с) (агонист пептида TLR) – компонент b) (мультиантигенный домен);

(δ) компонент с) (агонист пептида TLR) – компонент b) (мультиантигенный домен) – компонент а) (проникающий в клетку пептид);

(ε) компонент b) (мультиантигенный домен) – компонент а) (проникающий в клетку пептид) – компонент с) (агонист пептида TLR); или

(ζ) компонент b) (мультиантигенный домен) – компонент с) (агонист пептида TLR) – компонент а) (проникающий в клетку пептид).

Предпочтительно мультиантигенный домен расположен на С-конце проникающего в клетку пептида. Более предпочтительно компоненты а), b) и с) расположены в направлении от N-конца к С-концу основной цепи указанного пептида в следующем порядке:

(α) компонент а) – компонент b) – компонент с); или

(β) компонент с) – компонент а) – компонент b),

где компоненты могут быть связаны дополнительным компонентом, в частности, линкером или спейсером.

Предпочтительный пример пептида в соответствии с изобретением содержит, предпочтительно в направлении от N-конца к С-концу:

а) проникающий в клетку пептид, имеющий аминокислотную последовательность, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 15, или их варианты последовательности, имеющие по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 15;

б) мультиантигенный домен, содержащий:

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11, и/или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1;

5 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 3;

10 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5; и

15 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10; и

20 в) агонист пептида TLR, имеющий аминокислотную последовательность, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 16, или их варианты последовательности, имеющие по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с  
25 аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 16.

30 В некоторых вариантах осуществления пептид в соответствии с изобретением может содержать или состоять из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 46, или SEQ ID NO: 47; или её варианта последовательности, имеющего по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 46, или SEQ ID NO: 47. Например, пептид в соответствии с

изобретением может содержать или состоять из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 46, или SEQ ID NO: 47.

Предпочтительно пептид в соответствии с изобретением может содержать или состоять из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 17 или SEQ ID NO: 18; или её варианта последовательности, имеющего по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17 или SEQ ID NO: 18. Например, пептид в соответствии с изобретением может содержать или состоять из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 17 или 18.

Настоящее изобретение также обеспечивает (фармацевтическую) композицию, содержащую пептид в соответствии с изобретением, как описано выше. (Фармацевтическая) композиция может содержать фармацевтически приемлемый носитель и/или лекарственную основу, или любое вспомогательное вещество, буфер, стабилизатор или другие материалы, хорошо известные специалистам в данной области. Что касается таких дополнительных ингредиентов, т. е. носителей, лекарственных основ, вспомогательных веществ, буферов, стабилизаторов, адъювантов и т. п., подробное описание композиции в соответствии с настоящим изобретением выше применимо соответственно и к (фармацевтической) композиции, содержащей пептид в соответствии с изобретением. (Фармацевтическая) композиция обычно содержит терапевтически эффективное количество активных компонентов (пептида). (Фармацевтическая) композиция может быть использована для человека, а также для ветеринарных медицинских целей, предпочтительно для медицинских целей человека, как правило, в качестве (фармацевтической) композиции или вакцины.

Настоящее изобретение также обеспечивает нуклеиновую кислоту (молекулу), содержащую полинуклеотид, кодирующий пептид изобретения, как описано выше. Нуклеиновые кислоты предпочтительно содержат однонитевые, двухнитевые или частично двухнитевые нуклеиновые кислоты. Предпочтительно нуклеиновая кислота (молекула) выбрана из геномной ДНК, кДНК, РНК, миРНК, мРНК, антисмысловой ДНК, антисмысловой РНК, рибозима, комплементарных

последовательностей РНК/ДНК. Она может (или не может) содержать элементы экспрессии, мини-ген, фрагменты генов, регуляторные элементы, промоторы и их комбинации.

5       Дополнительные предпочтительные примеры (молекул) нуклеиновой  
кислоты и/или полинуклеотидов включают, например, рекомбинантный  
10       полинуклеотид, вектор, олигонуклеотид, молекулу РНК, такую как рРНК, мРНК,  
микроРНК, миРНК или тРНК, или молекулу ДНК. Таким образом,  
предпочтительно, чтобы нуклеиновая кислота (молекула) представляла собой  
молекулу ДНК или молекулу РНК; предпочтительно выбранную из геномной  
15       ДНК; кДНК; миРНК; рРНК; мРНК; антисмысловой ДНК; антисмысловой РНК;  
рибозима; комплементарных последовательностей РНК и/или ДНК;  
последовательностей РНК и/или ДНК с элементами экспрессии, регуляторными  
элементами и/или промоторами или без них; вектора; и их комбинаций. В  
некоторых вариантах осуществления нуклеиновая кислота (молекула) может  
15       представлять собой вектор, например вектор экспрессии для экспрессии пептида  
в соответствии с изобретением.

#### Вирус везикулярного стоматита (VSV)

В другом аспекте в настоящем изобретении предложен рекомбинантный  
20       вирус везикулярного стоматита (VSV), кодирующий мультиантигенный домен,  
содержащий по меньшей мере один опухолевый антиген или его фрагмент или  
вариант последовательности, где опухолевый антиген кодируется в направлении  
5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-  
uORF1), мРНК TPX2 (TPX2-uORF1) или мРНК AURKA (AURKA-uORF2).

Вирусы везикулярного стоматита (VSV) относятся к рабдовирусам  
25       (семейство rhabdoviridae) и являются РНК-вирусами с отрицательной цепью.  
Геном VSV находится на одной молекуле молекулы РНК с отрицательной  
полярностью, которая кодирует пять основных белков: белок G (G), большой  
белок (L), фосфопротеин (P), матричный белок (M) и нуклеопротеин (N). В  
некоторых вариантах осуществления вирус везикулярного стоматита является  
30       вирусом везикулярного стоматита Индианы (VSIV) или вирусом везикулярного  
стоматита Нью-Джерси (VSNJV).

#### Мультиантигенный домен

VSV в соответствии с изобретением представляет собой рекомбинантный  
VSV, который содержит мультиантигенный домен, определенный выше, в

контексте пептида. Соответственно, он относится к домену, такому как пептид, содержащему по меньшей мере два (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или большее количество) отдельные антигены или фрагменты по меньшей мере двух (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или большего количества) отдельных антигенов. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит три или более различных антигенов или их фрагментов, в частности, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или более различных антигенов или их фрагментов. Предпочтительно «мультиантигенный домен» содержит по меньшей мере два (например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или более) различных антигенов (фрагментов антигенов), где каждый фрагмент или антиген содержит по меньшей мере один антигенный эпитоп. Более предпочтительно «мультиантигенный домен» содержит (фрагменты) по меньшей мере от двух до восьми отдельных антигенов, где каждый фрагмент/антиген содержит по меньшей мере один антигенный эпитоп. Еще более предпочтительно «мультиантигенный домен» содержит пять или шесть отдельных антигенов (фрагментов антигенов), где каждый фрагмент содержит по меньшей мере один антигенный эпитоп.

В частности, различные антигены (фрагменты антигенов) расположены последовательно в мультиантигенном домене. В некоторых вариантах осуществления различные антигены (фрагменты антигенов) связаны друг с другом, например, пептидным спейсером или линкером (например, GS-линкером). В других вариантах осуществления различные (фрагменты) антигенов связаны друг с другом напрямую, т. е. без спейсера или линкера.

В некоторых вариантах осуществления каждый антиген или его фрагмент в мультиантигенном домене содержит по меньшей мере один эпитоп  $CD4^+$  и/или по меньшей мере один эпитоп  $CD8^+$ , которые могут быть включены в те же или разные опухолевые антигены (или их фрагменты или варианты).  $T_H$ -клетки ( $T$ -клетки  $CD4^+$ ) играют главную роль в противоопухолевом иммунном ответе как в лицензировании DC (дендритных клеток), так и в рекрутинге и поддержании CTL ( $T$ -клеток  $CD8^+$ , цитотоксических  $T$ -лимфоцитов) в месте опухоли. Таким образом, мультиантигенный домен, содержащий по меньшей мере один эпитоп  $CD4^+$  и по меньшей мере один эпитоп  $CD8^+$  обеспечивает интегрированный иммунный ответ, позволяющий одновременное праймирование CTL и  $T_H$ -клеток и, таким образом, предпочтительнее иммунитета только против эпитопов  $CD8^+$  или только против  $CD4^+$ .

Мультиантигенный домен VSV содержит по меньшей мере один опухолевый антиген, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1), мРНК TPX2 (TPX2-uORF1) или мРНК AURKA (AURKA-uORF2); или его фрагмент или вариант последовательности, как определено выше. Опухолевый антиген обычно является пептидным опухолевым антигеном. Эти опухолевые антигены (т. е. на пептидном уровне) также упоминаются в настоящей заявке как «KRAS-uORF1», «TPX2-uORF1» и «AURKA-uORF2», соответственно. Специалист в данной области сразу определит из каждого контекста, относятся ли они к нуклеотиду и/или к пептиду.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит:

- опухолевый антиген или его фрагмент, или вариант последовательности, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1),
- 15 - опухолевый антиген или его фрагмент, или вариант последовательности, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК TPX2 (TPX2-uORF1) и/или
- опухолевый антиген или его фрагмент, или вариант последовательности, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК AURKA (AURKA-uORF2).

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит опухолевый антиген, закодированный в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1), который содержит (или состоит из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 или 2. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 или 2, или её вариант последовательности.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит опухолевый антиген, закодированный в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК TPX2 (uORF- TPX2) содержит (или состоит из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3 или 4.

5 Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или  
10 варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3 или 4, или её вариант последовательности.

15 В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит опухолевый антиген, закодированный в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК AURKA (AURKA-uORF2) содержит (или состоит из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или  
20 вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или  
25 варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5, или её вариант последовательности.

В дополнение к опухолевым антигенам, описанным выше,  
30 мультиантигенный домен может дополнительно содержать по меньшей мере один опухолевый антиген, выбранный из группы, состоящей из CEACAM5 (или его фрагмента или варианта последовательности, как определено выше), DUOXA2 (или его фрагмента или варианта последовательности, как определено

выше), и KRAS (или его фрагмента или варианта последовательности, как определено выше).

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит фрагмент) CEACAM5 (молекула клеточной адгезии, связанная с раковым эмбриональным антигеном 5), который может содержать (или состоять из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 6. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т. е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 6 или её вариант последовательности.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (фрагмент) CEACAM5, который может содержать (или состоять из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 7. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т.е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 7 или её вариант последовательности.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (фрагмент) CEACAM5, который может содержать (или состоять из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 8. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т.е. фрагмент, имеющий

минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 8 или её вариант последовательности.

В некоторых вариантах осуществления фрагменты CEACAM5, как описано выше, могут быть связаны друг с другом (в частности, как слитый пептид/белок). Соответственно, мультиантигенный домен может содержать (слитый) пептид, содержащий (или состоящий из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т.е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9, или её вариант последовательности.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (фрагмент) DUOXA2 (фактор созревания двойной оксидазы 2), который может содержать (или состоять из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т.е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит

аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10, или её вариант последовательности.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (фрагмент) KRAS. Поскольку мутации KRAS распространены при раке, фрагмент KRAS предпочтительно включает мутацию. Мутация KRAS может возникать, например, в G12, G13 или Q61 KRAS. Соответственно, фрагмент KRAS может включать положения G12, G13 и/или Q61 KRAS, при этом предпочтительно по меньшей мере один из аминокислотных остатков в этих положениях заменен. Предпочтительно, фрагмент KRAS включает замену в G12. Неограничивающие примеры таких замен включают в себя G12D, G12V, G12C, G12A и G12R. Предпочтительно фрагмент KRAS включает положение G12 KRAS с заменой G12D или G12V. Соответственно, KRAS или его фрагмент предпочтительно представляет собой KRAS-G12D или его фрагмент, или KRAS-G12V или его фрагмент (где фрагмент включает положение G12 KRAS и соответствующую замену).

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит фрагмент KRAS, который может содержать (или состоять из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или 12. Мультиантигенный домен может также содержать фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, т.е. фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот или вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности. Функциональность в качестве опухолевого антигена предпочтительно сохраняется во фрагменте или варианте последовательности (например, в том случае, если фрагмент или вариант последовательности содержит по меньшей мере один эпитоп). Соответственно, мультиантигенный домен предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или 12, или её вариант последовательности.

Соответственно, мультиантигенный домен может содержать по меньшей мере одну аминокислотную последовательность, выбранную из группы, включающей в себя:

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %



93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4;

5 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5; или

10 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10.

15 Предпочтительно мультиантигенный домен содержит различные опухолевые антигены, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (ровно или по меньшей мере) два различных опухолевых антигена, или их фрагменты  
20 или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (ровно или по меньшей мере) три различных опухолевых антигена, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В  
25 некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (ровно или по меньшей мере) четыре различных опухолевых антигена, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит (ровно или по меньшей мере) пять  
30 различных опухолевых антигена, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит все из шести различных опухолевых антигенов, или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и

AURKA-uORF2. Мультиантигенная вакцина позволит (i) избежать разрастания вариантов с потерей антигена, (ii) воздействовать на различные опухолевые клетки в гетерогенной опухолевой массе и (iii) обойти вариабельность опухоли от пациента к пациенту.

5 Предпочтительно опухолевый антиген, выбранный из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2, или его фрагмент или вариант последовательности, содержит эпитоп CD4<sup>+</sup> и/или эпитоп CD8<sup>+</sup>. Предпочтительно мультиантигенный домен содержит (i) различные опухолевые антигены, или их фрагменты или варианты, выбранные из  
10 CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2; и (ii) различные эпитопы CD4<sup>+</sup> и различные эпитопы CD8<sup>+</sup>.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен содержит, предпочтительно в направлении от N-конца к C-концу:

- CEACAM5 или его фрагмент или вариант последовательности,
- 15 - KRAS или его фрагмент или вариант последовательности,
- KRAS-uORF1 или его фрагмент или вариант последовательности,
- TPX2-uORF1 или его фрагмент или вариант последовательности,
- AURKA-uORF2 или его фрагмент или вариант последовательности, и
- DUOXA2 или его фрагмент или вариант последовательности.

20 Предпочтительно мультиантигенный домен содержит, предпочтительно в направлении от N-конца к C-концу:

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 25 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 9;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 30 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 11, и/или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12, или её вариант

последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 12;

5  
- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %  
10 или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 1, или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 2, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %  
20 или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 2, или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 4, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 4;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %  
30 или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 5; и

5 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 10.

10 Более предпочтительно мультиантигенный домен содержит (или состоит из) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 19 или 48, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19 или 48. Например, мультиантигенный домен содержит (или состоит из) аминокислотную последовательность согласно  
15 SEQ ID NO: 19 или 48, предпочтительно SEQ ID No: 19.

#### VSV: другие признаки

20 В некоторых вариантах осуществления вирус везикулярного стоматита (VSV) представляет собой онколитический вирус везикулярного стоматита (VSV). Используемый в настоящей заявке термин «онколитический» вирус относится к вирусу, который преимущественно инфицирует и убивает раковые клетки. Предполагают, что инфицированные раковые клетки, которые разрушаются онколизом, высвобождают новые инфекционные вирусные частицы или вирионы для нацеливания на «оставшийся» рак/опухоль. Онколитическая активность рекомбинантного рабдовируса в соответствии с изобретением может  
25 быть протестирована в различных системах анализа, известных специалисту в данной области техники (примерный анализ *in vitro* описан в Muik и соавт., Cancer Res., 74(13), 3567-78, 2014). Следует понимать, что онколитический VSV может инфицировать и лизировать только определенные типы раковых клеток. Кроме того, онколитический эффект может варьироваться в зависимости от типа  
30 раковых клеток.

В некоторых вариантах осуществления вирус везикулярного стоматита (VSV) является репликационно-компетентным. Термины «репликационный компетентный» или «репликационный компетентный вирус», используемые в настоящей заявке, относятся к вирусу, который содержит всю информацию в

своем геноме, позволяющую ему реплицироваться внутри клетки. Например, репликационная компетентность рекомбинантного вируса везикулярного стоматита в соответствии с изобретением может быть оценена в соответствии с методами, раскрытыми в Tani и соавт. JOURNAL OF VIROLOGY, авг. 2007, сс. 8601–8612; или Garbutt и соавт. JOURNAL OF VIROLOGY, май 2004, сс. 5458–5465. Предпочтительно VSV способен реплицироваться специфически внутри раковых клеток. Предпочтительно, чтобы VSV специфически реплицировался в опухолевых клетках, которые утратили способность к установке и реагированию на противовирусные врожденные иммунные реакции (например, сигнализацию IFN типа I). Репликация вируса в опухолевых клетках приводит к гибели клетки и, как предполагают, приводит к высвобождению антигенов, ассоциированных с опухолью, локальному воспалению и индукции противоопухолевого иммунитета. С другой стороны, abortивная репликация предпочтительна в «здоровых клетках», так что VSV может быть быстро исключен из нормальных тканей.

Предпочтительно в геноме VSV ген, кодирующий гликопротеин G, заменен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), где гликопротеин GP LCMV предпочтительно содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 25, или ее функциональный вариант последовательности, который по меньшей мере на 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % идентичен ей. Соответственно, предпочтительным является вирус везикулярного стоматита (VSV) и, в частности, VSV-GP (рекомбинантный VSV с GP LCMV, например, как раскрыто в WO 2010/040526). Преимущественные свойства VSV-GP включают одно или несколько из следующих: очень мощный и быстрый киллер (< 8 ч.); онколитический вирус; возможно системное применение; значительно сниженный нейротропизм с устраненной нейротоксичностью; он размножается литически; сильная активация врожденного иммунитета; около 3 кб пространства для иммуномодулирующих грузов и антигенов; рекомбинантный с гликопротеином аренавируса из вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV); благоприятные характеристики безопасности с точки зрения сниженной нейротоксичности и меньшей чувствительности к нейтрализующим реакциям антител и разрушению комплемента по сравнению с диким типом VSV (VSV-G);

специфически реплицируется в опухолевых клетках, которые утратили способность устанавливать и отвечать на противовирусные врожденные иммунные ответы (например, сигнализация IFN типа I); abortивная репликация в «здоровых клетках», поэтому быстро исключается из нормальных тканей; репликация вируса в опухолевых клетках приводит к гибели клеток и, как предполагают, вызывает высвобождение опухолевых антигенов, местное воспаление и индукцию противоопухолевого иммунитета.

В некоторых вариантах осуществления вирус везикулярного стоматита (VSV) проявляет следующие признаки:

- 10       - он кодирует в своем геноме мультиантигенный домен, как определено выше,
- он кодирует в своем геноме нуклеопротеин вируса везикулярного стоматита (N), большой белок (L), фосфопротеин (P) и матричный белок (M),
- ген, кодирующий гликопротеин G вируса везикулярного стоматита, 15       заменен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и/или
- гликопротеин G вируса везикулярного стоматита заменен гликопротеином GP LCMV.

Предпочтительно вирус везикулярного стоматита (VSV) проявляет 20       следующие признаки:

- он кодирует в своем геноме нуклеопротеин (N) вируса везикулярного стоматита, содержащий аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 26, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 25       98 %, 99 % идентичности последовательности;
- он кодирует в своем геноме фосфопротеин (P) вируса везикулярного стоматита, содержащий аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 27, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 30       98 %, 99 % идентичность последовательности;
- он кодирует в своем геноме большой белок (L) вируса везикулярного стоматита, содержащий аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 28, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 80 %, 98 %, 99 % идентичности последовательности;

85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % идентичности последовательности;

5 - он кодирует в своем геноме матричный белок (M) вируса  
везикулярного стоматита, содержащий аминокислотную последовательность,  
указанную в SEQ ID NO: 29, или её вариант последовательности, имеющий по  
меньшей мере 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % идентичности последовательности;

- он кодирует в своем геноме мультиантигенный домен вируса  
везикулярного стоматита, как определено выше,

10 - ген, кодирующий гликопротеин G вируса везикулярного стоматита,  
заменен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного  
хориоменингита (LCMV), и/или

- гликопротеин G заменен гликопротеином GP LCMV.

15 Более предпочтительным является вирус везикулярного стоматита (VSV) по  
любому из пп. 43 – 85, и при этом он кодирует в своем геноме:

- фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность  
согласно SEQ ID NO: 27, или её вариант последовательности, имеющий по  
меньшей мере 70 % идентичности последовательности,

20 - нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность  
согласно SEQ ID NO: 26, или её вариант последовательности, имеющий по  
меньшей мере 70 % идентичности последовательности,

25 - матричный белок (M), содержащий аминокислотную  
последовательность согласно SEQ ID NO: 29, или её вариант  
последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности  
последовательности,

- большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность  
согласно SEQ ID NO: 28, или её вариант последовательности, имеющий по  
меньшей мере 70 % идентичности последовательности,

30 - гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность  
согласно SEQ ID NO: 25, или её вариант последовательности, имеющий по  
меньшей мере 70 % идентичности последовательности более предпочтительно  
по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности  
с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 25, и

- мультиантигенный домен, который содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 19, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19, или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 48, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 48.

Соответственно особенно предпочтительным является вирус везикулярного стоматита (VSV), содержащий геном РНК, который содержит (или состоит из) последовательность РНК в соответствии с SEQ ID NO: 30, или её вариант последовательности как определено выше (например, вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности).

В некоторых вариантах осуществления вирус везикулярного стоматита (VSV) содержит геном РНК, который содержит (или состоит из) последовательность РНК, которая соответствует последовательности кДНК в соответствии с SEQ ID NO: 49, или её варианту последовательности, как определено выше (например, вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности).

Настоящее изобретение также обеспечивает (фармацевтическую) композицию, содержащую VSV в соответствии с изобретением, как описано выше. (Фармацевтическая) композиция может содержать фармацевтически приемлемый носитель и/или лекарственную основу, или любое вспомогательное вещество, буфер, стабилизатор или другие материалы, хорошо известные специалистам в данной области. Что касается таких дополнительных ингредиентов, т. е. носителей, лекарственных основ, вспомогательных веществ,

буферов, стабилизаторов, адъювантов и т. п., подробное описание композиции в соответствии с настоящим изобретением выше применимо соответственно и к (фармацевтической) композиции, содержащей VSV в соответствии с изобретением. (Фармацевтическая) композиция обычно содержит терапевтически эффективное количество активных компонентов (VSV). (Фармацевтическая) композиция может быть использована для человека, а также для ветеринарных медицинских целей, предпочтительно для медицинских целей человека, как правило, в качестве (фармацевтической) композиции или вакцины.

#### Вакцина, набор и комбинация

В еще одном аспекте настоящее изобретение также обеспечивает вакцину, содержащую:

(i) композицию в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше;

(ii) пептид в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше;

или

(iii) вирус везикулярного стоматита (VSV) в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше.

В целом вакцина индуцирует, поддерживает или усиливает (врожденный и/или адаптивный) иммунный ответ иммунной системы субъекта или пациента, подлежащего лечению. Например, антигены, в частности, мультиантигенный домен, как описано в настоящей заявке, обычно приводят к адаптивному иммунному ответу у пациента, подлежащего лечению, или поддерживают его. Агонист пептида TLR, как описано в настоящей заявке, может приводить к врожденному иммунному ответу или поддерживать его.

Вакцина может также содержать фармацевтически приемлемый носитель, адъювант, и/или лекарственную основу, как определено выше для (фармацевтической) композиции. В конкретном контексте вакцины выбор фармацевтически приемлемого носителя в принципе определяют способом введения вакцины. Вакцину можно вводить, например, системно или местно, как описано выше. Более предпочтительно, вакцины можно вводить внутривенно, внутриопухолевым, внутрикожным, подкожным или внутримышечным путем. Поэтому вакцину предпочтительно составляют в жидком (или иногда в твердом) виде. Подходящее количество вакцины для введения может быть определено путем рутинных экспериментов с животными моделями. Такие модели

включают, без каких-либо ограничений, модели кроликов, овец, мышей, крыс, собак и нечеловекообразных приматов. Предпочтительные формы единичных доз для инъекций включают стерильные растворы воды, физиологического раствора или их смеси. рН таких растворов следует отрегулировать примерно до 7,4. Подходящие носители для инъекций включают гидрогели, устройства для контролируемого или замедленного высвобождения, полимолочную кислоту и коллагеновые матрицы.

Вакцина может дополнительно содержать одно или несколько вспомогательных веществ для дальнейшего повышения ее иммуногенности. В некоторых вариантах осуществления может быть достигнуто синергическое действие композиции, содержащей антиген(ы), пептид и/или VSV, как описано выше, и вспомогательного вещества, которое может необязательно содержаться в вакцине. В зависимости от различных типов вспомогательных веществ, в этом отношении могут рассматриваться различные механизмы. Например, соединения, которые обеспечивают созревание дендритных клеток (DC), например липополисахариды или TNF-альфа, образуют первый класс подходящих вспомогательных веществ. Как правило, в качестве вспомогательного вещества можно использовать любое средство, которое влияет на иммунную систему в виде «сигнала опасности» (LPS, GP96 и т. д.) или цитокины, такие как GM-CSF, которые позволяют усилить и/или целенаправленно повлиять на иммунный ответ, вызванный композицией, содержащей антиген(ы), пептид и/или VSV, как описано выше. Особенно предпочтительными вспомогательными веществами являются цитокины, такие как монокины, лимфокины, интерлейкины или хемокины, которые дополнительно стимулируют врожденный иммунный ответ, такой как IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17, IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IFN-альфа, IFN-бета, IFN-гамма, GM-CSF, G-CSF, M-CSF, LT-бета или TNF-альфа, факторы роста, такие как hGH.

Предпочтительно вакцина содержит:

(i) пептид в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше;  
и

(ii) вирус везикулярного стоматита (VSV) в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше.

В еще одном аспекте настоящее изобретение также обеспечивает набор, содержащий:

(i) пептид в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше;

и

5 (ii) вирус везикулярного стоматита (VSV) в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше.

В другом аспекте настоящее изобретение также обеспечивает комбинацию, содержащую:

(i) пептид в соответствии с настоящим изобретением как описано выше;

10 и

(ii) вирус везикулярного стоматита (VSV) в соответствии с настоящим изобретением как описано выше.

Как правило, в вакцине, наборе и комбинации изобретения различные компоненты (i) и (ii) могут быть предоставлены (a) в одном и том же составе или  
15 в одном и том же контейнере; или (b) (пространственно) отдельным образом (например, в разных составах или разных контейнерах). Предпочтительно, в вакцине, наборе и комбинации в соответствии с изобретением, (i) пептид и (ii) VSV предоставляются отдельным образом, например, в отдельных контейнерах или отдельных композициях, как описано выше. Раздельное предоставление  
20 различных компонентов (i) и (ii) позволяет раздельное введение (i) пептида и (ii) VSV, например, различными путями, в различных составах и/или в разное время/по разной схеме. В частности, раздельное предоставление различных компонентов (i) и (ii) позволяет использовать (i) пептид и (ii) VSV в гетерологичной схеме «прайм-буст».

25 В вакцине, наборе или комбинации предпочтительно, чтобы мультиантигенный домен, закодированный в (геноме) вируса везикулярного стоматита (VSV), содержал (опухолевый) антиген или его фрагмент или вариант последовательности, который также содержится в мультиантигенном домене пептида. Также предпочтительно, чтобы мультиантигенный домен,  
30 закодированный в (геноме) вируса везикулярного стоматита (VSV) содержал аминокислотные последовательности каждого из (опухолевых) антигенов, его фрагмента или варианта последовательности, который также содержится в мультиантигенном домене пептида. Также предпочтительно, чтобы мультиантигенный домен пептида содержал антиген или его фрагмент, который

содержится в мультиантигенном домене, закодированном в геноме вируса  
везикулярного стоматита (VSV). Кроме того, предпочтительно, чтобы  
мультиантигенный домен пептида содержал аминокислотные  
последовательности каждого из (опухолевых) антигенов, его фрагмента или  
5 варианта последовательности, который содержится в мультиантигенном домене,  
закодированном в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV).

Это позволяет использовать выгодную гетерологичную схему «прайм-  
буст». Принцип гетерологичной технологии «прайм-буст» заключается в том,  
чтобы заставить иммунную систему сосредоточить свой ответ на определенном  
10 целевом антигене, избегая иммунного ответа против носителя антигена или  
системы доставки после последовательного введения того же носителя антигена  
или системы доставки при использовании в гомологичных схемах «прайм-буст».  
В гетерологичных схемах «прайм-буст» введение первого иммуногена  
праймирует цитотоксические Т-лимфоциты (CTL), специфичные для целевого  
15 антигена, однако праймирование также происходит для носителя антигена или  
системы доставки. При введении неродственного второго носителя антигена или  
системы доставки, например, вирусного вектора во время фазы «усиления»,  
иммунная система сталкивается с большим количеством новых антигенов.  
Поскольку второй носитель антигена или система доставки также  
20 кодирует/доставляет целевой антиген, для которого уже существуют  
подготовленные клетки, иммунная система вызывает сильный ответ памяти,  
расширяя ранее подготовленные CTL, которые специфичны для целевого  
антигена.

Соответственно, вакцина, набор или комбинация в соответствии с  
25 изобретением выгодно обеспечивают целевой антиген в различных контекстах, а  
именно, (i) содержащийся в пептиде, предлагаемом в изобретении; и (ii)  
закодированный в VSV, предлагаемом в изобретении, что позволяет  
использовать в гетерологичной схеме «прайм-буст».

Соответствующий антиген (опухолевый антиген) или его фрагмент или  
30 вариант последовательности, который содержится в мультиантигенном домене  
пептида и в мультиантигенном домене, закодированном в VSV, может быть  
любым антигеном (или его фрагментом или вариантом), как описано в  
настоящей заявке. Предпочтительно, соответствующий антиген (опухолевый)

антиген или его фрагмент или вариант последовательности выбран из группы, включающей в себя:

5 - опухолевый антиген или его фрагмент, или вариант последовательности, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1),

- опухолевый антиген или его фрагмент, или вариант последовательности, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК TPX2 (TPX2-uORF1),

10 - опухолевый антиген или его фрагмент, или вариант последовательности, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК AURKA (AURKA-uORF2),

- SEACAM5 или его фрагмент или вариант последовательности, как определено выше,

15 - DUOXA2 или его фрагмент или вариант последовательности, как определено выше, и

- KRAS или его фрагмент или вариант последовательности, как определено выше.

20 Предпочтительно KRAS (или его фрагмент или вариант последовательности) представляет собой мутантный KRAS, как описано выше. Более предпочтительно KRAS (или его фрагмент или вариант последовательности) представляет собой KRAS-G12D (или его фрагмент или вариант последовательности) или KRAS-G12V (или его фрагмент или вариант последовательности).

25 В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен пептида и мультиантигенный домен, закодированный в VSV, каждый содержит опухолевый антиген или его фрагмент или вариант последовательности, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1).

30 В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен пептида и мультиантигенный домен, закодированный в VSV, каждый содержит опухолевый антиген или его фрагмент, или вариант последовательности, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК TPX2 (TPX2-uORF1).

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен пептида и мультиантигенный домен, закодированный в VSV, каждый содержит опухолевый антиген или его фрагмент, или вариант последовательности, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК AURKA (AURKA-uORF2).

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен пептида и мультиантигенный домен, закодированный в VSV, каждый содержит CEACAM5, или его фрагмент, или вариант последовательности, как определено выше.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен пептида и мультиантигенный домен, закодированный в VSV, каждый содержит DUOXA2, или его фрагмент, или вариант последовательности, как определено выше.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен пептида и мультиантигенный домен, закодированный в VSV, каждый содержит KRAS, или его фрагмент, или вариант последовательности, как определено выше. Предпочтительно KRAS (или его фрагмент или вариант последовательности) представляет собой мутантный KRAS, как описано выше. Более предпочтительно, KRAS (или его фрагмент или вариант последовательности) представляет собой KRAS-G12D (или его фрагмент или вариант последовательности) или KRAS-G12V (или его фрагмент или вариант последовательности).

Предпочтительно мультиантигенный домен пептида и мультиантигенный домен, закодированный в VSV, каждый содержит по меньшей мере одну аминокислотную последовательность, выбранную из группы, включающей в себя:

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 или 2 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

5 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3 или 4 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности; или

10 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

Более предпочтительно мультиантигенный домен пептида и мультиантигенный домен, закодированный в VSV, каждый содержит различные (т. е., более одного) соответствующие опухолевые антигены или их фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен пептида и мультиантигенный домен, закодированный в VSV, каждый содержит (ровно или по меньшей мере) два соответствующих опухолевых антигена, или их соответствующие фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен пептида и мультиантигенный домен, закодированный в VSV, каждый содержит (ровно или по меньшей мере) три соответствующих опухолевых антигена, или их соответствующие фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен пептида и мультиантигенный домен, закодированный в VSV, каждый содержит (ровно или по меньшей мере) четыре соответствующих опухолевых антигена, или их соответствующие фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен пептида и мультиантигенный домен, закодированный в VSV, каждый содержит (ровно или по меньшей мере) пять соответствующих опухолевых антигенов, или их соответствующие фрагменты

или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен пептида и мультиантигенный домен, закодированный в VSV, каждый содержит все шесть различных соответствующих опухолевых антигенов, или их соответствующие фрагменты или варианты, выбранные из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2.

Предпочтительно мультиантигенный домен, закодированный в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV), содержит аминокислотные последовательности каждого из антигенов, или их фрагменты или варианты последовательностей, которые содержатся в мультиантигенном домене пептида. В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен, закодированный в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV), включает одну или несколько дополнительных аминокислотных последовательностей, предпочтительно антигена(ов), или их фрагмента(ов) или варианта(ов) последовательности, которые не включены в мультиантигенный домен пептида. В других вариантах осуществления мультиантигенный домен, закодированный в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV), состоит из аминокислотных последовательностей каждого из антигенов, или их фрагментов или вариантов последовательностей, которые содержатся в мультиантигенном домене пептида.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен пептида содержит аминокислотные последовательности каждого из антигенов или их фрагментов мультиантигенного домена, который кодируется в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV). В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен пептида включает одну или несколько дополнительных аминокислотных последовательностей, предпочтительно антигена(ов), или их фрагмента(ов) или варианта(ов) последовательности, которые не включены в мультиантигенный домен, закодированный в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV). В других вариантах осуществления мультиантигенный домен пептида состоит из аминокислотных последовательностей каждого из антигенов, или их фрагментов или вариантов последовательностей, которые содержатся в мультиантигенном домене, закодированном в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV).

Предпочтительно мультиантигенный домен, закодированный в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV), может содержать как (i) KRAS-G12D

или его фрагмент или вариант последовательности; так и (ii) KRAS-G12V, или его фрагмент или вариант последовательности, тогда как мультиантигенный домен пептида может содержать или (i) KRAS-G12D или его фрагмент или вариант последовательности, или (ii) KRAS-G12V или его фрагмент или вариант последовательности. Соответственно, мультиантигенный домен, закодированный в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV) может содержать как (i) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности; так и (ii) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, тогда как мультиантигенный домен пептида может содержать или (i) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, или (ii) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

В некоторых вариантах осуществления мультиантигенный домен пептида может содержать как (i) KRAS-G12D или его фрагмент или вариант последовательности, так и (ii) KRAS-G12V, или его фрагмент или вариант последовательности, тогда как мультиантигенный домен, закодированный в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV) может содержать или (i) KRAS-G12D или его фрагмент или вариант последовательности, или (ii) KRAS-G12V, или его фрагмент или вариант последовательности. Соответственно, мультиантигенный домен пептида может содержать как (i) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности; так и (ii) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, тогда как мультиантигенный домен, закодированный в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV) может содержать или (i) аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, или (ii) аминокислотную последовательность

согласно SEQ ID NO: 12 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

Более предпочтительно в вакцине, наборе или комбинации в соответствии с изобретением

5           - мультиантигенный домен пептида содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 13 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %  
10 или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 13, или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 14, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 14, и

          - мультиантигенный домен, закодированный в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV), содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 19, или её вариант последовательности, имеющий по  
20 меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 19 или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 48, или её вариант  
25 последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 48.

30           Еще более предпочтительно в вакцине, наборе или комбинации в соответствии с изобретением

          - пептид содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 17, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере

75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 17, аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 18, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 18, аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 46, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 46, или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 47, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 47, и

20 - вирус везикулярного стоматита (VSV) содержит геном РНК, содержащий последовательность РНК согласно SEQ ID NO: 30 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, более предпочтительно по меньшей мере 75 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности с аминокислотной последовательностью SEQ ID NO: 30.

В некоторых вариантах осуществления вакцины, набора или комбинации в соответствии с изобретением вирус везикулярного стоматита (VSV) содержит геном РНК, который содержит (или состоит из) последовательность РНК, которая соответствует последовательности кРНК согласно SEQ ID NO: 49, или её варианту последовательности, как определено выше (например, вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 % идентичности последовательности).

Также предпочтительно, чтобы вакцина, набор или комбинация в соответствии с изобретением дополнительно содержали:

(iii) ингибитор пути PD-1/PD-L1.

5 Хотя, в общем, ингибитор пути PD-1/PD-L1 может быть предоставлен (а) в той же композиции или в том же контейнере, что и любой из компонентов (i) и (ii) (пептид и VSV); или (b) (пространственно) отдельным образом (например, в разных композициях или разных контейнерах), предпочтительно в вакцине, наборе и комбинации в соответствии с изобретением, чтобы ингибитор пути PD-1/PD-L1 был предоставлен отдельным образом (отдельно от (i) пептида и (ii) 10 VSV), например, в отдельном контейнере или в отдельной композиции. Используемый в настоящей заявке термин «ингибитор» включает в себя сокращение, уменьшение, блокирование и ингибирование пути PD-1/PD-L1, включая антагонисты (и обратные агонисты) пути PD-1/PD-L1.

В целом, путь PD-1/PD-L1 хорошо известен в данной области и описан, 15 например, в Han Y, Liu D, Li L. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. Am J Cancer Res. 2020 март 1;10(3):727-742. PD-1 (белок запрограммированной гибели клеток 1) и его лиганд PD-L1 (лиганд запрограммированной гибели клеток 1) хорошо известны своей ролью в ускользании рака от иммунного ответа.

20 Неограничивающие примеры ингибиторов пути PD-1/PD-L1 включают пембролизумаб (антитело против PD-1); ниволумаб (антитело против PD-1); пидилизумаб (антитело против PD-1); цемиплимаб (антитело против PD-1); PDR-001 (антитело против PD-1); атезолизумаб (антитело против PD-L1); авелумаб (антитело против PD-L1); дурвалумаб (антитело против PD-L1); и PD1-1, PD1-2 25 и PD1-3, как описано в настоящей заявке (антитела против PD-1).

Соответственно, ингибитор пути PD-1/PD-L1 может быть выбран из группы, включающей в себя пембролизумаб; ниволумаб; пидилизумаб; цемиплимаб; PDR-001; атезолизумаб; авелумаб; дурвалумаб, эзабенлимаб, антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную 30 последовательность SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 (PD1-1); антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 (PD1-2); и антитело, содержащее тяжелую

цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36 (PD1-3).

5 Другие антагонисты PD-1, раскрытые в Li и соавт. (см. выше), или известные как находящиеся в клинических испытаниях, такие как AMP-224, MEDI0680 (AMP-514), BMS-936559, JS001-PD-1, SHR-1210, BMS-936559, TSR-042, JNJ-63723283, MEDI4736, MPDL3280A, могут быть использованы в качестве альтернативы или в дополнение к вышеупомянутым антагонистам. Используемые в настоящей заявке INN также предназначены для охвата всех биоподобных антител, имеющих те же или, по существу, те же аминокислотные последовательности, что и исходное антитело, включая, помимо прочего, биоподобные антитела, разрешенные в соответствии с 42 USC §262 подразделом (k) в США и эквивалентными правилами в других юрисдикциях.

15 Антитела PD1-1, PD1-2 и PD1-3 представляют собой антитела, содержащие следующие последовательности тяжелой цепи (полной длины) и легкой цепи (полной длины):

- PD1-1: тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32;

20 - PD1-2: тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34;

- PD1-3: тяжелая цепь, содержащая аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36.

Предпочтительно, ингибитор пути PD-1/PD-L1 может быть выбран из группы, включающей в себя эзабенлимаб; антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 (PD1-1); антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 (PD1-2); и антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность

SEQ ID NO: 35 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36 (PD1-3).

Медицинское лечение и применение

Композиция в соответствии с настоящим изобретением как описано выше, пептид в соответствии с настоящим изобретением как описано выше, вирус везикулярного стоматита (VSV) в соответствии с настоящим изобретением как описано выше, набор в соответствии с настоящим изобретением как описано выше, вакцина в соответствии с настоящим изобретением как описано выше, или комбинация в соответствии с настоящим изобретением как описано выше могут быть использованы в медицине. Предпочтительно, композиция в соответствии с настоящим изобретением как описано выше, пептид в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше, вирус везикулярного стоматита (VSV) в соответствии с настоящим изобретением как описано выше, набор в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше, вакцина в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше или комбинация в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше могут быть использованы в лечении рака.

Соответственно, в настоящем изобретении также предложено применение композиции в соответствии с настоящим изобретением как описано выше, пептид в соответствии с настоящим изобретением как описано выше, вирус везикулярного стоматита (VSV) в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше, набор в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше, вакцина в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше, или комбинация в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше, для изготовления лекарственного средства для лечения рака.

В еще одном аспекте настоящее изобретение обеспечивает способ облегчения, лечения или снижения (риска возникновения) рака, или для индукции или усиления противоопухолевого ответа, причем способ включает в себя введение (эффективного количества) композиции в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше, пептида в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше, вируса везикулярного стоматита (VSV) в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше, набора в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше, вакцины в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше, или комбинации в

соответствии с настоящим изобретением, как описано выше, нуждающемуся в этом субъекту.

Предпочтительно, рак (как указано в вышеприведенных способах и применениях) является раком желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).  
5 Неограничивающие примеры рака ЖКТ включают в себя анальный рак; рак аппендикса; холангиокарциному/рак желчных протоков, в частности, рак внепеченочных желчных протоков; карциноидную опухоль желудочно-кишечного тракта; колоректальный рак, в частности, рак толстой кишки, рак прямой кишки и метастатический колоректальный рак; рак пищевода; рак  
10 желчного пузыря; рак желудка; гастроинтестинальная стромальную опухоль (GIST) и рак поджелудочной железы, такой как аденокарцинома протоков поджелудочной железы. Соответственно, рак преимущественно выбирают из группы, включающей в себя рак анального канала; рак аппендикса; холангиокарцинома/рак желчных протоков, в частности рак внепеченочных  
15 желчных протоков; карциноидную опухоль желудочно-кишечного тракта; колоректальный рак, в частности рак толстой кишки, рак прямой кишки и метастатический колоректальный рак; рак пищевода; рак желчного пузыря; рак желудка; гастроинтестинальная стромальная опухоль (GIST) и рак поджелудочной железы, такой как аденокарцинома протоков поджелудочной  
20 железы. Более предпочтительно, рак выбирают из группы, включающей в себя рак толстой кишки, рак прямой кишки, колоректальный рак, метастатический колоректальный рак, рак поджелудочной железы и аденокарциному протоков поджелудочной железы.

Для предусмотренного медицинского лечения, в частности, для лечения  
25 рака (например, как описано выше), пептид в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше, предпочтительно в сочетании с вирусом везикулярного стоматита (VSV) в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше. Соответственно, пептид для применения, как описано выше, можно вводить в сочетании с вирусом везикулярного стоматита (VSV) в  
30 соответствии с настоящим изобретением, как описано выше. Кроме того, вирус везикулярного стоматита (VSV) для применения, как описано выше можно вводить в сочетании с пептидом в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше. При таком комбинированном применении мультиантигенный домен пептида и мультиантигенный домен, закодированный в VSV,

предпочтительно адаптированы друг к другу, как подробно описано выше, в контексте вакцины, набора и комбинации в соответствии с изобретением, содержащих пептид и VSV.

В частности, «комбинация» или «комбинированное» применение пептида и VSV, как описано в настоящей заявке, обычно означает, что лечение пептидом, как описано в настоящей заявке, сочетают с лечением VSV, как описано в настоящей заявке. При таком комбинированном применении пептида и VSV в соответствии с настоящим изобретением, как описано выше (т. е., также для соответствующей вакцины, набора и комбинации в соответствии с изобретением, как описано выше), каждый из пептида и вируса везикулярного стоматита (VSV) обычно вводят по меньшей мере один раз. Предпочтительно пептид и вирус везикулярного стоматита (VSV) вводят последовательно (не одновременно).

Тем не менее, даже если один компонент (пептид или VSV) не вводят, например, в тот же день, что и другой компонент, их схемы лечения обычно переплетаются. Таким образом, может быть достигнута выгодная гетерологичная схема «прайм-буст», как описано выше. В частности, один компонент, например, пептид, может быть введен первым (как «прайм»), в то время как другой компонент, например, VSV, может быть введен позже (как «буст»); например, через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более дней или недель после «прайм». Таким образом, интервал между «праймом» и «бустом» обычно выбирают таким образом, чтобы можно было обнаружить сильный иммунный ответ. Предпочтительно пептид вводят до введения вируса везикулярного стоматита (VSV). Соответственно, может функционировать как «прайм», а VSV как «буст» в гетерологичной схеме «прайм-буст».

В некоторых вариантах осуществления пептид вводят по меньшей мере два раза, предпочтительно до и после введения VSV. Соответственно, пептид и вирус везикулярного стоматита (VSV) вводят в порядке К-V-К, где «К» относится к (однократному) введению пептида, а «V» относится к (однократному) введению VSV. В некоторых вариантах осуществления пептид вводят многократно. Например, пептид и вирус везикулярного стоматита (VSV) можно вводить в порядке К-V-К, К-V-К-К, К-V-К-К-К или К-V-К-К-К-К (где «К» относится к пептиду, а «V» к VSV). В некоторых вариантах осуществления

схема лечения содержит однократное введение вируса везикулярного стоматита (VSV), т. е. VSV вводят только один раз.

В некоторых вариантах осуществления пептид и VSV вводят с интервалом в 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 18, 19, 20, 21 день друг от друга, предпочтительно с интервалом от около 4 дней до около 24 дней друг от друга, более предпочтительно с интервалом от около 10 дней до около 18 дней друг от друга, еще более предпочтительно с интервалом от около 12 дней до около 16 дней друг от друга. В некоторых вариантах осуществления пептид вводят повторно, предпочтительно один раз в каждые 2-6 недель, более предпочтительно один раз в каждые 3-5 недель, еще более предпочтительно один раз в каждые 4 недели.

В некоторых вариантах осуществления доза пептида может составлять от около 0,5 нмоль до около 10 нмоль. В некоторых вариантах осуществления доза VSV может составлять от около  $10^6$  TCID<sub>50</sub> до около  $10^{11}$  TCID<sub>50</sub>. Предпочтительно доза VSV может составлять от около  $10^7$  TCID<sub>50</sub> до около  $10^9$  TCID<sub>50</sub>, более предпочтительно от около  $10^8$  TCID<sub>50</sub> до около  $10^9$  TCID<sub>50</sub>, или от около  $10^7$  TCID<sub>50</sub> до около  $10^8$  TCID<sub>50</sub>, более предпочтительно от около  $1 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub> до около  $1 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>.

Как правило, пептид и вирус везикулярного стоматита (VSV) можно вводить одним и тем же путем или разными путями введения. Предпочтительно путь введения выбирают из внутривенного, подкожного и внутримышечного введения. Предпочтительно пептид и VSV вводят через различные пути введения. Более предпочтительно пептид вводят подкожно, и вирус везикулярного стоматита (VSV) вводят внутривенно или внутриопухолево, предпочтительно, внутривенно.

(Комбинированное) применение пептида и VSV (также в вакцине, наборе и комбинации, как описано в настоящей заявке) может дополнительно включать введение ингибитора пути PD-1/PD-L1, такого как ингибиторы пути PD-1/PD-L1, описанные выше.

Соответственно, ингибитор пути PD-1/PD-L1 может быть выбран из группы, включающей в себя: пембролизумаб; ниволумаб; пидилизумаб; цемиплимаб; PDR-001; атезолизумаб; авелумаб; дурвалумаб, эзабенлимаб, антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, содержащую

аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32 (PD1-1); антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34 (PD1-2); и антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36 (PD1-3).

Ингибитор пути PD-1/PD-L1 вводят одновременно, последовательно или попеременно с пептидом или вирусом везикулярного стоматита (VSV). В некоторых вариантах осуществления ингибитор пути PD-1/PD-L1 вводят в тот же день и/или попеременно с пептидом.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ФИГУР

Далее будет приведено краткое описание прилагаемых фигур. Фигуры предназначены для более подробной иллюстрации настоящего изобретения. Однако они не предназначены для ограничения объекта изобретения каким-либо образом.

На фигуре 1 для примера 1 показана экспрессия транскриптов, кодирующих KRAS-uORF1-, TPX2-uORF1- и AURKA-uORF2, измеренная с помощью BaseScore на тканевых моносолях (HalioDX) и целых срезах опухолей (А). Были использованы зонды, соответствующие последовательностям антигенов KRAS-uORF1-, TPX2-uORF1- и AURKA-uORF2. Столбчатые диаграммы отображают количественную оценку экспериментов с помощью автоматизированного алгоритма подсчета баллов (HALO-Indica lab). Следует обратить внимание, что здоровая ткань, прилегающая к КРР, характеризуется существенно более высокой экспрессией интересующих транскриптов, чем нормальная здоровая ткань толстой кишки. (В) Экспрессия транскриптов KRAS, TPX2 и AURKA на основе РНК-секвенирования в здоровой нормальной толстой кишке/поджелудочной железе по сравнению с прилегающей к опухоли толстой кишке/поджелудочной железе тканью (TCGA/GTEX). Данные об экспрессии мРНК KRAS, TPX2 и AURKA были извлечены из следующих общедоступных баз данных: Cancer Genome Atlas (TCGA) и Genotype-Tissue Expression (GTEx). (С) Трансляция ORF KRAS-uORF1-, TPX2-uORF1- и AURKA-uORF2-опухолевых антигенов в опухолях поджелудочной железы (PDAC), желудка (GC) и колоректального (CRC) человека или в здоровой ткани, прилегающей к опухоли.

Трансляцию измеряли с помощью RiboSeq. Количество внутрирамочных прочтений в соответствующих ORF было нормализовано по длине ORF (предполагая, что трансляция управляется самым внутренним возможным стартовым кодоном) и размеру библиотеки образцов (т. е. сумма всех  
5 обрезанных прочтений в картировании образца на геном человека после удаления прочтений, полученных из рРНК и тРНК). Для оценки статистической значимости был проведен непарный двухсторонний t-тест (\*  $p < 0,05$ ; \*\*  $p < 0,01$ ; \*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*\*\*  $p < 0,0001$ ).

На фигуре 2 для примера 2 показана (А) экспрессия транскриптов  
10 DUOXA2 и CEACAM5 в различных опухолях желудочно-кишечного тракта, а также в здоровых тканях (TCGA/GTEX). (В) Экспрессия белка CEACAM5, измеренная с помощью иммуногистохимического окрашивания на тканевых монослоях (HaloDX). Столбчатая диаграмма (верхняя панель) отображает количественную оценку эксперимента. (С) Экспрессия транскрипта DUOXA2,  
15 измеренная с помощью RNAScore на тканевых монослоях (HaloDX). Столбчатая диаграмма (левая панель) отображает количественную оценку эксперимента.

На фигуре 3 для примера 3 показана (А) совместная экспрессия на  
уровне мРНК мутантного KRAS-G12D/V с CEACAM5 и DUOXA2 при раке  
20 поджелудочной железы (PDAC) и колоректальном раке (CRC) (на основе различных наборов данных, базирующихся на RNASeq, включая TCGA). (В) Иммуногенность эпитопов, полученных из KRAS-uORF1, TPX2-uORF1, AURKA-uORF2, KRAS-G12D/V, а также для DUOXA2. Праймирование *in vitro* проводили с использованием указанных пептидов (например, KLVVVGADGV) в контексте  
25 заданных аллелей HLA (например, HLA-A\*0201) для стимуляции специфических ответов Т-клеток среди здоровых донорских РВМС. Культуры, обогащенные таким образом пептид-специфическими Т-клетками, впоследствии анализировали на различных линиях опухолевых клеток, импульсированных соответствующими пептидами (специфический ответ). Параллельно те же линии  
30 опухолевых клеток импульсировались либо нерелевантным контрольным пептидом, либо не импульсировались вообще (неспецифический фоновый ответ). Активацию Т-клеток измеряли с помощью IFN $\gamma$  ELISpot. На панели (В) каждое пятно соответствует разной линии опухолевых клеток или цели моDC. Показано соотношение специфического ответа к неспецифическому фоновому

ответу. Соотношение выше 1 указывает на специфический ответ Т-клеток. Отрицательный контроль (т. е. пептидный эпитоп, который не вызвал специфический ответ Т-клеток) включен в панель.

На фигуре 4 для примера 4 показано представление эпитопов, полученных из АТР150 и АТР152, человеческими mDC. mDC инкубировали либо с АТР150, либо с АТР152, чтобы обеспечить обработку вакцины эндогенным механизмом представления антигена. Перекрестно представленный антиген впоследствии анализировали с помощью масс-спектрометрии. На панели обнаруженные пептидные эпитопы были нанесены на остов АТР150/АТР152, чтобы визуализировать область, из которой они получены. Каждая линия соответствует одному из 10 доноров РВМС. Следует обратить внимание, что 10 доноров отличаются друг от друга своим гаплотипом HLA и, следовательно, должны представлять разные пептидные эпитопы.

На фигуре 5 для примера 5 показана иммуногенность после гетерологичной вакцинации «прайм-буст» АТР150/VSV-GP154. IFN $\gamma$ -продуцирующие CEACAM5- и DUOXA2-специфические Т-клетки по данным ELISpot (А) Схема протокола «прайм-буст». Мыши [n=5] были как праймированы (d0), так и усилены (день 14) посредством 10 нмоль АТР150 (п/к), или праймированы (d0) посредством 10 нмоль АТР150 (п/к) и усилены (день 14) посредством 10<sup>7</sup> TCID<sub>50</sub> VSV-GP154 (в/в). (В) На 21-й день спленоциты были собраны и импульсированы перекрывающимися 11-мерными пептидами, соответствующими областям CEACAM5 и DUOXA2, включенным в вакцину. \*\*\* p $\leq$ 0,001; \*\*\*\* p $\leq$ 0,0001.

На фигуре 6 для примера 6 показан (А) рост опухоли (среднее значение  $\pm$  SEM) и (В) выживаемость мышей, которым подкожно вводили 1x10<sup>5</sup> клеток ТС-1 и иммунизировали посредством 2 нмоль пептидной конструкции (мультиантигенный домен «Mad25») подкожно через 7 дней или посредством 1x10<sup>7</sup> TCID<sub>50</sub> VSV-GP-HPV внутривенно через 14 дней после имплантации опухоли. Дополнительные дозы К и V вводили, как указано пунктирными линиями, и отслеживали рост опухоли (n=7).

На фигуре 7 для примера 7 показан график вакцинации (А) и обнаружение HPV-специфичных Т-клеток CD8 (В) после гетерологичного «прайм-буста» и анти-PD-1 у мышей с опухолью ТС-1. У мышей брали кровь на 14, 21, 35, 42, 56 день, проводили мультимерное окрашивание, выявляющее

HPV-специфические Т-клетки CD8, и анализировали методом проточной цитометрии.

На фигуре 8 для примера 7 показана эффективность гетерологичной вакцинации «прайм-буст» и анти-PD-1 у мышей с опухолью TC-1. Средний  
5 объем опухоли и кривая выживаемости мышей C57BL/6 мышей (n=7 мышей/группу) с имплантированными подкожно клетками TC-1. Мыши были вакцинированы пептидной конструкцией (мультиантигенный домен «Mad25») (K, 2 нмоль/ мышь; п/к) и VSV-GP-HPV (V;  $10^7$  TCID<sub>50</sub>/мышь; в/в). Анти-PD-1 (200 мкг) вводили внутривенно. Указано количество мышей без опухолей.

10 На фигуре 9 для примера 8 показана эффективность гетерологичной вакцинации «прайм-буст», сравнивающая три различные дозы VSV-GP-HPV у мышей с опухолями. Показаны объемы опухолей (верхняя/левая панель) и кривые выживаемости (нижняя/правая панель) мышей C57BL/6 (n=7 мышей/группу) которым подкожно имплантировали клетки TC-1. Мышей  
15 вакцинировали на 7, 14 и 28 день (Vac) или пептидной конструкцией (мультиантигенный домен «Mad25») (K), или VSV-GP-HPV (V) в 3 различных дозах,  $1 \times 10^7$ ,  $3 \times 10^7$  или  $5 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub>. Среднее выживание указано на графике (ms). \*, p<0,05; \*\*, p<0,01; \*\*\*, p<0,001.

### ПРИМЕРЫ

20 Пример 1: Опухолевые антигены, закодированные в 5' UTR KRAS мРНК (KRAS-uORF1), TPX2 мРНК (TPX2-uORF1) и AURKA мРНК (AURKA-uORF2)

Были идентифицированы новые опухолевые антигены, которые кодируются в открытых рамках считывания (ORF) в 5' UTR KRAS мРНК (KRAS-uORF1), TPX2 мРНК (TPX2-uORF1) и AURKA мРНК (AURKA-uORF2). Опухолевые  
25 антигены (пептиды) также упоминаются в настоящей заявке как «пептид KRAS-uORF1» или «KRAS-uORF1», «пептид TPX2-uORF1» или «TPX2-uORF1», и «пептид AURKA-uORF2» или «AURKA-uORF2», соответственно. Соответствующие опухолевые антигены имеют аминокислотные последовательности согласно SEQ ID NO: 1 (пептид KRAS-uORF1), SEQ ID NO: 3 (пептид TPX2-uORF1) и SEQ ID NO: NO 5 (пептид AURKA-uORF2).  
30

Поскольку uORF часто характеризуются необычными, неканоническими сайтами начала трансляции, а KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2 не содержат обычного стартового кодона, сначала было подтверждено, что они могут быть транслированы в линиях раковых клеток человека. С этой целью

антигены были слиты N-концом с dTomato, и экспрессия полученных флуоресцентных белков слияния была подтверждена с помощью проточной цитометрии.

5 Для изучения экспрессии KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2 в опухоли на уровне РНК использовали обнаружение соответствующих транскриптов BaseScore. Для этого использовали зонды, соответствующие только самим кодирующим последовательностям KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2. Это позволяет различать те транскрипты мРНК локуса гена, которые кодируют интересующий опухолевый антиген, и те, которые этого не делают (например, согласно Ensembl, локус гена AURKA охватывает 13 альтернативно сплайсированных транскриптов, причем семь из этих 13 транскриптов кодируют полноразмерную киназу AURKA, но только три кодируют AURKA-uORF2).

15 В первом эксперименте транскрипция, т. е. генерация соответствующих транскриптов мРНК KRAS, TPX2, и AURKA, оценивалась в (i) опухолях поджелудочной железы и колоректальных опухолях, (ii) прилегающих к опухоли «здоровых» тканях; и (iii) здоровых тканях из не пораженных органов. С этой целью окрашивание проводили на LEICA Bond Max©. Предметные стекла оценивали на качество РНК с использованием положительного контрольного зонда (ген «домашнего хозяйства» PPIB).

20 После испытаний контроля качества предметные стекла были протестированы с помощью зонда: Basescope® 2.5 LS Probe BA-Hs-Aurka-Tu-1-1zz-stC1 Lot: 21175A (ACD#1084338-C1), Basescope® LS Probe BA-Hs-KRAS-1zz-stC1 Lot: 21175A (ACD#1084358) в соответствии с инструкцией производителя. Предметные стекла были контрастно окрашены гематоксилином и смонтированы с использованием монтажной среды VectaMount. Изображение всего предметного стекла было отсканировано при 40-кратном увеличении объектива с помощью Nanozoomer S360© Digital Pathology Scanning System (Hamamatsu). Количество раковых клеток с  $\geq 1$  красным цветовым сигналом (положительные раковые клетки) оценивали как положительное. Процент положительных раковых клеток был рассчитан с помощью программного обеспечения HALO (Indica Lab) сертифицированным патологоанатомом.

30 Поскольку пептидные опухолевые антигены KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2 не имеют известных доменов, маловероятно, что они стабильно

сворачиваются и накапливаются в клетке. Не привязываясь к какой-либо теории, предполагают, что они подвергаются быстрой протеасомной деградации, что может быть выгодно, поскольку это может привести к образованию антигенных эпитопов. Однако ожидаемые сверхнизкие уровни равновесного белка этих объектов делают их, по существу, необнаружимыми антителами. Тем не менее, чтобы оценить их трансляцию (т. е. синтез белка) в опухолях поджелудочной железы (PDAC), желудка (GC) и колоректального рака (CRC) человека (или прилегающих к опухоли здоровых тканях), заявители прибегли к методу RiboSeq technique (Ingolia, N.T., Ghaemmaghami, S., Newman, J.R.S., и Weissman, J.S. (2009). Genome-Wide Analysis in Vivo of Translation with Nucleotide Resolution Using Ribosome Profiling. *Science* 324, 218–223). Вкратце, по меньшей мере 200 мг свежезамороженных опухолевых тканей, а также соответствующих тканей, прилегающих к опухоли, полученных из PDAC [n = 12; только пять из которых с материалом, прилегающим к опухоли], GC [n = 5], и CRC [n = 44] были приобретены у коммерческого поставщика (Indivumed GmbH, Гамбург) для подготовки библиотеки RiboSeq, секвенирования (NovaSeq6000;  $\geq 200$  млн. прочтений/библиотеку) и биоинформатического анализа в партнерской CRO (TB-Seq Inc, Южный Сан-Франциско). Адаптеры были обрезаны с помощью Cutadapt перед выравниванием их со сборкой генома человека GRCh38.p13 с использованием STAR. Было подтверждено, что рибосомные отпечатки соответствуют ожидаемому спектру длин. 28-36-меры рассматривали для дальнейшего анализа. Качество набора данных и правильная периодичность 3-нуклеотидов были подтверждены путем оценки распределений прочтений метагена вокруг старт/стоп-кодонов. Для количественной оценки трансляции AURKA-uORF2, TPX2-uORF1 и KRAS-uORF1 количество соответствующих внутрирамочных прочтений (умноженное на 107) было нормализовано по длине ORF (при условии, что трансляция управляется самым внутренним стартовым кодоном, поддерживаемым RiboSeq) и размеру библиотеки образцов (т. е. сумма всех обрезанных, картируемых прочтений после удаления последовательностей, полученных из рРНК и тРНК), чтобы обеспечить возможность сравнения между образцами.

Результаты показаны на фигуре 1 с экспрессией транскриптов, кодирующих KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2 (A), экспрессией транскриптов KRAS, TPX2 и AURKA на основе РНК-секвенирования в здоровой нормальной

толстой кишке/поджелудочной железе по сравнению с прилегающей к опухоли  
тканью толстой кишки/поджелудочной железы (B) и трансляцией интересующих  
uORF в опухолях поджелудочной железы (PDAC), желудка (GC) и  
колоректального рака (CRC) человека или в здоровой ткани, прилегающей к  
5 опухоли (C).

Эти данные продемонстрировали сильную экспрессию соответствующих  
транскриптов KRAS, TPX2 и AURKA в опухолях поджелудочной железы и  
колоректальных опухолях (фигура 1A), в то время как нормальная здоровая  
ткань толстой кишки, поджелудочной железы и других органов показала только  
10 низкий сигнал выше фонового (фигура 1A). Это подчеркивает, что  
закодированные опухолевые антигены, вероятно, являются мишенью для этих  
видов рака. «Здоровая» ткань, прилегающая к опухоли, в отличие от  
действительно здоровой ткани из не пораженных органов, показала  
промежуточный сигнал транскрипта. Эта тенденция также наблюдается в  
15 наборах данных TCGA/GTEch на основе RNASeq (фигура 1B) и указывает на  
транскрипционную дисрегуляцию, распространяющуюся из места опухоли в  
непосредственно соседние области. Таким образом, не привязываясь к какой-  
либо теории, предполагают, что здоровая ткань, прилегающая к опухоли, не  
всегда может быть полностью репрезентативной для действительно здоровой  
20 ткани.

На фигуре 1C показано, что пептидные опухолевые антигены KRAS-uORF1,  
TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2 экспрессируются в опухолях, хотя и в разной  
степени при разных показаниях, включая рак поджелудочной железы, желудка и  
колоректальный рак. В целом, низкий синтез или его отсутствие наблюдалось в  
25 здоровой ткани, непосредственно граничащей с опухолью (фигура 1C). Не  
привязываясь к какой-либо теории, предполагают, что трансляция KRAS-uORF1,  
TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2 не обнаруживается в большинстве здоровых  
тканей, прилегающих к опухоли, хотя BaseScope (фигура 1A) и RNASeq (фигура  
1B) предполагают экспрессию соответствующих транскриптов мРНК из-за  
30 селективной для опухоли повышающей регуляции трансляции ORF против хода  
транскрипции, что может быть связано с самим процессом возникновения  
опухоли. Таким образом, для KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2  
специфичная для рака трансляция может добавить дополнительный уровень

опухолевой специфичности поперх в значительной степени специфичной для рака транскрипции.

Пример 2:Профили экспрессии дополнительных опухолевых антигенов CEACAM5 и DUOXA2

5 Для выбора дополнительных интересующих опухолевых антигенов данные по экспрессии мРНК CEACAM5 и DUOXA2 были извлечены из следующих общедоступных баз данных: Cancer Genome Atlas (TCGA) и Genotype-Tissue Expression (GTEx). На основе селективной для опухоли экспрессии согласно общедоступному RNASeq (фигура 2A) были выбраны CEACAM5 и DUOXA2.

10 Впоследствии профиль экспрессии CEACAM5 и DUOXA2 был экспериментально подтвержден в опухолях человека, а также в неопухолевой ткани желудочно-кишечного тракта. Для измерения экспрессии CEACAM5 у коммерческого поставщика (Indivumed GmbH, Гамбург) были приобретены массивы тканей, фиксированных формалином и залитых парафином (FFPE).  
15 После тестов контроля качества окрашивание CEACAM5 было выполнено с помощью ImmunoHistoChemistry с использованием специфичных для CEACAM5 антител (Dako M707229-2). Предметные стекла были контрастно окрашены гематоксилином и смонтированы с использованием монтажной среды VestaMount. Изображение всего предметного стекла было отсканировано при 40-  
20 кратном увеличении объектива с помощью системы цифрового сканирования патологии Nanozoomer S360© (Hamamatsu). Количество раковых клеток с  $\geq 1$  красным цветовым сигналом (положительные раковые клетки) было оценено как положительное. Процент положительных раковых клеток был рассчитан сертифицированным патологоанатомом с помощью программного обеспечения  
25 HALO (Indica Lab).

Далее, экспрессия DUOXA2 была исследована в тканях желудочно-кишечного тракта. С этой целью были приобретены массивы тканей, фиксированных формалином и залитых парафином (FFPE), у коммерческого поставщика (Indivumed GmbH, Гамбург). Качество РНК на предметных стеклах  
30 оценивали с использованием зонда положительного контроля (ген «домашнего хозяйства» PPIB). После тестов контроля качества экспрессия транскрипта DUOXA2 была выполнена с использованием зонда RNAscore для DUOXA2 (Bio-Techne HD-RM-000619) в соответствии с инструкцией производителя. Предметные стекла были контрастно окрашены гематоксилином и смонтированы

с использованием монтажной среды VectaMount. Изображение всего предметного стекла было отсканировано при 40-кратном увеличении объектива с помощью системы сканирования цифровой патологии Nanozoomer S360© (Hamamatsu). Количество раковых клеток с  $\geq 1$  красным цветовым сигналом (положительные раковые клетки) было оценено как положительное. Процент положительных раковых клеток был рассчитан сертифицированным патологоанатомом с помощью программного обеспечения HALO (Indica Lab).

Результаты показаны на фигуре 2. В частности, CEACAM5 был обнаружен иммуногистохимическим методом в 80–100 % случаев рака поджелудочной железы и колоректального рака, но не в полностью здоровой или прилегающей к опухоли здоровой ткани (фигура 2B). Экспрессия DUOXA2 была четко обнаружена в 37–74 % случаев рака поджелудочной железы и колоректального рака, тогда как экспрессия в соответствующих здоровых тканях была редкой (например, только в одном из 16 случаев рака поджелудочной железы) (фигура 2C).

Пример 3: Иммуногенность антигенов KRAS-uORF1, TPX2-uORF1, AURKA-uORF2, CEACAM5, DUOXA2 и KRAS-G12D/V

В дополнение к опухолевым антигенам из примеров 1 и 2 выше, в дальнейший анализ был включен еще один интересующий опухолевый антиген, а именно KRAS, в частности, KRAS-G12D/V. Онкогенные драйверные мутации KRAS-G12D/V обычно не встречаются вне опухолей.

На первой стадии была проведена совместная экспрессия на уровне мРНК мутантного KRAS-G12D/V с CEACAM5 и DUOXA2 при раке поджелудочной железы (PDAC) и колоректальном раке (CRC) (на основе различных наборов данных, основанных на RNASeq, включая TCGA).

Кроме того, эпитопы МНС класса I для KRAS-uORF1, TPX2-uORF1, AURKA-uORF2, а также для DUOXA2 были предсказаны с использованием алгоритма прогнозирования NetMHCpan 4.1 для идентификации пептидов, которые связываются с определенными аллелями HLA класса I. Подмножество этих пептидов и соответствующих донорских PBMC, экспрессирующих аллель HLA, затем использовали для экспериментов по праймированию *in vitro* для определения иммуногенности. С этой целью дендритные клетки были выделены из этих PBMC и импульсированы выбранными пептидами, прежде чем они были

использованы для стимуляции аутологичных Т-клеток CD8, чей ответ измеряли с помощью анализов IFN $\gamma$  ELISpot.

Затем иммуногенность KRAS-G12D/V была проанализирована с использованием двух независимых здоровых доноров мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC). Для этого Т-клетки CD8<sup>+</sup> были выделены из здоровых донорских мононуклеарных клеток периферической крови (PBMC) путем магнитной сортировки клеток с использованием CD8 MicroBeads и колонок (Miltenyi Biotec, Бергшиш-Гладбах, Германия). Моноциты были выделены из истощенных PBMC CD8<sup>+</sup> путем пластиковой адгезии и впоследствии обработаны цитокинами для генерации и созревания дендритных клеток (DC, антигенпредставляющих клеток). Выбор доноров осуществляли на основе экспрессии ими специфических аллелей HLA, которые предсказываются для представления соответствующего пептида ДК. Т-клетки CD8<sup>+</sup> были праймированы по меньшей мере 3 раза посредством нагруженных пептидом ДК, прежде чем был протестирован их специфический иммунный ответ против пептида. Цикл праймирования включал совместное культивирование Т-клеток CD8<sup>+</sup> и нагруженных пептидом ДК в течение 7-10 дней. После 3 циклов праймирования Т-клетки CD8 были высеяны в анализе ELISpot (Immunospot, Shaker Heights, OH 44122) для оценки их способности секретировать IFN- $\gamma$  после ночной стимуляции линиями опухолевых клеток или нагруженных пептидом ДК. Пятна подсчитывали с помощью ридера ELISPOT.

Результаты показаны на фигуре 3. Как показано на фигуре 3А, анализ совместной экспрессии на уровне мРНК мутантного KRAS-G12D/V с CEACAM5 и DUOXA2 при раке поджелудочной железы (PDAC) и колоректальном раке (CRC) показал, что 59 % опухолей PDAC/CRC с мутацией KRAS-G12D/V экспрессируют как транскрипты CEACAM5, так и DUOXA2 при > 5 TPM. На фигуре 3В показана иммуногенность эпитопов, полученных из KRAS-uORF1, TPX2-uORF1, AURKA-uORF2, KRAS-G12D/V, а также для DUOXA2. Все протестированные пептиды оказались иммуногенными (фигура 3В). Это свидетельствует о том, что родственные Т-клетки, вероятно, будут доступны для активации у онкологических пациентов.

Пример 4: Разработка и оценка пептидов, содержащих проникающий в клетку пептид, мультиантигенный домен и агонист TLR

Затем были разработаны пептиды, содержащие (i) проникающий в клетку пептид, (ii) мультиантигенный домен и (iii) агонист TLR, по существу, как описано в WO 2016/146260. С этой целью были разработаны два различных мультиантигенных домена, которые содержат или (иммуногенные) фрагменты KRAS-uORF1, TPX2-uORF1, AURKA-uORF2, KRAS-G12D, CEACAM5 и DUOXA2; или (иммуногенные) фрагменты KRAS-uORF1, TPX2-uORF1, AURKA-uORF2, KRAS-G12V, CEACAM5 и DUOXA2.

Мультиантигенный домен обеих конструкций содержит следующие антигенные фрагменты CEACAM5:

CEACAM5-1

NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTLDVL

[SEQ ID NO: 6]

15

CEACAM5-2

PDSSYLSGANLNLSCHSAS

[SEQ ID NO: 7]

20

CEACAM5-3

PQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASG  
TSPGLSA

[SEQ ID NO: 8]

25

На основе трех различных фрагментов была разработана конструкция слияния CEACAM5 в соответствии с следующей последовательностью для мультиантигенного домена обеих конструкций:

NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCH  
SASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVS  
ASGTSPGLSA

30

[SEQ ID NO: 9]

DUOXA2:

TGVLSLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLLDQSAKD

[SEQ ID NO: 10]

KRAS-uORF1:

VAAARPVLPAPAISDWERARRRH

[SEQ ID NO: 1]

5

TPX2-uORF1:

VGRKEGAARARVSLLEPEFGTAEVHLPAPSAVRAARPGF

[SEQ ID NO: 3]

10 AURKA-uORF2:

GGDKGRLVGVVAERQVPCRFLRP

[SEQ ID NO: 5]

15 Мультиантигенный домен обеих конструкций отличается тем, что один содержит фрагмент KRAS-G12D (SEQ ID NO: 11), тогда как другой содержит фрагмент KRAS-G12V (SEQ ID NO: 12):

KRAS-G12D:

TEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQ

20 (SEQ ID NO: 11)

KRAS-G12V:

TEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQ

(SEQ ID NO: 12)

25

Две различные пептидные конструкции упоминаются как «ATP150» (содержащий KRAS-G12D) и «ATP152» (содержащий KRAS-G12V). Они включают в себя следующие мультиантигенные домены:

30 мультиантигенный домен ATP150:

NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCH  
SASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVS  
ASGTSPGLSATEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQVAAARPVLPAPAISDWERAR

RRHVGRKEGAARARVSLLEPFGTAEVHLPAPSAVRAARPGFGGDKGRLVGVAE  
RQVPCRFLRPTGVLSLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLLDQSAKD  
[SEQ ID NO: 13]

5 мультиантигенный домен ATP152:

NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCH  
SASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVS  
ASGTSPGLSATEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQVAAARPVLPAPAISDWERAR  
RRHVGRKEGAARARVSLLEPFGTAEVHLPAPSAVRAARPGFGGDKGRLVGVAE  
10 RQVPCRFLRPTGVLSLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLLDQSAKD  
[SEQ ID NO: 14]

Как описано выше, пептидные конструкции ATP150 и ATP152 содержат, в  
дополнение к мультиантигенному домену, проникающий в клетку пептид.  
15 Проникающий в клетку пептид, содержащийся в ATP150 и ATP152, имеет  
следующую последовательность:

KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLK  
[SEQ ID NO: 15]

20 Кроме того, пептидные конструкции ATP150 и ATP152 дополнительно  
содержат агонист TLR:

STVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDAE  
[SEQ ID NO: 16]

В итоге, пептидные конструкции ATP150 и ATP152 имеют следующие  
последовательности:

25 ATP150  
MKRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLKNRTLTLFNVT  
RNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRI  
NGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSA  
30 TEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQVAAARPVLPAPAISDWERARRRHVGRKEG  
AARARVSLLEPFGTAEVHLPAPSAVRAARPGFGGDKGRLVGVAERQVPCRFLR  
PTGVLSLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLLDQSAKDSTVHEILSKLSLEGDHSTPPS  
AYGSVKPYTNFDAE  
[SEQ ID NO: 17]

ATP152

MKRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKNRTLTLFNVT  
RNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRI  
5 NGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSA  
TEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQVAAARPVLPAPAISDWERARRRHVGRKEG  
AARARVSLLPFGTAEVHLPAPSAVRAARPGFGGDKGRLVGVAERQVPCRFLR  
PTGVLSLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLDDQSAKDSTVHEILSKLSLEGDHSTPPS  
AYGSVKPYTNFDAE

10 [SEQ ID NO: 18]

Затем иммуногенность антигенов/антигенных фрагментов, содержащихся в  
мультиантигенном домене ATP150 и ATP152, была протестирована на  
человеческих дендритных клетках, полученных из моноцитов (moDC). Для этого  
15 клетки были извлечены из свежих человеческих продуктов лейкофереза,  
называемых Leukopakts, поставляемых Tissue Solution (Шотландия). Типирование  
HLA 15 доноров было проведено Отделением иммунологии и трансплантологии  
и Национальной референтной лабораторией гистосовместимости (LNRH)  
Университетской больницы Женевы. Мононуклеарные клетки периферической  
20 крови (PBMC) из образцов лейкопакса были приготовлены после  
центрифугирования в градиенте плотности на Ficoll-Paque и моноциты были  
обогащены методом холодной агрегации. Оставшиеся Т-лимфоциты были  
удалены с помощью розеткообразования с эритроцитами барана и  
центрифугирования в градиенте плотности на Ficoll-Paque. Затем моноциты  
25 высевали на полную среду RPMI с добавлением GM-CSF и IL-4 в течение 7  
дней. Затем клетки концентрировали и добавляли интерферон альфа 2a вместе с  
600 нМ АТФ150 или АТФ152. Клетки инкубировали в течение ночи при 37 °C и  
5 % CO<sub>2</sub>. Затем клетки соскабливали, нумеровали и центрифугировали.  
Супернатант аспирировали, а клеточный осадок был заморожен при -20 °C перед  
30 лигандным анализом.

Клеточный осадок лизировали буфером солюбилизации и  
гомогенизировали с помощью импульсной ультразвуфикации. После удаления  
дебриса и стерильной фильтрации молекулы HLA класса I и класса II выделяли  
из растворимой фракции с помощью стандартной иммуноаффинной очистки.

Затем лиганды HLA элюировали кислотным элюированием и выделяли ультрацентрифугированием, обессоливали и предварительно концентрировали перед анализом ЖХ-МС/МС.

Образцы пептидов разделяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на основе нанопотока (RSLCnano, Thermo Fisher Scientific) с использованием колонки для быстрой разделительной жидкостной хроматографии PerMap размером 50 мкм x 25 см (Thermo Fisher Scientific) и градиента ацетонитрила от 2,4 % до 32,0 % в течение 90 минут. Элюирующие пептиды анализировали в онлайн-соединенном масс-спектрометре LTQ Orbitrap Fusion Lumos (Thermo Fisher Scientific) с использованием метода фрагментации с высокоскоростной диссоциацией, вызванной столкновениями (CID), для HLA класса I или метода фрагментации с более высокой энергией, вызванной столкновениями (HCD), для HLA класса II. Для количественной оценки без меток (LFQ) относительного содержания лигандов HLA между загруженными и не загруженными активированными образцами ATP150 (или ATP152) инъецированные количества пептидов парных образцов, рассчитанные на основе средних интенсивностей ионов-предшественников, определенных в циклах поиска дозы, были нормализованы, и анализ ЖХ-МС/МС был выполнен в пяти технических повторах для каждого образца.

Необработанные файлы обрабатывали с помощью Proteome Discoverer 1.4 (Thermo Fisher Scientific). Поисковая система SEQUEST HT (Университет Вашингтона) была использована для поиска человеческого протеома, содержащегося в базе данных Swiss-Prot, в сочетании с конструкцией ATP150 (или ATP152). После обработки данных применяли специальные фильтры. Для класса I данные фильтровали с FDR 5 %, длиной пептида 8-12 аминокислот и рангом поисковой системы 1. Для класса II данные фильтровали с FDR 1 %, длиной пептида 8-25 аминокислот и рангом поисковой системы 1. Вывод белка был отключен, что позволяло выполнять множественные аннотации белка пептидов. Для определения связывающих пептидов HLA класса I использовали алгоритм NetMHCpan-3.0 с процентильным рангом связывания ниже 2 % и алгоритм SYFPEITHI с порогом 50 % от максимального балла.

Результаты показаны на фигуре 4. Эти данные показывают, что полученные из моноцитов человеческие дендритные клетки (moDC), которые инкубировали с ATP150 или ATP152, представляли эпитопы MHC класса I и/или MHC класса II,

полученные из всех включенных антигенов, что дополнительно подтверждает, что эндогенная обработка в профессиональных антигенпредставляющих клетках может управлять отображением значимых антигенов на Т-клетках CD8 и CD4 пациентов. Эпитопы SEACAM5 и DUOXA2 представлены посредством МНС класса I в опухолях желудочно-кишечного тракта человека *in vivo*.

Исследование лигандомного анализа подтверждает правильную доставку АТР150 и АТР152 в клетки человеческих moDC, трансляцию мультиантигенного домена АТР150 и АТР152, а также мультиэпитопную и мультиаллельную обработку и представление всех антигенов мультиантигенного домена АТР150 и АТР152.

Пример 5: SEACAM5- и DUOXA2-специфический ответ Т-клеток на гетерологичную прайм-буст вакцинацию АТР150/VSV-GP154

Далее антигенспецифические ответы Т-клеток оценивали в гетерологичной схеме прайм-буст вакцинации, где АТР150 (как описано в примере 4 выше) был объединен с рекомбинантным вирусом везикулярного стоматита (VSV), кодирующим соответствующие антигены/антигенные фрагменты (далее именуемые «VSV-GP154»), как описано ниже.

Мультиантигенный домен, закодированный в VSV, содержит антигены/антигенные фрагменты в соответствии с SEQ ID NO: 1, 3 и 5 – 12. Мультиантигенный домен VSV-GP154 имеет следующую аминокислотную последовательность:

MNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANL  
NLSCHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIV  
KSITVSASGTSPGLSATEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQTEYKLVVVGAVGVG  
KSALTIQLIQVAAARPVLPAPAISDWERARRRHVGRKEGAARARVSLLEPEFGTA  
EVHLPAPSAVRAARPGFGDKGRLVGVAERQVPCRFLRPTGVLSLFLGGAVVS  
LQYVRPSALRTLLDQSAKD

[SEQ ID NO: 19]

В частности, VSV-GP154 имеет последовательность согласно SEQ ID NO: 30 (последовательность РНК VSV-GP154, комплемент без реверса). Соответствующая последовательность кДНК представлена в SEQ ID NO: 49.

Для тестирования антигенспецифических Т-клеточных реакций, которые оценивали в гетерологичной схеме вакцинации «прайм-буст», периферический иммунный ответ на 21-й день (через 1 неделю после стимуляции VSV-GP154)

исследовался для определения CEACAM5 и DUOXA2-специфических Т-клеток методом иммуноферментного спота (ELISpot) у мышей. С этой целью мышам C57BL/6 (возрастом 6 и 10 недель) были введены 2 цикла вакцинации: первая подкожная вакцинация 10 нмоль ATP150; стимуляция 10 нмоль ATP150 подкожно или 107 TCID50 VSV-GP154 внутривенно на 14-й день. На 21-й день забирали селезенку. Клетки селезенки выделяли и оценивали в анализе ELISpot. Анализ ELISpot проводили с использованием набора Murine IFN $\gamma$ ELISpot Diaclone (Ref. 862.031.015S) в соответствии с инструкциями производителя. Спленоциты выделяли с помощью Ficoll Paque Plus, GE Healthcare, ref. 171440.02 и высеивали в градиенте концентрации от  $2 \times 10^5$ – $1.0 \times 10^6$  клеток. Клетки импульсировали перекрывающимися 11-мерными пептидами, соответствующими областям CEACAM5 и DUOXA2, включенным в ATP150 и VSV-GP154. Пятна подсчитывали с помощью ридера ELISPOT.

На фигуре 5 показан протокол «прайм-буст» (А) и результаты (В). Буст с VSV-GP154 способствует мощному увеличению CEACAM5 и DUOXA2-специфических IFN $\gamma$ -продуцирующих Т-клеток по сравнению с гомологичным «прайм-бустом».

Пример 6: Гетерологичная вакцинация с «прайм-бустом» в модели опухоли у мышей

Для оценки эффектов лечения, таких как объем опухоли и показатели выживаемости в гетерологичной схеме вакцинации «прайм-буст» с пептидной конструкцией и рекомбинантным VSV, использовали модель опухоли мыши (модель опухоли TC-1). Для этого мультиантигенный домен пептидной конструкции и мультиантигенный домен VSV необходимо было адаптировать к модельной опухоли. Мультиантигенные домены, описанные в примерах 4 и 5 выше, были разработаны для использования на людях, в то время как модели опухолей животных требуют вакцинации антигенами/антигенными фрагментами, соответствующими модельной опухоли.

С этой целью мультиантигенный домен, описанный в примерах 4 и 5 выше, был заменен на «мультиантигенный домен 25» (Mad-25; SEQ ID NO: 20), который содержит как эпитопы CD8, так и CD4 Н-2b из E7 HPV. Соответственно, пептидная конструкция настоящего примера содержит мультиантигенный домен Mad25. VSV-GP-HPV кодирует ослабленную

конструкцию слияния E6/E7 (Cassetti и соавт., 2004, Vaccine 22(3-4): 520-527) в дополнение к дикому типу E2.

Вкратце, клетки TC-1 были предоставлены от T.C. Wu (Университет Джонса Хопкинса, Мэриленд, США) и культивированы в полной среде RPMI 1640 с 0,4 мг/мл генетицина. Для имплантации опухоли мышам подкожно вводили  $1 \times 10^5$  клеток TC-1 в спину. Спустя семь дней мышей иммунизировали посредством 2 нмоль пептидной конструкции (мультиантигенный домен «Mad25»; на фигуре 6 «K») прайм подкожно или посредством  $1 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub> VSV-GP-HPV внутривенно (на фигуре 6 «V»). Через 14 дней после имплантации опухоли мышам вводили  $1 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub> VSV-GP-HPV внутривенно. Дополнительные дозы пептидной конструкции «K» и вируса «V» вводили, как указано пунктирными линиями на фиг. 6A. Для мониторинга роста опухоли диаметр опухоли измеряли 2-3 раза в неделю с помощью штангенциркуля, а объем рассчитывали по формуле:  $0,4 \times \text{длина} \times \text{ширина}^2$ . Мышей умерщвляли, когда размер опухоли достигал размера, указанного соответствующими ветеринарными органами учреждения, или когда опухоли показывали признаки изъязвления.

Результаты показаны на фигуре 6. Лечение вирусом («V») само по себе привело к задержке роста опухоли (фиг. 6A). Однако лечение вирусом («буст») после «прайма» пептидной конструкцией дополнительно привело к полной ремиссии во всех опухолях; даже в крупных опухолях (фиг. 6B). Это убедительно свидетельствует о том, что прайминг пептидом (K) может вызвать регрессию опухоли больших размеров, обработанных вирусом через две недели после трансплантации. Эти данные свидетельствуют о том, что прайминг пептидом (K) закладывает иммунологическую основу для сильной ремиссии опухоли, которая следует за бустом вируса (V) в модели опухоли TC-1.

Пример 7: Иммуногенность и эффективность гетерологичного прайм-буста в сочетании с анти-PD-1 у мышей с опухолями

Для оценки иммуногенности и эффективности комбинированного лечения с гетерологичной вакцинацией «прайм-буст» и ингибитором контрольной точки (анти-PD-1) использовали модель опухоли мыши TC-1, по существу, как описано в примере 6 выше. Как описано в примере 6, клетки TC-1 были имплантированы, и мыши получили пептидную конструкцию «K» (с мультиантигенным доменом Mad25) и VSV-GP-HPV «V», как описано в примере 6. Мышам также вводили

200 мкг внутривенно антитела  $\alpha$ PD-1 (клон RMP1-14, BioXcell, Lebanon, Нью-Гемпшир, США) на 7, 15, 28 и 49 день в соответствии с графиком, показанным на фигуре 7А. Для оценки циркулирующих Т-клеток CD8 против ВПЧ у мышей брали кровь на 14, 21, 35, 42, 56 день, проводили мультимерное окрашивание, выявляющее ВПЧ-специфические Т-клетки CD8, и анализировали методом проточной цитометрии.

Результаты показаны на фигурах 7 и 8. Как показано на фигуре 7В, циркулирующие уровни ВПЧ-специфических Т-клеток CD8 были повышены аналогичным образом в режиме КVKК, независимо от того, получали ли мыши лечение анти-PD-1 или нет. Как показано на фигуре 8, терапевтическая вакцинация, начинающаяся на 7-й день после имплантации опухолевых клеток, опосредовала сильный противоопухолевый эффект в модели опухоли ТС-1 в обеих группах, получавших лечение КVKК. Повышение выживаемости наблюдали, когда мыши получали дополнительную инъекцию анти-PD-1 при каждой вакцинации, при этом 4 мыши из 7 остались без опухолей в группе тройной комбинации (фигура 8В).

Пример 8: Эффекты различных доз VSV при гетерологичной вакцинации «прайм-буст»

Для оценки эффективности различных доз VSV-GP-HPV «V» при гетерологичной вакцинации «прайм-буст» использовали модель опухоли ТС-1, описанную в примерах 6 и 7 выше. Для имплантации опухоли мышам подкожно вводили  $1 \times 10^5$  клеток ТС-1 в спину. Семь дней спустя мышей иммунизировали посредством 2 нмоль пептидной конструкции («К») подкожно. Буст VSV-GP-HPV вводили в 3 различных дозах:  $1 \times 10^7$ ,  $3 \times 10^7$  или  $5 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub> на 14-й день после имплантации опухолевых клеток. Четырнадцать дней спустя мышам вводили 2 нмоль пептидной конструкции («К»).

Результаты показаны на фигуре 9. Противоопухолевый эффект, наблюдавшийся ранее, подчеркивается аналогичной временной ремиссией в трех группах К/V/К, что наблюдается по сильному уменьшению объема опухоли после первой инъекции (инъекция VSV-GP-HPV). Хотя группа при VSV-GP-HPV  $5 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub> показывает немного улучшенную выживаемость, никаких существенных различий не наблюдается в трех обработанных группах, показывающих разные дозы VSV-GP-HPV.

Пример 9:Эффекты множества иммуногенных эпитопов, включая фрагменты KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2

Чтобы исследовать эффекты множества иммуногенных эпитопов, включая фрагменты KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2 в пептиде в соответствии с настоящим изобретением (ATP150), была подготовлена сравнительная конструкция, в которой отсутствуют фрагменты KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2 («ATP132»).

Мультиантигенный домен ATP132 имеет следующую последовательность:

NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNL  
SCHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSI  
TVSASGTSPGLSATEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQ

[SEQ ID NO: 50]

В дополнение к указанному мультиантигенному домену, ATP132 содержит проникающий в клетку пептид согласно SEQ ID NO: 15 и агонист TLR согласно SEQ ID NO: 16.

Подводя итог, пептидная конструкция ATP132 демонстрирует следующую последовательность:

MKRYKNR VASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSSENDRLRLLLKNRTLTL  
FNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNL  
SCHSASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGRNNSIVKSI  
TVSASGTSPGLSATEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQSTVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVK  
PYTNFDAE

[SEQ ID NO: 51]

Иммуногенность антигенов/антигенных фрагментов, содержащихся в мультиантигенном домене ATP150 и ATP132, сравнивали в человеческих дендритных клетках (moDC), полученных из моноцитов. С этой целью клетки были извлечены из свежих человеческих продуктов лейкофереза под названием Leukopak, поставляемых Tissue Solution (Шотландия). HLA-типирование доноров было проведено в отделении иммунологии и трансплантологии и Национальной референтной лаборатории гистосовместимости (LNRH) Женевской университетской больницы. Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) из образцов лейкопакса были приготовлены после центрифугирования в градиенте плотности на Ficoll-Paque, а моноциты были обогащены холодной агрегацией. Оставшиеся Т-лимфоциты были

устранены с помощью формирования розеток с эритроцитами барана и центрифугирования в градиенте плотности на Ficoll-Paque. Затем моноциты были посеяны на полную среду RPMI, дополненную GM-CSF и IL-4 в течение 7 дней. После этого клетки были сконцентрированы и был добавлен интерферон альфа 2а вместе с 600 нМ ATP150 или 600 нМ ATP132. Клетки были инкубированы в течение ночи при 37 °С и 5 % CO<sub>2</sub>. Затем клетки соскабливали, нумеровали и центрифугировали. Супернатант аспирировали, и клеточный осадок был заморожен при -20 °С перед анализом лиганда.

Клеточный осадок лизировали буфером солубилизации и гомогенизировали с помощью пульсирующего ультразвука. После удаления дебриса и стерильной фильтрации молекулы HLA класса I и класса II были выделены из растворимой фракции с использованием стандартной иммуноаффинной очистки. Затем лиганды HLA были элюированы кислотным элюированием и выделены с помощью ультрацентрифугирования, обессолены и предварительно сконцентрированы перед анализом посредством ЖХ-МС/МС.

Образцы пептидов разделяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии нанопотока (RSLCnano, Thermo Fisher Scientific) с использованием колонки для быстрой жидкостной хроматографии PerMap размером 50 мкм x 25 см (Thermo Fisher Scientific) и градиента от 2,4% до 32,0% ацетонитрила в течение 90 мин. Элюирующие пептиды анализировали в онлайн-соединенном масс-спектрометре LTQ Orbitrap Fusion Lumos (Thermo Fisher Scientific) с использованием метода фрагментации с высокоскоростной диссоциацией, вызванной столкновениями (CID), для HLA класса I или метода фрагментации с более высокой энергией, вызванной столкновениями (HCD), для HLA класса II. Для количественной оценки без использования меток (LFQ) относительного содержания лигандов HLA между активированными образцами, загруженными и не загруженными ATP150 или ATP132, инъектированные количества пептидов парных образцов, рассчитанные на основе средних интенсивностей ионов-предшественников, определенных в циклах по поиску дозы, были нормализованы, и анализ ЖХ-МС/МС был выполнен в пяти технических повторах для каждого образца.

Необработанные файлы обрабатывали с помощью Proteome Discoverer 1.4 (Thermo Fisher Scientific). Поисковую систему SEQUEST HT (Университет Вашингтона) использовали для поиска человеческого протеома, содержащегося

в базе данных Swiss-Prot, в сочетании с конструкцией ATP150 или ATP132. После обработки данных применяли специальные фильтры. Для класса I данные фильтровали с FDR 5 %, длиной пептида 8-12 аминокислот и рангом поисковой системы 1. Для класса II данные фильтровали с FDR 1 %, длиной пептида 8-25 аминокислот и рангом поисковой системы 1. Вывод белка был отключен, что позволяло выполнять множественные аннотации белка пептидов. Для определения связывающих пептидов HLA класса I использовали алгоритм NetMHCpan-3.0 с процентильным рангом связывания ниже 2 % и алгоритм SYFPEITHI с порогом 50 % от максимального балла.

10 Результаты представлены в таблице 2 ниже:

# пептид/донор	АТР132	АТР150
МНС I	1.2	2.0
МНС II	22.8	79.3

(таблица 2)

В таблице 2 показано среднее количество обнаруженных пептидных эпитопов для МНС класса I и МНС класса II на одного донора.

15 Эти данные показывают, что полученные из моноцитов человеческие дендритные клетки (moDC), которые инкубировали с пептидом в соответствии с настоящим изобретением, содержащим фрагменты KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2 (ATP150), представили больше эпитопов МНС класса I и/или МНС класса II, которые получены из всех включенных антигенов, чем moDC, инкубированные со сравнительным пептидом, не содержащим фрагментов KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2 (ATP132). Эти данные дополнительно подтверждают, что большее количество иммуногенных фрагментов приводит к превосходному эндогенному процессингу в профессиональных антигенпредставляющих клетках, которые могут управлять отображением значимых антигенов для Т-клеток CD8 и CD4 пациентов.

25 **ТАБЛИЦА ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ И ID НОМЕРА SEQ (ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ):**

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
SEQ ID NO: 1	VAAARPVLPAPAISDWERARRRH	KRAS-uORF1 (короткая)

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
SEQ ID NO: 2	VAAAKVAAARPVLPAPAISDWERARRRH	KRAS-uORF1 (длинная)
SEQ ID NO: 3	VGRKEGAARARVSLLEPEFGTAEVHLPAPSAVRAARPGF	TPX2-uORF1 (длинная)
SEQ ID NO: 4	TAEVHLPAPSAVRAARPGF	TPX2-uORF1 (короткая)
SEQ ID NO: 5	GGDKGRLVGVAERQVPCRFLRP	AURKA-uORF2
SEQ ID NO: 6	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDP VTLDVL	фрагмент CEACAM5
SEQ ID NO: 7	PDSSYLSGANLNLSCHSAS	фрагмент CEACAM5
SEQ ID NO: 8	PQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYAC FVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSA	фрагмент CEACAM5
SEQ ID NO: 9	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDP VTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRIN GIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATG RNNNSIVKSITVSASGTSPGLSA	CEACAM5 конструкция слияния фрагментов
SEQ ID NO: 10	TGVLSLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLLDQSAK D	фрагмент DUOXA2
SEQ ID NO: 11	TEYKLVVVGADGVGKSALTIQLIQ	фрагмент KRAS-G12D
SEQ ID NO: 12	TEYKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQ	KRAS-G12V фрагмент
SEQ ID NO: 13	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDP VTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRIN GIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATG RNNNSIVKSITVSASGTSPGLSATEYKLVVVGAD GVGKSALTIQLIQVAAARPVLPAPAISDWERAR RRHVGRKEGAARARVSLLEPEFGTAEVHLPAPS AVRAARPGFGGDKGRLVGVAERQVPCRFLRPT GVLSLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLLDQSAKD	мультиантигенный домен АТР150

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
SEQ ID NO: 14	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSANRSDP VTLDVLPDSSYLSGANLNLCHSASPQYSWRIN GIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATG RNNSIVKSITVSASGTSPGLSATEYKLVVVGAV GVGKSALTIQLIQVAAARPVLPAPAIWDWERAR RRHVGRKEGAARARVSLPEFGTAEVHLPAPS AVRAARPGFGGDKGRLVGVAERQVPCRFLRPT GVLSLFLGGAVVSLQYVRPSALRTLLDQSAKD	мультиантигенный домен ATP152
SEQ ID NO: 15	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSS ENDRLRLLK	проникающий в клетку пептид (Z13)
SEQ ID NO: 16	STVHEILSKLSLEGDHSTPPSA YGSVKPYTNFD AE	агонист TLR (Anaxa)
SEQ ID NO: 17	MKRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAK SENDRLRLLKLNRTLTLFNVTRNDARAYVSGI QNSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLCH SASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTY ACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSATE YKLVVVGADGVGKSALTIQLIQVAAARPVLP PAISDWERARRRHVGRKEGAARARVSLPEFG TAEVHLPAPSAVRAARPGFGGDKGRLVGVAER QVPCRFLRPTGVLSLFLGGAVVSLQYVRPSALR TLLDQSAKDSTVHEILSKLSLEGDHSTPPSA YGS VKPYTNFDAE	ATP150
SEQ ID NO: 18	MKRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAK SENDRLRLLKLNRTLTLFNVTRNDARAYVSGI QNSVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLCH SASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTY ACFVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSATE YKLVVVGAVGVGKSALTIQLIQVAAARPVLP PAISDWERARRRHVGRKEGAARARVSLPEFG TAEVHLPAPSAVRAARPGFGGDKGRLVGVAER QVPCRFLRPTGVLSLFLGGAVVSLQYVRPSALR TLLDQSAKDSTVHEILSKLSLEGDHSTPPSA YGS VKPYTNFDAE	ATP152

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
SEQ ID NO: 19	MNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSV SANRSD PVTLDVLPDSSYLSGANLNL SCHSASPQYSWRI NGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLAT GRNNSIVKSITVSASGTSPGLSATEYKLVVVG DGVGKSALTIQLIQTEYKLVVVGAVGVGKSAL TIQLIQVAAARPVLPAPAISDWERARRRHVGRK EGAARARVSLLEFGTAEVHLPAPSAVRAARP GFGGDKGRLVGVAERQVPCRFLRPTGVL SLFL GGAVVSLQYVRPSALRLLDQSAKD	мультиантигенный домен VSV-GP154
SEQ ID NO: 20	QAEPDRAHYNIVTFSSKS	мультиантигенный домен Mad25
SEQ ID NO: 21	KRYKNR VASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAK	проникающий в клетку пептид (Z14)
SEQ ID NO: 22	KRYKNR VASRKSRAKFK	проникающий в клетку пептид (Z15)
SEQ ID NO: 23	REVAAAKSSENDRLRLLK	проникающий в клетку пептид (Z18)
SEQ ID NO: 24	STVHEILCKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFD AE	агонист TLR (вариант Anaxa)
SEQ ID NO: 25	MGQIVTMFEALPHIIDEVINIVIIITSIKAVY NFATCGILALVSFLFLAGRSCGMYGLNGPDIYK GVYQFKSVEFDMSHLNLTMPNACSAANSHHYI SMGSSGLELTFNDNSILNHNFCNLTSAFNKKTF DHTLMSIVSSLHL SIRGNSNHKAVSCDFNNGITI QYNLSFSDPQSAISQCR TFRGRVLD MFRTAFGG KYMRSWGWAGSDGKTTWCSQTSYQYLIQN RTWENHCRYAGPFGMSRILFAQEKTKFLTRRL AGTFTWTLSDSSGVENPGGYCLTKWMILAAEL KCFGNTAVAKCNVNHDEEFCMDLRLIDYNKA ALSFKFKQDVESALHVFKTTVNSLISDQLLMRN HLRDLMGVPYCNYSKFWYLEHAKTGETSVPK CWLVTNGSYLNETHFSDQIEQEADNMITEMLR KDYIKRQGSTPLALMDLLMFSTSAYLISIFLHLV KIPTHRHIKGGSCP KPHRLTNKGICSCGAFKVP GVKTIWKRR	GP LCMV

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
SEQ ID NO: 26	MSVTVKRIIDNTVVVPKLPANEDPVEYPADYFR KSKEIPLYINTTKSLSDLRGYVYQGLKSGNVSII HVNSYLYGALKDIRGKLDKDWSSFGINIGKAG DTIGIFDLVSLKALDGVLPDGVSDASRTSADDK WLPLYLLGLYRVGRTQMPEYRKKLMDGLTNQ CKMINEQFEPLVPEGRDIFDVWGNDSNYTKIVA AVDMFFHMFKKHECASFRYGTIVSRFKDCAAL ATFGHLCKITGMSTEDVTTWILNREVADEM VQ MMLPGQEIDKADSYMPYLIDFGLSSKSPYSSVK NPAHFHWGQLTALLLRSTRARNARQPDDIEYTS LTTAGLLYAYAVGSSADLAQQFCVGDNKYTPD DSTGGLTTNAPPQGRDVVEWLGFEDQNRKP TPDMMQYAKRAVMSLQGLREKTIGKYAKSEF DK	нуклеопротеин вируса везикулярного стоматита (N)
SEQ ID NO: 27	MDNLTKVREYLKSYSRLDQAVGEIDEIEAQRAE KSNYELFQEDGVEEHTKPSYFQAADDSDESE EIEDNQGLYAPDPEAEQVEGFIQGPLDDYADEE VDVFVTSWVKQPELESDEHGKTLRLTSPEGLSG EQKSQWLSTIKAVVQSAKYWNLAECTFEASGE GVIMKERQITPDVYKVTPVMNTHPSQSEAVSD VWLSKTSMTFQPKKASLQPLTISLDELFSRGE FISVGGDGRMSHKEAILLGLRYKCLYNQARVK YSL	фосфопротеин вируса везикулярного стоматита (P)

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
SEQ ID NO: 28	MEVHDFETDEFNDFNEDDYATREFLNPDERMT YLNHADYNLNSPLISDDIDNLRKFNLSLPIPSMW DSKNWDGVLEMLTSCQANPIPTSQMHKWMGS WLMSDNHDASQGYSFLEVDKEAEITFDVDET FIRGWGNKPIEYIKKERWTDSFKILAYLCQKFL DLHKLTLILNAVSEVELLNLARTFKGKVRSSH GTNICRIRVPSLGPTFISEGWAYFKKLDILMDRN FLLMVKDVIIGRMQTVLSMVCRIDNLFSEQDIFS LLNIYRIGDKIVERQGNFSYDLIKMVEPICNLKL MKLARESRLVPQFPFHENHIKTSVDEGAKIDR GIRFLHDQIMSVKTVDLTLVIYGSFRHWGHPFI DYYTGLEKLHSQVTMKKDIDVSYAKALASDLA RIVLFQQFNDHKKWFVNGDLLPHDHPFKSHVK ENTWPTAAQVQDFGDKWHELPLIKCFEIPDLLD PSIIYSDKSHSMNRSEVLKHVRMNPNTPIPSKKV LQTMLDTKATNWKEFLKEIDEKGLDDDDLIIGL KGKERELKLAGRFFSLMSWKLREYFVITEYLIK THFVPMFKGLTMADDLTAVIKMLDSSSGQGL KSYEAICIANHIDYEKWNHQRKLSNGPVFRV MGQFLGYPSLIERTHEFFEKSLIYYNGRPDLMR VHNNTLINSTSQRVCWQQEGGLEGLRQKGS ILNLLVIQREAKIRNTAVKVLAAQGDNVICTQY KTKKSRNVVELQGALNQMVSNNKIMTAIKIG TGKLGILLINDETMQSADYLNYGKIPFRGVIR GLETKRWSRVTCVTNDQIPTCANIMSSVSTNAL TVAHFENPINAMIQYNYFGTFARLLLMMHDP ALRQSLYEVQDKIPGLHSSTFKYAML YLDP SIGVSGMSLSRFLIRAFDPVTELSFWRFIVHAR SEHLKEMSAVFGNPEIAKFRITHIDKLVEDPTSL NIAMGMSPANLLKTEVKKCLIESRQTIRNQVIK DATIYLYHEEDRLRSFLWSINPLFPRFLSEFKSG TFLGVADGLISLFQNSRTIRNSFKKKYHRELDD LIVRSEVSSLTHLGKHLRRGCKMWTCSATHA DTLRYKSWGRTVIGTTVPHPLEMLGPQHRKETP CAPCNTSGFNYSVHCPDGIHDFVSSRGLPAY LGSKTSESTLILQPWERESKVPLIKRATRLDAIS WFVEPDSKLAMTILSNIHSLTGEWTKRQHGFK RTGSALHRFSTSRMSHGGFASQSTAALTRLMAT TDTMRDLGDQNFDFLFQATLLYAQITTTVARD GWITSDTDHYHIACKSCLRPIEITLDSSMDYTP PDVSHVLKTRNGEGSWGQEIKQIYPLEGNWK NLAPAEQSYQVGRGIGFLYGDLYRKSTHAED SSLFPLSIQGRIRGRGFLKGLLDGLMRASCCQVI HRRSLAHLKRANAVYGGLIYLIDKLSVSPFFLS LTRSGPIRDELETIPHKIPTSYPTSNRDMGVIVRN YFKYQCRLIEKGK YRSHYSQWLFSDVLSIDFI GPF SISTLLQILYKPFLSGKDKNELRELANLSSL LRSGEWEDIHVKFFTKDILLCPEEIRHACKFGI AKDNNKDMSYPPWGRESRGTITTTIPVYYTTTPY PKMLEMPRIQNPLLSGIRLGQLPTGAHYKIRSI LHGMGIHYRDFLSCGDGSGGMTAALLRENVHS RGIFNSLLELSGSVMRGASPEPPSALETGGDKS RCVNGETCWEYPSDLCDPRTWDYFLRLKAGLG LQIDLIVMDMEVRDSSLSLK IETNVRNYVHRIL DEQGVLIYKTYGT YICESEKNAV TILGPMFKTV DLVQTEFSSSQTSEVYMVCKGLKKLIDEPNPDW SSINESWKNLYAFQSSEQEFARAKK VSTYFTLT GIPSQFIPDPFVNIETMLQIFGVPTGVSHAAALKS SDRPADLLTISLFYMAIISYINHIRVGIPIPNPP	большой белок вируса везикулярного стоматита (L)

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
	SDGIAQNVGIAITGISFWLSLMEKDIPL YQQCLA VIQQSFPIRWEAVSVKGGYKQKWSTRGDGLPK DTRISDSLAPIGNWIRSLELVRNQVRLNPFNEILF NQLCRTVDNHLKWSNLRNTGMIEWINRRISK EDRSILMLKSDLHEENSWRD	

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
SEQ ID NO: 29	MSSLKKILGLKGKSKKLGIAPPPYEEDTSM EYAPSAPIDKSYFGVDEMDTYDPNQLRYEKFFF TVKMTVRSNRPFRTYSDVAAAVSHWDHMYIG MAGKRPFYKILAFLGSSNLKATPAVLADQGQPE YHANCEGRA YLPHRMGKTPPMLNVPEHFRPF NIGL YKGTIELTMTIYDDESLEAAPMIWDHFNS SKFSDFREKALMFGLIVEKKASGAWVLDSIGHF K	Матричный белок вируса везикулярного стоматита (М)
SEQ ID NO: 30	UGCUUCUGUUUGUUUGGUAUAUAUAGUAAU UUUCCGAGUCCUCUUUGAAAUUGUCAUUAG UUUUACAGACAAUGUCAGUUCUCUUAGUAA CUGUUGUGUCAGCAUCAAGGUUUUGAAGGA CGUUUACUCCUAGGUCACCUUAUGGGCCGU CAAAUGAAGUCUUUUAGUUUCCUCUAAGGA GAAAUGUAGUUAUGAUGUUUUUCAACAGU CUAGAUUCUCCUAUACAGAUGGUUCCGGAG UUUAGGCCUUUACAUAGUUAGUAUGUACAG UUGUCGAUGAACAUACCUCGUAUUUCCUG UAGGCCCAUUCAACCUAUUUCUAACCAGU UCAAAGCCUUAUUUGUAGCCCUUUCGUCCC CUAUGUUAGCCUUAUAAACUGGAACAUAGG AACUUUCGGGACCUGCCGCAUGAAGGUCUA CCUCAUAGCCUACGAAGGUCUUGGUCGCGU CUACUGUUUACCAACGAAACAUAAGAUGAA CCGAAUAUGUCUCACCCGUCUUGUGUUUAC GGACUUAUGUCUUUUUUCGAGUACCUACCC GACUGUUUAGUUACGUUUUACUAGUUACUU GUCAAACUUGGAGAACACGGUCUUCAGCA CUGUAAAAACUACACACCCCUUUCUGUCA UAAAUGUGUUUUUAACAGCGACGUCACCUG UACAAGAAGGUGUACAAGUUUUUUGUACUU ACACGGAGCAAGUCUAUGCCUUGAUAACAA AGGUCUAAGUUUCUAACACGACGUAACCGU UGUAACCUUGGGAGACGUUUUAUUGGCCU UACAGAUGUCUUCUACAUUGCUGGACCUAG AACUUGGCUCUUAACGUCUACUUUACAG GUUUACUACGAAGGUCCGGUUCUUUAACUG UUCCGGCUAAGUAUGUACGGAAUAAACUAG CUGAAACCUAACAGAAGAUUCAGAGGUUAU AGAAGGCAGUUUUUGGGACGGAAGGUGAAG ACCCCCGUUAACUGUCGAGAAGACGAGUCU AGGUGGUCUCGUUCCUACGGGUCUGUCGGA CUACUGUAACUCAUAUGUAGAGAAUGAUGU CGUCCAAACAACAUAGCGAAUACGUCAUCCU AGGAGACGGCUGAACCGUGUUGUCAAAACA CAACCUCUAUUGUUUAUGUGAGGUCUACUA UCAUGGCCUCCUAAACUGCUGAUUACGUGGC GGUGUUCGGUCUCUACACCAGCUUACCGAG CCUACCAAACUUCUAGUUUUGUCUUUUGGC UGAGGACUAUACUACGUCAUACGCUUUUCU CGUCAGUACAGUGACGUUCCGGAUUCUCUC UUCUGUUAACCGUUCUAACGAUUCAGUCUU AAACUGUUUACUGGGUAUUUAGAGUCUAG UGGUAUAUAUAUAUACGAUGUAUACUUUU	Последовательность РНК VSV-GP154 (комплемент без реверса)

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
	UUUGAUUGUCUAUAGUACCUAUUAGAGUGU UUUCAAGCACUCAUAGAGUUCAGGAUAAGA GCAGACCUAGUCCGCCAUCCUCUCUAUCUAC UCUAGCUUCGUGUUGCUCGACUUUUCAGGU UAAUACUCAACAAGGUUCUCCUACCUCACC UUCUCGUAUGAUUCGGGAGAAUAAAAGUCC GUCGUCUACUAAGACUGUGUCUAGACUUG GUCUUUAACUUCUGUUAGUUCGAAACAUAC GUGGUCUAGGUCUUCGACUCGUUCAACUUC CGAAAUUAGUCCCCGGAAUUCUACUGAUAC GUCUACUCCUUCACCUACAACAUAUAAUGAA GCCUGACCUUUGUCGGACUCGAACUAGAC UGCUCGUACCUUUCUGGAAUGCCAACUGUA GCGGUCUCCCAAUUCACCUCUCGUCUUUA GGGUCACCGAAAGCUGCUAUUUUCGUCAGC ACGUUUCACGGUUUAUGACCUUAGACCGUC UCACGUGUAAACUUCGUAGCCCUCUUCCCC AGUAAUACUUCUUCGCGGUCUAUUGAGGCC UACAUAUUAUCCAGUGAGGUCACUACUUGU GUGUAGGCAGGGUUAGUCUUCGUCAUAGUC UACAAACCAGAGAGAGUUUCUGUAGGUACU GAAAGGUUGGGUUCUUUCGUUCAGAAGUCG GAGAGUGGUUAUAGGAACCUACUUAACAAGA GUAGAUCUCCUCUCAAGUAGAGACAGCCUC CACUGCCUGCUUACAGAGUAUUUCUCCGGU AGGACGAGCCGGACUCUAUGUUUUUCAACA UGUUAGUCCGCUCUCAGUUUAUAAGAGACA UCUGAUACUUUUUUUCAUUGUCUAUAGUGC UAGAUUCACAAUAGGGUUAGGUAAGUAGUA CUCAAGGAAUUUCUUCUAAGAGCCAGACUU CCCCUUCCAUUUCUUUAGAUUCUUUAAUCC CUAGCGUGGUGGGGAAUACUUCUCCUGUG AUCGUACCUCAUACGAGGCUCGCGAGGUUA ACUGUUUAGGAUAAAACCUCAACUGCUCUA CCUGUGGAUACUAGGCUUAGUUAAUUCUAU ACUCUUUAAGAAGAAAUGUCACUUUUACUG CCAAUCUAGAUUAGCAGGCAAGUCUUGUAU GAGUCUACACCGUCGGCGACAUAGGGUAAC CCUAGUGUACAUGUAGCCUACCGUCCCUU UGCAGGGAAGAUGUUUUAGAACCAGAAAAA CCCAAGAAGAUUAGAUUUCGGUGAGGUCG CCUAACCGUCUAGUUCAGUUGGUCUCAU AGUGCGAGUGACGCUUCCGUCCCGAAUAAA CGGUGUAUCCUACCCUUCUGGGGAGGGUA CGAGUUACAUGGUCUCGUGAAGUCUUCUGG UAAGUUUAUUCAGAAAUGUUCUUUGCUA ACUCGAGUGUUACUGGUAGAUGCUCUACU CAGUGACCUUCGUCGAGGAUACUAGACCCU AGUAAAGUUAGAAGGUUUAAAAGACUAAA GUCUCUCUUCGGAAUUAACAACCGGACUA ACAGCUCUUUUUCCGUAGACCUCGCACCCA GGACCUGAGAUAGCCGGUGAAGUUUACUCG AUCAGAUUGAAGAUCGAAGACUUGUUAGGG GCCAAAUGAGUCAGAGGGGAUUAAGGUCGG AGAGCUUGUUGAUUAUAGGACAGAAAAGAU AGGGAUACUUUUUUUGAUUGUCUCUAGCUA GACAAAUGCGCAGUGCCUAGGGGGCCCGAC GUCCUUAAGCGGUGGUACCCGGUCUAGCAC UGGUACAAGCUCGGGACGGGGUGUAGUAG	

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
	CUGCUCACUAGUUGUAGCACUAGUAGCAC GAGUAGUAGUAGUGGUCGUAGUCCGGCAC AUGUUGAAGCGGUGGACGCCGUAGGACCGG GACCACUCGAAGGACAAGGACCGGCCGUCU UCGACGCCGUACAUGCCGGACUUACCGGGG CUAUAGAUGUCCCCGCACAUGGUCAAGUUC UCGCACCUCAAGCUGUACUCGGUGGACUUG GAGUGGUACGGGUUGCGGACGUCGCGGUUG UUAUCGGUGGUGAUGUAGUCGUACCCGUCG UCGCCGGACCUCACUGGAAGUGGUUGCUG UCGUAGGACUUGGUGUUGAAGACGUUGGAG UGGUCGCGGAAGUUGUUCUUUUGGAAGCUG GUGUGGGAGUACUCGUAGCACUCGUCGGAC GUGGACUCGUAGUCUCCGUUGUCGUUGGUG UUCCGGCACUCGACGCUGAAGUUGUUGCCG UAGUGGUAGGUCAUGUUGGACUCGAAGUCG CUAGGAGUCUCGCGGUAGUCGGUCACGUCU UGGAAGUCUCCGUCUCACGACCUGUACAAG UCUUGGCGGAAGCCGCCGUUCAUGUACUCU UCGCCGACCCCGACCCGGCCGUCGUCGCCGU UCUGGUGGACCACGUCGGUCUGGUCGAUUG UCAUGGAGUAGUAGGUCUUGUCUUGGACCC UCUUGGUGACGUCUAUGCGGCCUGGAAAGC CGUACUCGUCUUAGGACAAGCGGGUCCUCU UUUGGUUCAAGGAGUGGUCCUCUGACCGGC CGUGGAAGUGGACCUGGGACUCGUCGUCGU CGCCGACCCUCUUGGGACCGCCGAUGACGG AGUGGUUCACCUACUAGGACCGGCGGCUCG ACUUCACGAAGCCGUUGUGGCGGCACCGGU UCACGUUGCACUUGGUGCUGCUCUCAAGA CGCUGUACGACUCUGAGUAGCUGAUGUUGU UCCGGCGGGACUCGUUCAAGUUCGUCCUGC ACCUCUCGCGGGACGUGCACAAGUUCUGGU GGCACUUGUCGGAGUAGUCGUCGGUCGACG AGUACUCUUUGGUGGACUCUCUGGAGUACC CGCACGGGAUGACGUUGAUGUCGUUCAAGA CCAUAGACCUCGUGCGGUUCUGGCCGCUCU GGUCGCACGGGUUCACGACCGACCACUGGU UACCGUCGAUGGACUUGCUCUGGGUGAAGU CGCUGGUCUAGCUCGUCCUUCGGCUGUUGU ACUAGUGGCUCUACGACUCCUCCUGAUGU AGUUCUCUGUCCCGUCGUGGGGGGACCGGG AGUACCUAGACGAGUACAAGUCGUGGUCGC GGAUGGAGUAGUCGUAGAAGGACGUGGACC ACUUCUAGGGGUGGGUGUCUGUGUAGUUC CGCCGUCGACGGGGUUCGGGGUGUCUGAGU GGUUGUUCCGUAGACGUCGACGCCGCGGA AGUUCACGGGCCGCACUUUUGGUAGACCU UCUCCUCUAUUCGCCGGCGAUGCUGGAGCU GAUACUUUUUUGAUUGUCUAUAGGAGCUG CGGUGGUACUUGGCCUGUGACUGGGACAAG UUGCACUGGGCCUACUGCGGUCUCGGAUG CACAGGCCGUAGGUCUUAUCGCACAGGCGG UUAUCUUCGUCGGGGCACUGUGACCUGCAC GACGGACUAUCGUCGAUAGACUCGCCGCGG UUGGACUUGGACUCGACGGUAAGACGGAGA GGUGUCAUGUCGACCGCCUAGUUGCCUAG GGAGUCGUCGUGUGGGUCCACGACAAAUAG CGGUUCUAGUGGGGAUUGUUGUUGCCGUGG	

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
	AUGCGGACGAAGCACAGGUUAGACCGGUGG CCGUCUUUGUUGUCGUAGCACUUCAGGUAG UGGCACAGACGGUCGCCGUGUAGAGGACCU GACUCGCGGUGUCUCAUGUUCGACCACCAA CACCCUCGACUGCCGCACCCUUUUUCGCGGG ACUGUUAGGUCGACUAGGUCUGGCUCAUAU UUGAGCACCAGCAGCCGCGACAACCGCAACC GUUUAGACGAGACUGGUAAGUCGAGUAAGU CCACCGGGCAGCGGUCUGGACAAGAAGGACG AGGACGGUAGUCGCUGACCCUUUCUGAUC UUCUUCGUGCAGCCGGCCUUUCUUCGCG GCGAUCUCGAUCUCAAUCCGGACGACGGUCU CAAACCGUGGCGGCUUCAAGUAGACGGACG AGGAUCGCGACAGUCUCGGCGGUCUGGUCC UAAACCGCCUCUAUUCGUCUGAGCACCCG CAACGUCUUUCUGUCCACGGGACGUCUAAG GACUCCGGUUGUCCGCACGACUCGGACAAA GAACCGCCUCGACACCACAGGGACGUAUG CAGUCUGGAUCGCGAGACUCUUGGGACGAC CUAGUCUCGCGGUUCCUAACUAGUUGAUCG GUCUAAGAAGUACAAACCGGUUUAGUUGA ACACUAUGGUACGAGUUUCUCCGGAGUUA UAUAAACUCAAAAAUUAAAAAUACUUUUU UGAUUGUCGUUAGUACCUUCAGGUGCUIAA ACUCUGGCUGCUCAAGUUACUAAAGUUACU UCUACUGAUACGGUGUUCUCUUAAGGACUU AGGGCUACUCGCGUACUGCAUGAACUUAGU ACGACUAAUGUUGGACUUAAGAGGAGAUUA AUCACUACUUAACUGUUAUUUAGUCCUU UAAGUUAAGAGAAGGUUAAGGGAGCUACAC CCUAUCAUUCUUGACCCUACCUCAAGAACU CUACAAUUGCAGUACAGUUCGGUUAGGGUA GGGUUGUAGAGUCUACGUUUUACCUACCC UUCAACCAAUUACAGACUAUUAGUACUACG GUCAGUUCCEAUUACAAAAAUGUACUUC CCUGUUUCUCCGUCUUUAUUGUAAACUGCA CCACCUCUGGAAGUAGGCGCCGACCCCGUU GUUUUGGUUAACUUAUGUAGUUUUCCUUUC UACCUGACUGAGUAGUUUUUAAAGAGCGAAU AAACACAGUUUUCAAAAACCGAAUGUGUU CAACUGUAAUUAGAAUUUACGACAGAGACU CCACCUAACGAGUUGAACCGCUCUUGAAA GUUUCCGUUUCAGUCUUCUUAAGAGUACC UUGCUUGUAUACGUCCUAAUCCCAAGGGUC GAACCCAGGAUGAAAAUAAAGUCUUCUAC CCGAUUGAAGUUCUUUGAACUUAAGAUUA CCUGGCUUUGAAAGACAAUACCAGUUUCU ACACUAAUAUCCUCCUACGUUUGCCACGA UAGGUACCAUACAUCUUAUCUGUUGGACAA GAGUCUCGUUCUGUAGAAGAGGGAAAGAUU AUAGAUGUCUUAACCUCUUAUUUAACACCU CUCCGUCCUUUAAAAAGAAUACUGAACUA AUUUUACCACCUUGGCUAUACGUUGAACUU CGACUACUUUAAUCGUUCUCUUAAGUUCGG AAAUCAGGGUGUUAAGGGAGUAAAACUUUU AGUAUAGUUCUGAAGACAACUACUUCCCCG UUUUUAAACUGGCUCCAUAUUCUAAGGAGGU ACUAGUCUAUUACUCACACUUUUGUCACCU AGAGUGUGACCACUAAAUACCUAGCAAGUC	

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
	UGUAACCCAGUAGGAAAAUAUCUAAUAAU GUGACCUGAUCUUUUUAAUGUAAGGGUUCA UUGGUACUUCUUUCUAUAACUACACAGUAU ACGUUUUCGUGAACGUUCACUAAAUCGAGC CUAACAAGAUAAAGUUGUCAAGUUACUAGU AUUUUUCACCAAGCACUUACCUCUGAACGA GGGAGUACUAGUAGGGAAAAUUUCAGUACA AUUUUUUUUAUGUACCGGGUGUCGACGAGU UCAAGUUCUAAAACCUCUAUUUACCGUACU UGAAGGCGACUAAUUUACAAAACUUUAUGG GCUGAAUGAUCUGGGUAGCUAUUAUAUGAG ACUGUUUUUCAGUAAGUUACUUAUCCAGUCU CCACAACUUUGUACAGGCUUACUUAGGCUU GUGAGGAUAGGGAUCAUUUUCCACAACGU CUGAUACAACCGUGUUUCCGAUGGUUAAAC CUUUUCUAAAAGAAUUUCUCUAAACUACUCU CCCGAAUCUACUACUACUAGAUUAAUAACC AGAAUUUCCUUUCCUCUCCCUUGACUUCAA CCGUCCAUCUAAAAGAGGGAUUACAGAAC CUUUAACGCUCUUAUGAAACAUAUAUGGCU UAUAAACUAUUUCUGAGUAAAGCAGGGUA CAAAUUUCCGGACUGUUACCGCCUGCUAGA UUGACGUCAGUAAUUUUUCUACAAUCUAAAG GAGUAGGCCGGUUCUAAACUUCAGUAUACU CCGUUAAACGUUACGGUUAGUGUAACUAAU GCUUUUUACCUUAUUUGGUGGUUCCUUCAA UAGUUUGCCGGGUCACAAGGCUCAAUACCC GGUCAAGAAUCCAUAUAGGUAGGAAUUAGCU CUCUUGAGUACUUAAAAAACUCUUUUUCAGA AUUAUAUGAUGUUACCUUCUGGUCUGAACUA CGCACAAAGUGUUGUUGUGUGACUAGUUAAG UUGGAGGGUUGCUCAAACAACCGUUCUGU UCUCCCACCUGACCUUCCAGAUGCCGUUUU UCCUACCUCUAUAGGAGUUAGAUGACCAAUA AGUUUCUCUCCGAUUUUAGUCUUUGUGACG ACAGUUUCAGAACCGUGUUCACUAUUAGU UCAAUAAACGUGUGUCAUAUUUUUCUUCUU UAGCUCUUUGCAACAUCUUAUUGUCCACG AGAGUUAGUUUACCAAAGAUUAUUACUCUU UUAUACUGACGUUAGUUUUUACCCUGUCC CUUCAUCCUGAAAACUAAUUACUGCUACU CUGAUACGUUAGACGUCUAAUGAACUUAU ACCUUUUUUAUGGCUAAAAGGCACCUCACUA AUCUCCCAAUCUCUGGUUCUCUACCAGUGC UCACUGAACACAGUGGUUACUGGUUUUUGG GUGAACACGAUUUAUUUACUCGAGUCAAAAG GUGUUUACGAGAGUGGCAUCGAGUAAAACG ACUCUUGGGUUAGUUACGGUACUUAUGUCAU GUUAAUAAAACCCUGUAAACGAUCUGAGAA CAACUACUACGUACUAGGACGAGAAGCAGU UAGUAACAUACUUCUAGUUCUUAUUCUAUGG CCCGAACGUGUCAAGAUGAAAGUUUAUGCG GUACAACAUAUAAACCGGGAAGGUAACCUC UCACAGCCCGUACAGAAACAGGUCCAAAAA CUAAUCUCGGAAGGGUCUAGGGCAUUGUCU UUCAGAGAGUAAGACCUCUAAAGUAGGUACA UGUACGAGCUUCACUCGUAGACUUCUCUA CUCACGUCUAAAACCUUUGGGGCUCUAUCG GUUCAAGCUUAUUGAGUGUAUCUGUUCGA	

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
	UCAUCUUCUAGGUUGGAGAGACUUGUAGCG AUACCCUACUCAGGUCGCUUGAACAAUUU CUGACUCCAUUUUUUACGAAUAGCUUAG UUCUGUUUGGUAGUCCUUGGUCCACUAAU CCUACGUUGGUUAUAAAACAUAGUACUUCU CCUAGCCGAGUCUUCAAAGAAUACCAGUUA UUUAGGAGACAAGGGAUCUAAAAAUUCACU UAAGUUUAGUCCGUGAAAAAACCCUCAGCG UCUGCCCAGUAGUCAGAUAAAGUUUUUAG AGCAUGAUAAAGCCUUGAGGAAAUUCUUUU CAUAGUAUCCCUAAACCUACUAAACUAACA CUCUCACUCCAUAAGGAGAAACUGUGUAAA UCCCUUUGAAGUAAACUCUUCCCUAGUAC AUUUUACACCUAGUACAAGUCGAUGAGUACG ACUGUGUAAUUCUAUGUUUAGGACCCCGGC AUGUCAUAACCCUGUUGACAUGGGGUAGG UAAUCUUUACAACCCAGGUGUUGUAGCUUU UCUCUGAGGAACACGUGGUACAUUGUGUAG UCCCAAGUUAAUACAAGACACGUAACAGG UCUGCCCUAGGUACUGCAGAAAUCAAGUGC CCUGGUAAACGGACGAAUAGAUCCCAGAUU UUGUAGACUUAGAUGUAGAUAAAACGUCGG AACCCUUUCCCUUUCGUUUCAGGGUGACUA AUUUUCUCGAUGUGCAGAAUCUCUACGAUA GAGAACCAAACAACUUGGGCUGAGAUUUGA UCGUUACUGAUUGAAAGAUUGUAGGUGAG AAAUUGUCCGCUUCUUAACCGUUUUCCGU CGUACCCAAGUUUUCUUGUCCAGACGGGA AGUAUCCAAAAGCUGUAGAGCCUACUCGGU ACCACCAAGCGUAGAGUCUCGUGACGUCG UACUGGUCCAACUACCGUUGAUGUCUGUG GUACUCCCUAGACCCUCUAGUCUAAAAGCU GAAAAAUAAAGGUUCGUUGCAACGAGAUACG AGUUUAAUGGUGGGUGACAACGUUCUCUGCC UACCUAGUGGUCAACAUGUCUAGUAAUAGU AUAACGGACAUUCAGGACAAACUCUGGGUA UCUUCUCUAGUGGGACCUGAGUUCUACCU GAUGUGCGGGGGUCUACAUAGGGUACACGA CUUCUGUACCUCUUAACCCUCCAAGCACC CCUGUUCUCUAAUUUGUCUAGAUAGGAAAU CUUCCCUAAACCUUCUUAUAUCGUGGACGA CUCGUUAGGAUAGUUCAGCCGUCUACAUAU CCAAAAGAUUACCUUCUGAACCGCAUAUCU UUUAGAUGAGUACGGCUCUUGCAAGAGAU AAAGGAGAUAGAUUGUUCAGCAUAAUCU CCAGCUCCAAAGAAUUUCCCAACGAUCUG CCUAAUUACUCUCGUUCAACGACGGUUCAU UAUGUGGCCUCUUCAGACCGAGUAAACUUC UCCGGCCGGUUGCGUCACAUGCCUCCAAC UAAAUGAACUAACUAAUUAAACUCACAUAGU GGAGGUAAGGAAAGAGAAUGAUCUAGUCCU GGAUAAUCUCUGCUUAAUCUUUGCUAAGGG GUGUUCUAGGGUUGGAGGAUAGGCUGUUCG UUGGCACUAUACCCCCACUAACAGUCUUUA AUGAAGUUUAUGGUUACGGCAGAUUAACUU UUCCCUUUUAUGUCUAGUGUAAUAAGUGUU AAUACCAAUAAGAGUCUACAGAAUAGGUUA CUGAAGUAACCGGUAAAGAGAUAAAGGUGG UGGGAGAACGUUUAGGAUAUGUUCGGUAAA	

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
	AAUAGACCCUUUCUAUUCUUAACUCAACUCU CUCGACCGUUUAGAAAGAAGUAACGAUUCU AGUCCUCUCCCCACCCUUCUGUAUGUACACU UUAAGAAGUGGUUCCUGUAUAAUAACACAG GUCUCCUUUAGUCUGUACGAACGUUCAAGC CCUAACGAUUCCUAUUAUUUUUCUGUACU CGAUAGGGGGAACCCUUCUUAGGUCUC CCUGUUAAUGUUGUUAGGGACAAAUAUUAU GCUGGUGGGGAAUGGGUUUCUACGAUCUCU ACGGAGGUUCUAGGUUUUAGGGGACGACA GGCCUAGUCCAACCCGGUAAUGGUUGAC CGCGAGUAAUUAUUUAAGCCUCAUAAUAG UACCUUACCCUAGGUAAUGUCCUGAAGA ACUCAACACCUCUGCCGAGGCCUCCUACUG ACGACGUAAUGAUGCUCUUUUACACGUUAC GUCUCCUUAAAGUUUAUCAGACAAUCUAA UAGUCCAGUCAGUACGCUCGCGGAGAGG ACUCGGGGGUCACGGGAUCUUUGAAAUC UCCUCUAAUUAGCUCUACACAUUUACCACU UUGUACAACCCUUAUAGGUAGACUGAAUAC ACUGGGUUCUGAACCCUGAUAAAGGAGGC UGAGUUUCGUCCGAACCCGAAGUUUAACU AAAUAACAUAUACCUAUACCUUCAAGCCU AAGAAGAUGAUCGGACUUUUAACUCUGCUU ACAAUCUUUAAUACACGUGGCCUAAAACCU ACUCGUUCCUCAAAAUAUGAUGUUCUGAAU ACCUUGUAUAUAAACACUCUCGUUUUCU ACGUCAUUGUUAGGAACCAGGGUACAAGUU CUGCCAGCUGAAUCAAGUUUGUCUAAAUC AUCAAGAGUUUGCAGACUUCAUAUAUACCA UACAUUUCCAAACUUCUUUAAUUAGCUACU UGGGUUAGGGCUAACCCAGAAGGUAGUUACU UAGGACCUUUUUGGACAUGCUGAAGGUCAG UAGUCUUGUCCUAAAACGGUCUCGUUUUCU CCAAUCAUGUAUGAAAUGGAACUGUCCAUA AGGGAGGGUUAAGUAAGGACUAGGAAAACA UUUGUAACUCUGAUACGAUGUUUAUAAGCC UCAUGGGUGCCCACACAGAGUACGCCGACG GAAUUUUAGUAGACUAUCUGGACGUCUAAA UAAUCUGGUAUUCGGAUAAAUAUACCGCUA UAUAAGCAUAAUAUUGUAGUUAGUAUAGUC UCAUCCUGGCUAUGGAGGCUUGGGGGGUAG UCUACCUUAACGUGUUUUACACCCCUAGCG AUUAUGACCAUAUUCGAAAACCGACUCAA CUACCUCUUUCUGUAAGGUGAUUAAGUUGU CACAAAUCGUCAAUAGGUCGUUAGUAAGGG CUAAUCCACCCUCCGACAAAGUCAUUUUC UCCUAUGUUCGUCUUCACCUCAUGAUCUCC ACUACCCGAGGGUUUUCUAUGGGCUAAAG UCUGAGGAACCGGGGUUAGCCUUGACCUA GUCUAGAGACCUAAACCAGGCUUUGGUUCA AGCAGAUUUAGGUAAGUUACUCUAGAACA GUUAGUCGAUACAGCAUGUCACCUAAUAGU AAACUUUACCAGUUUAAACGCUUCUUUGUG UCCUUAACUAAACUACCUAGUUAUCUGCUUA AAGUUUUCUUCUGGCCAGAUUAUGACUACAA CUUCUCACUGGAUGUGCUCUUUUUGAGAAC CUCUCUAAUUUUUAGUACUCCUCUGAGGU UUGAAAUUCAUACUUUUUUUGAAACUAGGA	

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
	AUUCUGGGAGAACACCAAAAAUAAAAUA GACCAAAACACCAGAAGCA	
SEQ ID NO: 31	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSASA MSWVRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSV KGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARHSNVNYYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHREALHNHYTQKLSLSLG	тяжелая цепь антитела PD1-1 против PD1
SEQ ID NO: 32	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDTSGIS FMNWYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSIGIPARFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPW TFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	легкая цепь антитела PD1-1 против PD1
SEQ ID NO: 33	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSASA MSWVRQAPGKGLEWVAYISGGGGDTYYSSSV KGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARHSNPNYAMDYWGQGLVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPS SSLGTKTYTCNVDPHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHREALHNHYTQKLSLSLG	тяжелая цепь антитела PD1-2 против PD1

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
SEQ ID NO: 34	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDTSGIS FMNWFYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSIGIPARFS GSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVPW TFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVVCLLNNFYYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	легкая цепь антитела PD1-2 против PD1
SEQ ID NO: 35	EVMLVESGGGLVQPGGSLRLSCTASGFTFSKSA MSWVRQAPGKGLEWVAIYSGGGGDTYYSSSV KGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYC ARHSNVNYYAMDYWGQGTLLTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV TCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK VSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEG NVFSCSVMHREALHNHYTQKLSLSLGLG	тяжелая цепь антитела PD1-3 против PD1
SEQ ID NO: 36	EIVLTQSPATLSLSPGERATMSCRASENIDVSGI SFMNWFYQQKPGQAPKLLIYVASNQGSIGIPARF SGSGSGTDFTLTISRLEPEDFAVYYCQQSKEVP WTFGQGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGT ASVVCLLNNFYYPREAKVQWKVDNALQSGNSQ ESVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYA CEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC	легкая цепь антитела PD1-3 против PD1
SEQ ID NO: 37	GTGGCCGCTGCCAGACCTGTTCTTCTGCTCC TGCCATCAGCGACTGGGAAAGAGCTAGAAGA AGGCAC	KRAS-uORF1
SEQ ID NO: 38	GTCGGCCGGAAAGAAGGCGCCGCTAGAGCTA GAGTTAGCTGCTGCCAGAGTTTGGCACCGC CGAAGTTCATCTGCCTGCTCCTAGCGCTGTCA GAGCCGCCAGACCAGGATTT	TPX2-uORF1
SEQ ID NO: 39	GGCGGAGATAAGGGCAGACTCGTGGGCGTTG CAGAAAGACAGGTGCCCTGCAGATTCCTGAG GCCA	AURKA-uORF2

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
SEQ ID NO: 40	AACCGGACACTGACCCTGTTCAACGTGACCC GGAATGACGCCAGAGCCTACGTGTCCGGCAT CCAGAATAGCGTGTCCGCCAATAGAAGCGAC CCCGTGACACTGGACGTGCTG	фрагмент CEACAM5
SEQ ID NO: 41	CCTGATAGCAGCTATCTGAGCGGCGCCAACC TGAACCTGAGCTGCCATTCTGCCTCT	фрагмент CEACAM5
SEQ ID NO: 42	CCACAGTACAGCTGGCGGATCAACGGAATCC CTCAGCAGCACACCCAGGTGCTGTTTATCGCC AAGATCACCCCTAACAACAACGGCACCTACG CCTGCTTCGTGTCCAATCTGGCCACCGGCAGA AACAAACAGCATCGTGAAGTCCATCACCGTGT CTGCCAGCGGCACATCTCCTGGACTGAGCGC C	фрагмент CEACAM5
SEQ ID NO: 43	GGCGGAGATAAGGGCAGACTCGTGGGCGTTG CAGAAAGACAGGTGCCCTGCAGATTCTGAG GCCA	фрагмент DUOXA2
SEQ ID NO: 44	ACAGAGTACAAGCTGGTGGTTGTGGGAGCTG ACGGCGTGGGAAAAAGCGCCCTGACAATCCA GCTGATCCAG	фрагмент KRAS-G12D
SEQ ID NO: 45	ACCGAGTATAAACTCGTGGTCGTCGGCGCTGT TGGCGTTGGCAAATCTGCTCTGACCATTACAG TCATTACAG	фрагмент KRAS-G12V
SEQ ID NO: 46	KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAKSS ENDRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQN SVSANRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLCHSA SPQYSWRINGIPQHTQVLFIAKITPNNGTYAC FVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSATEYK LVVVGADGVGKSALTIQLIQVAAARPVLPAPAI SDWERARRRHVGRKEGAARARVSLPEFGTAE VHLPAPSAVRAARPGFGDKGRLVGVAERQVP CRFLRPTGVLSLFLGGAVVSLQYVRPSALRLL DQSAKDSTVHEILSKLSLEGDHSTPPSAYGSVK PYTNFDAE	ATP150 (v2)

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
SEQ ID NO: 47	<p>KRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYREVAAAKSS            ENDRLRLLLKNRTLTLFNVTRNDARA YVSGIQN            SVSANRSDPVTL D VLPDSSYLSGANLNL SCHSA            SPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYAC            FVSNLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSATEYK            L V V V G A V G V G K S A L T I Q L I Q V A A A R P V L P A P A I            SDWERARRRHVGRKEGAARARVSL L P E F G T A E            V H L P A P S A V R A A R P G F G D K G R L V G V A E R Q V P            C R F L R P T G V L S L F L G G A V V S L Q Y V R P S A L R T L L            D Q S A K D S T V H E I L S K L S L E G D H S T P P S A Y G S V K            P Y T N F D A E</p>	АТР152 (v2)
SEQ ID NO: 48	<p>NRTLTLFNVTRNDARA YVSGIQNSVSANRSDPV            TLDVLPDSSYLSGANLNL SCHSASPQYSWRING            IPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVSNLATGR            NNSIVKSITVSASGTSPGLSATEYKL V V V G A D G            V G K S A L T I Q L I Q T E Y K L V V V G A V G V G K S A L T I Q            L I Q V A A A R P V L P A P A I S D W E R A R R R H V G R K E G            A A R A R V S L L P E F G T A E V H L P A P S A V R A A R P G F G            G D K G R L V G V A E R Q V P C R F L R P T G V L S L F L G G A            V V S L Q Y V R P S A L R T L L D Q S A K D</p>	мультиантигенный домен VSV-GP154 (v2)
SEQ ID NO: 49	<p>ACGAAGACAAACAAACCATATTATCATTTAA            AAGGCTCAGGAGAACTTTAACAGTAATCAA            AATGTCTGTTACAGTCAAGAGAATCATTGAC            AACACAGTCGTAGTTCCAAAACCTCCTGCAA            ATGAGGATCCAGTGGAATACCCGGCAGATTA            CTTCAGAAAATCAAAGGAGATTCCTCTTTAC            ATCAATACTACAAAAAGTTTGTGAGATCTAA            GAGGATATGTCTACCAAGGCCTCAAATCCGG            AAATGTATCAATCATAATGTCAACAGCTAC            TTGTATGGAGCATTAAGGACATCCGGGGTA            AGTTGGATAAAGATTGGTCAAGTTTCGGAAT            AAACATCGGGAAAGCAGGGGATACAATCGG            AATATTTGACCTTGTATCCTTGAAAGCCCTGG            ACGGCGTACTTCCAGATGGAGTATCGGATGC            TTCCAGAACCAGCGCAGATGACAAATGGTTG            CCTTTGTATCTACTTGGCTTATACAGAGTGGG            CAGAACACAAATGCCTGAATACAGAAAAAA            GCTCATGGATGGGCTGACAAATCAATGCAAA            ATGATCAATGAACAGTTTGAACCTTTGTGCC            AGAAGGTCGTGACATTTTGTATGTGTGGGGA            AATGACAGTAATTACACAAAAATTGTCGCTG            CAGTGGACATGTTCTTCCACATGTTCAAAAA            ACATGAATGTGCCTCGTTCAGATACGGAAC            ATTGTTCCAGATTCAAAGATTGTGCTGCATT            GGCAACATTTGGACACCTTGCAAAAATAACC            GGAATGTCTACAGAAGATGTAACGACCTGGA            TCTTGAACCGAGAAGTTGCAGATGAAATGGT            CCAAATGATGCTTCCAGGCCAAGAAATTGAC            AAGGCCGATTCATACATGCCTTATTTGATCGA</p>	последовательность кДНК VSV-GP154

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
	CTTTGGATTGTCTTCTAAGTCTCCATATTCTT CCGTCAAAAACCCTGCCTTCCACTTCTGGGG GCAATTGACAGCTCTTCTGCTCAGATCCACCA GAGCAAGGAATGCCCGACAGCCTGATGACAT TGAGTATACATCTCTTACTACAGCAGGTTTGT TGTACGCTTATGCAGTAGGATCCTCTGCCGAC TTGGCACAACAGTTTTGTGTTGGAGATAACA AATACACTCCAGATGATAGTACCGGAGGATT GACGACTAATGCACCGCCACAAGGCAGAGAT GTGGTCGAATGGCTCGGATGGTTTGAAGATC AAAACAGAAAACCGACTCCTGATATGATGCA GTATGCGAAAAGAGCAGTCATGTCACTGCAA GGCCTAAGAGAGAAGACAATTGGCAAGTATG CTAAGTCAGAAATTTGACAAATGACCCATAAA TTCTCAGATCACCTATTATATATTATGCTACA TATGAAAAAACTAACAGATATCATGGATAA TCTCACAAAAGTTCGTGAGTATCTCAAGTCCT ATTCTCGTCTGGATCAGGCGGTAGGAGAGAT AGATGAGATCGAAGCACAAACGAGCTGAAAA GTCCAATTATGAGTTGTTCCAAGAGGATGGA GTGGAAGAGCATACTAAGCCCTCTTATTTTCA GGCAGCAGATGATTCTGACACAGAATCTGAA CCAGAAATTGAAGACAATCAAGGCTTGTATG CACCAGATCCAGAAGCTGAGCAAGTTGAAGG CTTTATACAGGGGCCTTTAGATGACTATGCA GATGAGGAAGTGGATGTTGTATTTACTTCGG ACTGGAACAGCCTGAGCTTGAATCTGACGA GCATGGAAAGACCTTACGGTTGACATCGCCA GAGGGTTTAAGTGGAGAGCAGAAATCCCAGT GGCTTTCGACGATTAAGCAGTCGTGCAAAG TGCCAAATACTGGAATCTGGCAGAGTGCACA TTTGAAGCATCGGGAGAAGGGGTCATTATGA AGGAGCGCCAGATAACTCCGGATGTATATAA GGTCACTCCAGTGATGAACACACATCCGTCC CAATCAGAAGCAGTATCAGATGTTTGGTCTC TCTCAAAGACATCCATGACTTTCCAACCCAA GAAAGCAAGTCTTCAGCCTCTCACCATATCCT TGGATGAATTGTTCTCATCTAGAGGAGAGTT CATCTCTGTCTGGAGGTGACGGACGAATGTCT CATAAAGAGGCCATCCTGCTCGGCCTGAGAT ACAAAAAGTTGTACAATCAGGCGAGAGTCAA ATATTCTCTGTAGACTATGAAAAAAAGTAAC AGATATCACGATCTAAGTGTTATCCCAATCC ATTCATCATGAGTTCCTTAAAGAAGATTCTCG GTCTGAAGGGGAAAGGTAAGAAATCTAAGA AATTAGGGATCGCACCACCCCTTATGAAGA GGACACTAGCATGGAGTATGCTCCGAGCGCT CCAATTGACAAATCCTATTTTGGAGTTGACG AGATGGACACSTATGATCCGAATCAATTAAG ATATGAGAAATTCTTCTTTACAGTGAAAATG ACGGTTAGATCTAATCGTCCGTTTCAAGCAT ACTCAGATGTGGCAGCCGCTGTATCCCATTG GGATCACATGTACATCGGAATGGCAGGGAAA CGTCCCTTCTACAAAATCTTGGCTTTTTTGGG TTCTTCTAATCTAAAGGCCACTCCAGCGGTAT TGGCAGATCAAGGTCAACCAGAGTATCACGC TCACTGCGAAGGCAGGGCTTATTTGCCACAT AGGATGGGGAAGACCCCTCCCATGCTCAATG TACCAGAGCACTTCAGAAGACCATTCAATAT	

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
	AGGTCTTTACAAGGGAACGATTGAGCTCACA ATGACCATCTACGATGATGAGTCACTGGAAG CAGCTCSTATGATCTGGGATCATTTCAATTCT TCCAAATTTTCTGATTTTCAGAGAGAAGGCCTT AATGTTTGGCCTGATTGTTCGAGAAAAAGGCA TCTGGAGCGTGGGTCCTGGACTCTATCGGCC ACTTCAAATGAGCTAGTCTAACTTCTAGCTTC TGAACAATCCCCGGTTTACTCAGTCTCCCCTA ATTCCAGCCTCTCGAACAATAATATCCTGTC TTTTCTATCCSTATGAAAAAACTAACAGAG ATCGATCTGTTACGCGTCACGGATCCCCGG GCTGCAGGAATTCGCCACCATGGGCCAGATC GTGACCATGTTTCGAGGCCCTGCCCCACATCA TCGACGAGGTGATCAACATCGTGATCATCGT GCTCATCATCATCACCAGCATCAAGGCCGTG TACAACCTTCGCCACCTGCGGCATCCTGGCCCT GGTGAGCTTCCTGTTCTGCGCCGGCAGAAGC TGCGGCATGTACGGCCTGAATGGCCCCGATA TCTACAAGGGCGTGTACCAGTTCAAGAGCGT GGAGTTCGACATGAGCCACCTGAACCTCACC ATGCCAACGCCTGCAGCGCCAACAATAGCC ACCACTACATCAGCATGGGCAGCAGCGGCCT GGAGTTGACCTTCACCAACGACAGCATCCTG AACCACAACCTTCTGCAACCTCACCAGCGCCT TCAACAAGAAAACCTTCGACCACACCCTCAT GAGCATCGTGAGCAGCCTGCACCTGAGCATC AGAGGCAACAGCAACCACAAGGCCGTGAGCT GCGACTTCAACAACGGCATCACCATCCAGTA CAACCTGAGCTTCAGCGATCCTCAGAGCGCC ATCAGCCAGTGCAGAACCTTCAGAGGCAGAG TGCTGGACATGTTTCAGAACCGCCTTCGGCGG CAAGTACATGAGAAGCGGCTGGGGCTGGGCC GGCAGCGACGGCAAGACCACCTGGTGCAGCC AGACCAGCTACCAGTACCTCATCATCCAGAA CAGAACCTGGGAGAACCCTGCAGATACGCC GGACCTTTCGGCATGAGCAGAATCCTGTTTCG CCCAGGAGAAAACCAAGTTCCTCACCAGGAG ACTGGCCGGCACCTTCACCTGGACCCTGAGC GACAGCAGCGGCCTGGAGAACCCTGGCGGCT ACTGCCTCACCAAGTGGATGATCCTGGCCGC CGAGCTGAAGTGCTTCGGCAACACCGCCGTG GCCAAGTGCAACGTGAACCACGACGAGGAGT TCTGCGACATGCTGAGACTCATCGACTACAA CAAGGCCGCCCTGAGCAAGTTCAAGCAGGAC GTGGAGAGCGCCCTGCACGTGTTCAAGACCA CCGTGAACAGCCTCATCAGCGACCAGCTGCT CATGAGAAAACCACCTGAGAGACCTCATGGGC GTGCCCTACTGCAACTACAGCAAGTTCTGGT ATCTGGAGCACGCCAAGACCGGCGAGACCAG CGTGCCCAAGTGCTGGCTGGTGACCAATGGC AGCTACCTGAACGAGACCCACTTCAGCGACC AGATCGAGCAGGAAGCCGACAACATGATCAC CGAGATGCTGAGGAAGGACTACATCAAGAGA CAGGGCAGCACCCCCCTGGCCCTCATGGATC TGCTCATGTTTCAGCACCAAGCGCCTACCTCAT AGCATCTTCTGACCTGGTGAAGATCCCCA CCCACAGACACATCAAGGGCGGCAGCTGCC CAAGCCCCACAGACTCACCAACAAGGGCATC TGCAGCTGCGGCGCCTTCAAGGTGCCCGGCG	

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
	TGAAAACCATCTGGAAGAGGAGATAAGCGGC CGCTACGACCTCGACTATGAAAAAACTAAC AGATATCCTCGACGCCACCATGAACCGGACA CTGACCCTGTTCAACGTGACCCGGAATGACG CCAGAGCCTACGTGTCCGGCATCCAGAATAG CGTGTCCGCCAATAGAAGCGACCCCGTGACA CTGGACGTGCTGCCTGATAGCAGCTATCTGA GCGGCGCCAACCTGAACCTGAGCTGCCATTC TGCCTCTCCACAGTACAGCTGGCGGATCAAC GGAATCCCTCAGCAGCACACCCAGGTGCTGT TTATCGCCAAGATCACCCCTAACAAACACGG CACCTACGCCTGCTTCGTGTCCAATCTGGCCA CCGGCAGAAACAACAGCATCGTGAAGTCCAT CACCGTGTCTGCCAGCGGCACATCTCCTGGA CTGAGCGCCACAGAGTACAAGCTGGTGGTTG TGGGAGCTGACGGCGTGGGAAAAAGCGCCCT GACAATCCAGCTGATCCAGACCGAGTATAAA CTCGTGGTCGTCGGCGCTGTTGGCGTTGGCA AATCTGCTCTGACCATTCAAGCTCATTCAAGTG GCCGCTGCCAGACCTGTTCTCCTGCTCCTGC CATCAGCGACTGGGAAAGAGCTAGAAGAAG GCACGTTCGGCCGAAAGAAGGCGCCGCTAGA GCTAGAGTTAGCCTGCTGCCAGAGTTTGGCA CCGCCGAAGTTCATCTGCCTGCTCCTAGCGCT GTCAGAGCCGCCAGACCAGGATTTGGCGGAG ATAAGGGCAGACTCGTGGGCGTTGCAGAAAG ACAGGTGCCCTGCAGATTCCTGAGGCCAACA GGCGTGCTGAGCCTGTTTCTTGGCGGAGCTGT GGTGTCCCTGCAGTACGTCAGACCTAGCGCT CTGAGAACCCTGCTGGATCAGAGCGCCAAGG ATTGATCAACTAGCCAGATTCTTCATGTTTGG ACCAAATCAACTTGTGATACCATGCTCAAAG AGGCCTCAATTATATTTGAGTTTTTAATTTTT ATGAAAAAACTAACAGCAATCATGGAAGTC CACGATTTTGAGACCGACGAGTTCAATGATT TCAATGAAGATGACTATGCCACAAGAGAATT CCTGAATCCCGATGAGCGCATGACGTAATG AATCATGCTGATTACAACCTGAATTCTCCTCT AATTAGTGATGATATTGACAATTTAATCAGG AAATTCAATTCTCTTCCAATTCCTCGATGTG GGATAGTAAGAACTGGGATGGAGTTCTTGAG ATGTTAACGTCATGTCAAGCCAATCCCATCCC AACATCTCAGATGCATAAATGGATGGGAAGT TGGTTAATGTCTGATAATCATGATGCCAGTCA AGGGTATAGTTTTTTACATGAAGTGGACAAA GAGGCAGAAATAACATTTGACGTGGTGGAGA CCTTCATCCGCGGCTGGGGCAACAAACCAAT TGAATACATCAAAAAGGAAAGATGGACTGAC TCATTCAAAATTCTCGCTTATTTGTGTCAAAA GTTTTTGGACTTACACAAGTTGACATTAATCT TAAATGCTGTCTCTGAGGTGGAATTGCTCAA CTTGGCGAGGACTTCAAAGGCAAAGTCAGA AGAAGTTCTCATGGAACGAACATATGCAGGA TTAGGGTTCCCAGCTTGGGTCCTACTTTTATT TCAGAAGGATGGGCTTACTTCAAGAACTTG ATATTCTAATGGACCGAACTTTCTGTTAATG GTCAAAGATGTGATTATAGGGAGGATGCAAA CGGTGCTATCCATGGTATGTAGAATAGACAA CCTGTTCTCAGAGCAAGACATCTTCTCCCTTC	

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
	TAAATATCTACAGAATTGGAGATAAAAATTGT GGAGAGGCAGGGAAATTTTTCTTATGACTTG ATTAAAATGGTGGAAACCGATATGCAACTTGA AGCTGATGAAATTAGCAAGAGAATCAAGGCC TTTAGTCCCACAATTCCTCATTTTGAAAATC ATATCAAGACTTCTGTTGATGAAGGGGCAAA AATTGACCGAGGTATAAGATTCCTCCATGAT CAGATAATGAGTGTGAAAACAGTGGATCTCA CACTGGTGATTTATGGATCGTTCAGACATTGG GGTCATCSTTTATAGATTATTACACTGGACT AGAAAAATTACATTCCCAAGTAACCATGAAG AAAGATATTGATGTGTCAATATGCAAAAAGCAC TTGCAAGTGAATTTAGCTCGGATTGTTCTATTT CAACAGTTCAATGATCATAAAAAGTGGTTTCG TGAATGGAGACTTGCTCCCTCATGATCATCC TTTAAAAGTCATGTTAAAGAAAATACATGGC CCACAGCTGCTCAAGTTCAAGATTTTGGAGA TAAATGGCATGAACTTCCGCTGATTAATGTT TTGAAATACCCGACTTACTAGACCCATCGAT AATATACTCTGACAAAAGTCATTCAATGAAT AGGTCAGAGGTGTTGAAACATGTCCGAATGA ATCCGAACACTCCTATCCCTAGTAAAAAGGT GTTGCAGACTATGTTGGACACAAAGGCTACC AATTGGAAAGAATTTCTTAAAGAGATTGATG AGAAGGGCTTAGATGATGATGATCTAATTAT TGGTCTTAAAGGAAAGGAGAGGGAAGTAA GTTGGCAGGTAGATTTTTCTCCCTAATGTCTT GGAAATTGCGAGAATACTTTGTAATTACCGA ATATTTGATAAAGACTCATTTTCGTCCCTATGT TTAAGGCCTGACAATGGCGGACGATCTAAC TGCAGTCATTA AAAAGATGTTAGATTCCCTCAT CCGGCCAAGGATTGAAGTCATATGAGGCAAT TTGCATAGCCAATCACATTGATTACGAAAAA TGAATAACCACCAAAGGAAGTTATCAAACG GCCCAGTGTCCGAGTTATGGGCCAGTTCTTA GGTATCCATCCTTAATCGAGAGAAGTCAATG AATTTTTTGAGAAAAGTCTTATATACTACAAT GGAAGACCAGACTTGATGCGTGTTACACAACA ACACACTGATCAATTCAACCTCCCAACGAGT TTGTTGGCAAGGACAAGAGGGTGGACTGGAA GGTCTACGGCAAAAAGGATGGAGTATCCTCA ATCTACTGGTTATTCAAAGAGAGGCTAAAAAT CAGAAAACACTGCTGTCAAAGTCTTGGCACAA GGTGATAATCAAGTTATTTGCACACAGTATA AAACGAAGAAATCGAGAAACGTTGTAGAATT ACAGGGTGCTCTCAATCAAATGGTTTCTAAT AATGAGAAAATTATGACTGCAATCAAAAATAG GGACAGGGAAGTTAGGACTTTTGATAAATGA CGATGAGACTATGCAATCTGCAGATTACTTG AATTATGGAAAAATACCGATTTTCCGTGGAG TGATTAGAGGGTTAGAGACCAAGAGATGGTC ACGAGTGACTTGTGTCACCAATGACCAAATA CCCACTTGTGCTAATATAATGAGCTCAGTTTC CACAAATGCTCTCACCGTAGCTCATTTTGCTG AGAACCCAATCAATGCCATGATACAGTACAA TTATTTTGGGACATTTGCTAGACTCTTGTTGA TGATGCATGATCCTGCTCTTCGTCAATCATTG TATGAAGTTCAAGATAAGATACCGGGCTTGC ACAGTTCTACTTTCAAATACGCCATGTTGTAT	

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
	TTGGACCCTTCCATTGGAGGAGTGTCTGGGCA TGTCTTTGTCCAGGTTTTTGATTAGAGCCTTC CCAGATCCCGTAACAGAAAGTCTCTCATTCT GGAGATTCATCCATGTACATGCTCGAAGTGA GCATCTGAAGGAGATGAGTGCAGTATTTGGA AACCCCGAGATAGCCAAGTTTCGAATAACTC ACATAGACAAGCTAGTAGAAGATCCAACCTC TCTGAACATCGCTATGGGAATGAGTCCAGCG AACTTGTTAAAGACTGAGGTTAAAAAATGCT TAATCGAATCAAGACAAACCATCAGGAACCA GGTGATTAAGGATGCAACCATATATTTGTAT CATGAAGAGGATCGGCTCAGAAGTTTCTTAT GGTCAATAAATCCTCTGTTCCCTAGATTTTTA AGTGAATTCAAATCAGGCACTTTTTTGGGAG TCGCAGACGGGCTCATCAGTCTATTTCAAAA TTCTCGTACTATTCGGAACCTTTAAGAAAA AGTATCATAGGGAATTGGATGATTTGATTGT GAGGAGTGAGGTATCCTCTTTGACACATTTA GGGAAACTTCATTTGAGAAGGGGATCATGTA AAATGTGGACATGTTTCAGCTACTCATGCTGA CACATTAAGATACAAATCCTGGGGCCGTACA GTTATTGGGACAACGTACCCCATCCATTAG AAATGTTGGGTCCACAACATCGAAAAGAGAC TCCTTGTGCACCATGTAACACATCAGGGTTCA ATTATGTTTCTGTGCATTGTCCAGACGGGATC CATGACGTCTTTAGTTCACGGGGACCATTGCC TGCTTATCTAGGGTCTAAAACATCTGAATCTA CATCTATTTTGCAGCCTTGGGAAAGGGAAAG CAAAGTCCCCTGATTAAGAGAGCTACACGT CTTAGAGATGCTATCTCTTGGTTTGTGAACC CGACTCTAAACTAGCAATGACTATACTTTCTA ACATCCACTCTTAAACAGGCGAAGAATGGAC CAAAAGGCAGCATGGGTTCAAAAGAACAGG GTCTGCCCTTCATAGGTTTTTCGACATCTCGGA TGAGCCATGGTGGGTTTCGCATCTCAGAGCAC TGCAGCATTGACCAGGTTGATGGCAACTACA GACACCATGAGGGATCTGGGAGATCAGAATT TCGACTTTTTATTCCAAGCAACGTTGCTCTAT GCTCAAATTACCACCACTGTTGCAAGAGACG GATGGATCACCAGTTGTACAGATCATTATCA TATTGCCTGTAAGTCCTGTTTGAGACCCATAG AAGAGATCACCCCTGGACTCAAGTATGGACTA CACGCCCCCAGATGTATCCCATGTGCTGAAG ACATGGAGGAATGGGGAAGGTTTCGTGGGGAC AAGAGATAAAACAGATCTATCCTTTAGAAGG GAATTGGAAGAATTTAGCACCTGCTGAGCAA TCCTATCAAGTCGGCAGATGTATAGGTTTTCT ATATGGGAGACTTGGCGTATAGAAAATCTACT CATGCCGAGGACAGTTCTCTATTTCTCTATC TATACAAGGTCGTATTAGAGGTCGAGGTTTC TTAAAAGGGTTGCTAGACGGATTAATGAGAG CAAGTTGCTGCCAAGTAATACACCGGAGAAG TCTGGCTCATTGAAGAGGCCGGCCAACGCA GTGTACGGAGGTTTGATTTACTTGATTGATAA ATTGAGTGTATCACCTCCATTCCTTTCTCTTA CTAGATCAGGACCTATTAGAGACGAATTAGA AACGATTCCCCACAAGATCCAACCTCCTAT CCGACAAGCAACCGTGATATGGGGGTGATTG TCAGAAATTACTTCAAATACCAATGCCGTCT	

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
	AATTGAAAAGGGAAAATACAGATCACATTAT TCACAATTATGGTTATTCTCAGATGTCTTATC CATAGACTTCATTGGACCATTCTCTATTTCCA CCACCCTCTTGCAAATCCTATACAAGCCATTT TTATCTGGGAAAGATAAGAATGAGTTGAGAG AGCTGGCAAATCTTTCTTCATTGCTAAGATCA GGAGAGGGGTGGGAAGACATACATGTGAAA TTCTTCACCAAGGACATATTATTGTGTCCAGA GGAAATCAGACATGCTTGCAAGTTCGGGATT GCTAAGGATAATAATAAAGACATGAGCTATC CCCCTTGGGGAAGGGAATCCAGAGGGACAAT TACAACAATCCCTGTTTATTATACGACCACC CTTACCCAAAGATGCTAGAGATGCCTCCAAG AATCCAAAATCCCCTGCTGTCCGGAATCAGG TTGGGCCAATTACCAACTGGCGCTCATTATA AAATTCGGAGTATATTACATGGAATGGGAAT CCATTACAGGGACTTCTTGAGTTGTGGAGAC GGCTCCGGAGGGATGACTGCTGCATTACTAC GAGAAAATGTGCATAGCAGAGGAATATTCAA TAGTCTGTTAGAATTATCAGGGTCAGTCATGC GAGGCGCTCTCCTGAGCCCCCAGTGCCCT AGAAACTTTAGGAGGAGATAAATCGAGATGT GTAATGGTGAAACATGTTGGGAATATCCAT CTGACTTATGTGACCCAAGGACTTGGGACTA TTTCTCCGACTCAAAGCAGGCTTGGGGCTTC AAATTGATTTAATTGTAATGGATATGGAAGT TCGGGATTCTTCTACTAGCCTGAAAATTGAG ACGAATGTTAGAAATTATGTGCACCGGATTT TGGATGAGCAAGGAGTTTTAATCTACAAGAC TTATGGAACATATATTTGTGAGAGCGAAAAG AATGCAGTAACAATCCTTGGTCCCATGTTCA AGACGGTCGACTTAGTTCAAACAGAATTTAG TAGTTCTCAAACGTCTGAAGTATATATGGTAT GTAAGGTTTGAAGAAATTAATCGATGAACC CAATCCCGATTGGTCTTCCATCAATGAATCCT GGAAAAACCTGTACGCATTCCAGTCATCAGA ACAGGAATTTGCCAGAGCAAAGAAGGTTAGT ACATACTTTACCTTGACAGGTATTCCCTCCCA ATTCATTCCCTGATCCTTTTGTAACATTGAGA CTATGCTACAAATATTCGGAGTACCCACGGG TGTGTCTCATGCGGCTGCCTTAAAATCATCTG ATAGACCTGCAGATTTATTGACCATTAGCCTT TTTTATATGGCGATTATATCGTATTATAACAT CAATCATATCAGAGTAGGACCGATACCTCCG AACCCCCATCAGATGGAATTGCACAAAATG TGGGGATCGCTATAACTGGTATAAGCTTTTG GCTGAGTTTGATGGAGAAAGACATTCCACTA TATCAACAGTGTTTAGCAGTTATCCAGCAATC ATTCCCGATTAGGTGGGAGGCTGTTTCAGTA AAAGGAGGATACAAGCAGAAGTGGAGTACT AGAGGTGATGGGCTCCCAAAGATAACCGAA TTTCAGACTCCTTGGCCCCAATCGGGAAGT GATCAGATCTCTGGAATTGGTCCGAAACCAA GTTTCGTCTAAATCCATTCAATGAGATCTTGTT CAATCAGCTATGTCGTACAGTGGATAATCAT TTGAAATGGTCAAATTTGCGAAGAAACACAG GAATGATTGAATGGATCAATAGACGAATTC AAAAGAAGACCGGTCTATACTGATGTTGAAG AGTGACCTACACGAGGAAAACCTTGGAGAG	

SEQ ID NO	Последовательность	Примечания
	ATTAATAAATCATGAGGAGACTCCAAACTTT AAGTATGAAAAAACTTTGATCCTTAAGACC CTCTTGTGGTTTTTATTTTTTATCTGGTTTTGT GGTCTTCGT	
SEQ ID NO: 50	NRTLTLFNVTRNDARAYVSGIQNSVSA NRSDPVTLDVLPDSSYLSGANLNLSCHS ASPQYSWRINGIPQQHTQVLFIAKITPNN NGTYACFVSNLATGRNNSIVKSITVSAS GTSPGLSATEYKLVVVGADGVGKSALT IQLIQ	мультиантигенный домен ATP132
SEQ ID NO:51	MKRYKNRVASRKSRAKFKQLLQHYRE VAAAKSSENDRLRLLLKNRTLTLFNVT RNDARAYVSGIQNSVSANRSDPVTLDV LPDSSYLSGANLNLSCHSASPQYSWRIN GIPQQHTQVLFIAKITPNNNGTYACFVS NLATGRNNSIVKSITVSASGTSPGLSATE YKLVVVGADGVGKSALTIQLIQSTVHEI LSKLSLEGDHSTPPSAYGSVKPYTNFDA E	ATP132

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, содержащая:

5 (i) по меньшей мере один опухолевый антиген или его фрагмент или вариант последовательности,

где опухолевый антиген кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1), мРНК TPX2 (TPX2-uORF1) или мРНК AURKA (AURKA-uORF2);

(ii) нуклеиновую кислоту, кодирующую указанный опухолевый антиген;

10 (iii) антигенпредставляющую клетку (АПК), содержащую (i) или (ii); или

(iv) Т-клетку, экспрессирующую или Т-клеточный рецептор, или Т-клеточный рецептор CAR, нацеленный на указанный опухолевый антиген.

2. Композиция по п. 1, где композиция дополнительно содержит по 15 меньшей мере один опухолевый антиген, выбранный из группы, включающей в себя CEACAM5, DUOXA2, и KRAS, или его фрагмент или вариант последовательности.

3. Композиция по п. 2, где KRAS или его фрагмент представляет собой 20 KRAS-G12D или его фрагмент, или KRAS-G12V или его фрагмент.

4. Композиция по любому из предыдущих пунктов, где опухолевый антиген, выбранный из CEACAM5, DUOXA2, KRAS, KRAS-uORF1, TPX2-uORF1 и AURKA-uORF2, или его фрагмент или вариант последовательности, 25 содержит эпитоп CD4+ и/или CD8+.

5. Композиция по любому из предыдущих пунктов, где опухолевый антиген содержит по меньшей мере одну из аминокислот, при этом аминокислотная последовательность представляет собой:

30 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

5 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 или 2, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

10 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3 или 4, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

15 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности; или

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

20 6. Пептид, содержащий:

а) проникающий в клетку пептид;

б) мультиантигенный домен, содержащий по меньшей мере один опухолевый антиген или его фрагмент или вариант последовательности,

25 где опухолевый антиген кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1), мРНК TPX2 (TPX2-uORF1) или мРНК AURKA (AURKA-uORF2); и

с) агонист пептида TLR.

30 7. Пептид по п. 6, где мультиантигенный домен дополнительно содержит по меньшей мере один опухолевый антиген, выбранный из группы, состоящей из CEACAM5 или его фрагмента, DUOXA2 или его фрагмента, и KRAS или его фрагмента, где каждый фрагмент имеет минимальную длину 8 аминокислот.

8. Пептид по п. 6 или 7, где мультиантигенный домен содержит три или большее количество различных антигенов или их фрагментов, имеющих минимальную длину 8 аминокислот, в частности 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или большее количество различных антигенов или их фрагментов.

5

9. Пептид по любому из пп. 6 - 8, где мультиантигенный домен содержит  
- опухолевый антиген, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1),

10  
- опухолевый антиген, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК TPX2 (TPX2-uORF1) и  
- опухолевый антиген, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК AURKA (AURKA-uORF2).

15  
10. Пептид по любому из пп. 6 - 9, где мультиантигенный домен содержит, предпочтительно в направлении от N-конца к С-концу:

- CEACAM5 или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот,

- KRAS или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот,

20  
- KRAS-uORF1 или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот,

- TPX2-uORF1 или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот,

25  
- AURKA-uORF2 или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот, и

- DUOXA2 или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот.

30  
11. Пептид по любому из пп. 6 - 10, где KRAS или его фрагмент представляет собой KRAS-G12D или его фрагмент, или KRAS-G12V или его фрагмент.

12. Пептид по любому из пп. 6 - 11, где фрагмент CEACAM5 содержит аминокислотную последовательность в соответствии с любой из SEQ ID NO 6 –

8, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, при этом предпочтительно мультиантигенный домен содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

13. Пептид по любому из пп. 6 - 12, где мультиантигенный домен содержит по меньшей мере одну аминокислотную последовательность, выбранную из группы, включающей в себя:

10 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

15 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

20 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 или 2, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3 или 4, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

25 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности; или

30 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

14. Пептид по любому из пп. 6 - 13, где мультиантигенный домен содержит, предпочтительно в направлении от N-конца к C-концу:

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

5 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, и/или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

10 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 или 2, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3 или 4, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

15 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности; и

20 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

25 15. Пептид по любому из пп. 6 - 14, где мультиантигенный домен содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 13 или 14, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

30 16. Пептид по любому из пп. 6 - 15, где проникающий в клетку пептид имеет аминокислотную последовательность, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22, или SEQ ID NO: 23, или их варианты последовательности, имеющие по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

17. Пептид по любому из пп. 6 - 16, где проникающий в клетку пептид имеет аминокислотную последовательность, содержащую или состоящую из

аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 15 или их варианты последовательности, имеющие по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

5           18. Пептид по любому из пп. 6 - 17, где агонист пептида TLR представляет собой агонист пептида TLR2 и/или агонист пептида TLR4.

10           19. Пептид по любому из пп. 6 - 18, где агонист пептида TLR содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 16 или 24; или её варианта последовательности, имеющего по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

20. Пептид по любому из пп. 6 - 19, где

15           a) проникающий в клетку пептид имеет аминокислотную последовательность, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 15, SEQ ID NO: 21, SEQ ID NO: 22 или SEQ ID NO: 23, или их варианты последовательности, имеющие по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

20           b) мультиантигенный домен содержит  
- фрагмент CEACAM5 имеющий минимальную длину 8 аминокислот,  
- фрагмент DUOXA2 имеющий минимальную длину 8 аминокислот,  
- фрагмент KRAS имеющий минимальную длину 8 аминокислот,  
- KRAS-uORF1, или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот,

25           - TPX2-uORF1, или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот, и/или

- AURKA-uORF2, или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот;

и

30           c) агонист пептида TLR представляет собой агонист пептида TLR2 и/или агонист пептида TLR4.

21. Пептид по любому из пп. 6 - 20, где пептид содержит, предпочтительно в направлении от N-конца к С-концу:

- 5 а) проникающий в клетку пептид, имеющий аминокислотную последовательность, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 15, или их варианты последовательности, имеющие по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;
- 10 б) мультиантигенный домен, содержащий
- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;
  - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, и/или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;
  - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;
  - 20 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;
  - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности; и
  - 25 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности; и
- 30 в) агонист пептида TLR, имеющий аминокислотную последовательность, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 16, или их варианты последовательности, имеющие по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

22. Пептид по любому из пп. 6 - 21, где пептид содержит в направлении от N-конца к С-концу:

- а) проникающий в клетку пептид, имеющий аминокислотную последовательность, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 15, или их варианты последовательности, имеющие по меньшей мере 90 % идентичности последовательности;
- б) мультиантигенный домен, содержащий
- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 90 % идентичности последовательности;
  - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 90 % идентичности последовательности, и/или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 90 % идентичности последовательности;
  - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 90 % идентичности последовательности;
  - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 90 % идентичности последовательности;
  - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 90 % идентичности последовательности; и
  - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 90 % идентичности последовательности; и
- в) агонист пептида TLR, имеющий аминокислотную последовательность, содержащую или состоящую из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 16, или их варианты последовательности, имеющие по меньшей мере 90 % идентичности последовательности.

23. Пептид по любому из пп. 6 - 22, где пептид содержит или состоит из аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 46, или SEQ ID NO: 47, предпочтительно аминокислотной последовательности согласно SEQ ID NO: 17 или 18, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

24. Рекомбинантный вирус везикулярного стоматита (VSV), кодирующий мультиантигенный домен, содержащий по меньшей мере один опухолевый антиген, или его фрагмент или его вариант последовательности, где опухолевый антиген кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF), мРНК TPX2 (TPX2-uORF) или мРНК AURKA (AURKA-uORF).

25. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по п. 24, где мультиантигенный домен дополнительно содержит по меньшей мере один опухолевый антиген, выбранный из группы, состоящей из CEACAM5 или его фрагмента, DUOXA2 или его фрагмента, и KRAS или его фрагмента, где каждый фрагмент имеет минимальную длину 8 аминокислот.

26. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по п. 24 или 25, где мультиантигенный домен содержит три или большее количество различных антигенов или их фрагментов, имеющих минимальную длину 8 аминокислот, в частности 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 или большее количество различных антигенов или их фрагментов.

27. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 26, где мультиантигенный домен содержит:

- опухолевый антиген, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК KRAS (KRAS-uORF1),
- опухолевый антиген, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК TPX2 (TPX2-uORF1) и
- опухолевый антиген, который кодируется в направлении 5' открытой рамки считывания (uORF) в пределах 5' UTR мРНК AURKA (AURKA-uORF2).

28. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 27, где мультиантигенный домен содержит, предпочтительно в направлении от N-конца к C-концу:

- 5           -    CEACAM5 или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот,
- KRAS или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот,
- KRAS-uORF1 или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8  
10 аминокислот,
- TPX2-uORF1 или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот,
- AURKA-uORF2 или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот, и
- 15           -    DUOXA2 или его фрагмент, имеющий минимальную длину 8 аминокислот.

29. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 28, где KRAS или его фрагмент представляет собой KRAS-G12D или его фрагмент, или  
20 KRAS-G12V или его фрагмент.

30. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 29, где фрагмент CEACAM5 содержит аминокислотную последовательность в соответствии с любой из SEQ ID NO 6 – 8 или её вариант последовательности,  
25 имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, при этом предпочтительно мультиантигенный домен содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

31. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 30, где мультиантигенный домен содержит по меньшей мере одну из аминокислотных последовательностей, выбранных из группы, включающей в себя:

5 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

10 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

15 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 или 2 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3 или 4 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

20 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности; или

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

25 32. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 31, где мультиантигенный домен содержит, предпочтительно в направлении от N-конца к C-концу:

30 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, и/или аминокислотную последовательность согласно SEQ

ID NO: 12, и/или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

5 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности;

10 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности; и

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

15

33. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 32, где мультиантигенный домен содержит в направлении от N-конца к С-концу:

20 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 9, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 90 % идентичности последовательности;

25 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 11, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 90 % идентичности последовательности, и/или аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 12, и/или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 90 % идентичность последовательности;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 1, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 90 % идентичности последовательности;

30 - аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 3, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 90 % идентичности последовательности;

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 5, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 90 % идентичности последовательности; и

- аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 10, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 90 % идентичности последовательности.

5           34. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 33, где  
мультиантигенный домен содержит аминокислотную последовательность  
согласно SEQ ID NO: 19 или SEQ ID NO: 48, предпочтительно аминокислотную  
последовательность согласно SEQ ID NO: 19, или её вариант  
последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности  
10 последовательности.

          35. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 34, где  
вирус везикулярного стоматита (VSV) представляет собой онколитический  
вирус везикулярного стоматита (VSV).

15           36. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 35, где  
вирус везикулярного стоматита (VSV) является репликационно-компетентным.

          37. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 36, где  
20 ген, кодирующий гликопротеин G, заменен геном, кодирующим гликопротеин  
GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), где гликопротеин GP  
LCMV предпочтительно содержит аминокислотную последовательность  
согласно SEQ ID NO: 25, или ее функциональный вариант последовательности,  
который по меньшей мере на 80 %, 85 %, 90 %, 95 % идентичен ей.

25           38. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пунктов 24 - 37,  
где

- он кодирует в своем геноме мультиантигенный домен по любому из  
пунктов 25 - 34,

30           - он кодирует в своем геноме нуклеопротеин вируса везикулярного  
стоматита (N), большой белок (L), фосфопротеин (P) и матричный белок (M),

- ген, кодирующий гликопротеин G вируса везикулярного стоматита,  
заменен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного  
хориоменингита (LCMV), и/или

- гликопротеин G вируса везикулярного стоматита заменен гликопротеином GP LCMV.

5 39. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пунктов 24 - 38, где

- он кодирует в своем геноме нуклеопротеин вируса везикулярного стоматита (N), содержащий аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 26, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 80 %, 85 %, 90 %, 92 %, 94 %, 96 %, 98 % идентичности последовательности;

10 - он кодирует в своем геноме фосфопротеин (P) вируса везикулярного стоматита, содержащий аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 27, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 80 %, 85 %, 90 %, 92 %, 94 %, 96 %, 98 % идентичности последовательности:

15 - он кодирует в своем геноме большой белок (L) вируса везикулярного стоматита, содержащий аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 28, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 80 %, 85 %, 90 %, 92 %, 94 %, 96 %, 98 % идентичности последовательности;

20 - он кодирует в своем геноме матричный белок (M) вируса везикулярного стоматита, содержащий аминокислотную последовательность, указанную в SEQ ID NO: 29, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 80 %, 85 %, 90 %, 92 %, 94 %, 96 %, 98 % идентичности последовательности;

25 - он кодирует в своем геноме мультиантигенный домен вируса везикулярного стоматита по любому из пунктов 25 - 34,

- ген, кодирующий гликопротеин G вируса везикулярного стоматита, заменен геном, кодирующим гликопротеин GP вируса лимфоцитарного хориоменингита (LCMV), и/или

- гликопротеин G заменен гликопротеином GP LCMV.

30 40. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 39, и где он кодирует в своем геноме:

- фосфопротеин (P), содержащий аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 27, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности,

- нуклеопротеин (N), содержащий аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 26, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности,

5 - матричный белок (M), содержащий аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 29, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности,

10 - большой белок (L), содержащий аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 28, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности,

- гликопротеин (GP), содержащий аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 25, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, и

15 - мультиантигенный домен, который содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 19 или SEQ ID NO: 48 или предпочтительно аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 19, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

20 41. Вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 40, где его геном РНК содержит или состоит из последовательности РНК согласно SEQ ID NO: 30, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 75 %, 76 %, 77 %, 78 %, 79 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % или 99 %  
25 идентичности последовательности.

42. Вакцина, содержащая

- 30 (i) композицию по любому из пп. 1 - 5;  
(ii) пептид по любому из пп. 6 - 23; или  
(iii) вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 41.

43. Вакцина по п. 42, где вакцина содержит

- (i) пептид по любому из пп. 6 - 23; и  
(ii) вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 41.

44. Набор, содержащий

- (i) пептид по любому из пп. 6 - 23; и
- (ii) вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 41.

5

45. Комбинация, содержащая:

- (i) пептид по любому из пп. 6 - 23; и
- (ii) вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 41.

10 46. Вакцина по п. 43, набор по п. 44, или комбинация по п. 45, где мультиантигенный домен, закодированный в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV), содержит антиген или его фрагмент или вариант последовательности, который содержится в мультиантигенном домене пептида.

15 47. Вакцина, набор или комбинация по п. 46, где мультиантигенный домен, закодированный в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV), содержит аминокислотные последовательности каждого из антигенов, или их фрагментов или вариантов последовательности, которые содержатся в мультиантигенном домене пептида.

20 48. Вакцина по п. 43, набор по п. 44, или комбинация по п. 45, где мультиантигенный домен пептида содержит антиген или его фрагмент, или вариант последовательности, который содержится в мультиантигенном домене, закодированном в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV).

25 49. Вакцина, набор или комбинация по п. 48, где мультиантигенный домен пептида содержит аминокислотные последовательности каждого из антигенов или их фрагментов или вариантов последовательности мультиантигенного домена, который закодирован в геноме вируса везикулярного  
30 стоматита (VSV).

50. Вакцина, набор или комбинация по любому из пп. 43 - 49, где  
- мультиантигенный домен пептида содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 13 или 14, или её вариант

последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, и

5 - мультиантигенный домен, закодированный в геноме вируса везикулярного стоматита (VSV) содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 19 или SEQ ID NO: 48, предпочтительно аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 19, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

10 51. Вакцина, набор или комбинация по любому из пп. 43 - 50, где

15 - пептид содержит аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 17, SEQ ID NO: 18, SEQ ID NO: 46, или SEQ ID NO: 47, предпочтительно аминокислотную последовательность согласно SEQ ID NO: 17 или 18, или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности, и

20 - вирус везикулярного стоматита (VSV) содержит геном РНК, содержащий последовательность РНК согласно SEQ ID NO: 30 или её вариант последовательности, имеющий по меньшей мере 70 % идентичности последовательности.

25 52. Вакцина, набор или комбинация по любому из пп. 43 - 51, дополнительно содержащие

(iii) ингибитор пути PD-1/PD-L1.

25 53. Вакцина, набор или комбинация по п. 52, где ингибитор пути PD-1/PD-L1 выбирают из группы, включающей в себя пембролизумаб; ниволумаб; пидилизумаб; цемиплимаб; PDR-001; атезолизумаб; авелумаб; дурвалумаб, эзабенлимаб, антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 31 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 32; антитело, содержащее тяжелую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 33 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 34; и антитело, содержащее тяжелую цепь,

30

содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 35 и легкую цепь, содержащую аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 36.

54. Композиция по любому из пунктов 1 - 5, пептид по любому из пп. 6 - 23, вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 41, вакцина по любому из пп. 42, 43 и 46 - 53, набор по любому из пп. 44 и 46 - 53 или комбинация по любому из пп. 45 - 53 для применения в медицине.

55. Композиция по любому из пунктов 1 - 5, пептид по любому из пп. 6 - 23, вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 41, вакцина по любому из пп. 42, 43 и 46 - 53, набор по любому из пп. 44 и 46 - 53, или комбинация по любому из пп. 45 - 53 для применения в лечении рака.

56. Композиция, пептид, вирус везикулярного стоматита (VSV), вакцина, набор или комбинация для применения по п. 55, где рак представляет собой рак желудочно-кишечного тракта (ЖКТ).

57. Композиция, пептид, вирус везикулярного стоматита (VSV), вакцина, набор или комбинация для применения по п. 55 или 56, где рак выбирают из группы, включающей в себя рак анального канала; рак аппендикса; холангиокарциному/рак желчных протоков, в частности, рак внепеченочных желчных протоков; карциноидную опухоль желудочно-кишечного тракта; колоректальный рак, в частности рак толстой кишки, рак прямой кишки и метастатический колоректальный рак; рак пищевода; рак желчного пузыря; рак желудка; гастроинтестинальную стромальную опухоль (GIST) и рак поджелудочной железы, такой как аденокарцинома протоков поджелудочной железы.

58. Композиция, пептид, вирус везикулярного стоматита (VSV), вакцина, набор или комбинация для применения по любому из пп. 55 - 57, где рак выбирают из группы, включающей в себя рак толстой кишки, рак прямой кишки, колоректальный рак, метастатический колоректальный рак, рак поджелудочной железы и аденокарциному протоков поджелудочной железы.

59. Пептид для применения по любому из пп. 54 - 58, где пептид вводят в сочетании с вирусом везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 41.

5 60. Вирус везикулярного стоматита (VSV) для применения по любому из пп. 54 - 58, где вирус везикулярного стоматита (VSV) вводят в сочетании с пептидом по любому из пп. 6 - 23.

10 61. Пептид для применения по п. 59 или вирус везикулярного стоматита (VSV) для применения по п. 61, где пептид и вирус везикулярного стоматита (VSV) являются такими, как определено в любом из пунктов 46 - 51.

15 62. Пептид, вирус везикулярного стоматита (VSV), вакцина, набор или комбинация для применения по любому из пп. 54 - 61, где пептид и вирус везикулярного стоматита (VSV) каждый вводят по меньшей мере один раз, предпочтительно пептид вводят до введения вируса везикулярного стоматита (VSV).

20 63. Пептид, вирус везикулярного стоматита (VSV), вакцина, набор или комбинация для применения по любому из пп. 54 - 62, где пептид вводят по меньшей мере дважды, предпочтительно до и после введения вируса везикулярного стоматита (VSV).

25 64. Пептид, вирус везикулярного стоматита (VSV), вакцина, набор или комбинация для применения по любому из пп. 54 - 63, где пептид и вирус везикулярного стоматита (VSV) вводят в порядке К-V-K, К-V-K-K, К-V-K-K-K, или К-V-K-K-K-K.

30 65. Пептид, вирус везикулярного стоматита (VSV), вакцина, набор или комбинация для применения по любому из пп. 54 - 64, где схема лечения включает в себя единственное введение вируса везикулярного стоматита (VSV).

66. Пептид, вирус везикулярного стоматита (VSV), вакцина, набор или комбинация для применения по любому из пп. 54 - 65, где пептид и вирус

везикулярного стоматита (VSV) вводят тем же самым или разным способом, предпочтительно внутривенно, подкожно или внутримышечно.

5 67. Пептид, вирус везикулярного стоматита (VSV), вакцина, набор или комбинация для применения по любому из пп. 54 - 66, где пептид вводят подкожно, а вирус везикулярного стоматита (VSV) подкожно внутривенно, или внутриопухолево, предпочтительно внутривенно.

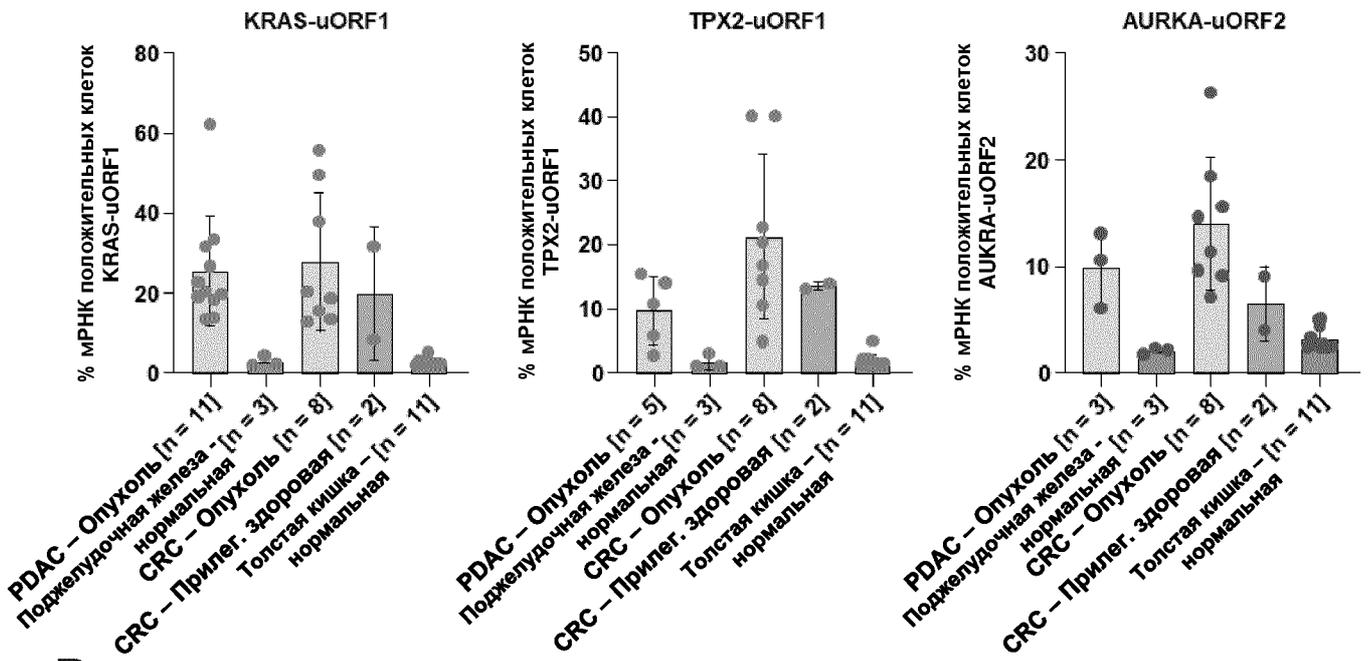
10 68. Пептид, вирус везикулярного стоматита (VSV), вакцина, набор или комбинация для применения по любому из пп. 54 - 67, дополнительно включающие в себя введение ингибитора пути PD-1/PD-L1, предпочтительно по п. 53.

15 69. Пептид, вирус везикулярного стоматита (VSV), вакцина, набор или комбинация для применения по п. 68, где ингибитор пути PD-1/PD-L1 вводят одновременно, последовательно или попеременно с пептидом или вирусом везикулярного стоматита (VSV).

20 70. Применение композиции по любому из пп. 1 - 5, пептид по любому из пп. 6 - 23, вирус везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 24 - 41, вакцина по любому из пп. 42, 43 и 46 - 53, набор по любому из пп. 44 и 46 - 53, или комбинация по любому из пп. 45 - 53 для изготовления лекарственного средства для лечения рака.

25 71. Способ облегчения, лечения или снижения (риска возникновения) рака или индукции или усиления противоопухолевого ответа, включающий в себя введение (эффективного количества) композиции по любому из пунктов 1 - 5, пептида по любому из пп. 6 - 23, вируса везикулярного стоматита (VSV) по любому из пп. 25 - 41, вакцины по любому из пп. 42, 43 и 46 - 53, набора по 30 любому из пп. 44 и 46 - 53 или комбинации по любому из пп. 45 - 53 нуждающемуся в этом субъекту.

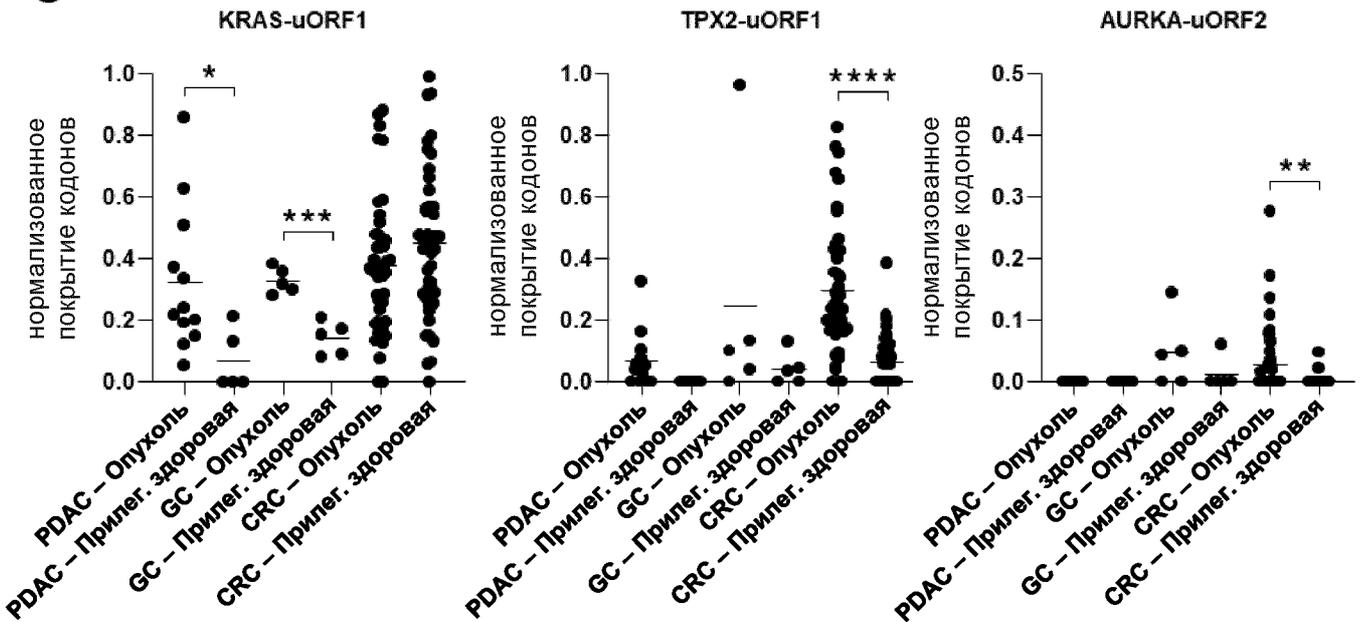
**A**



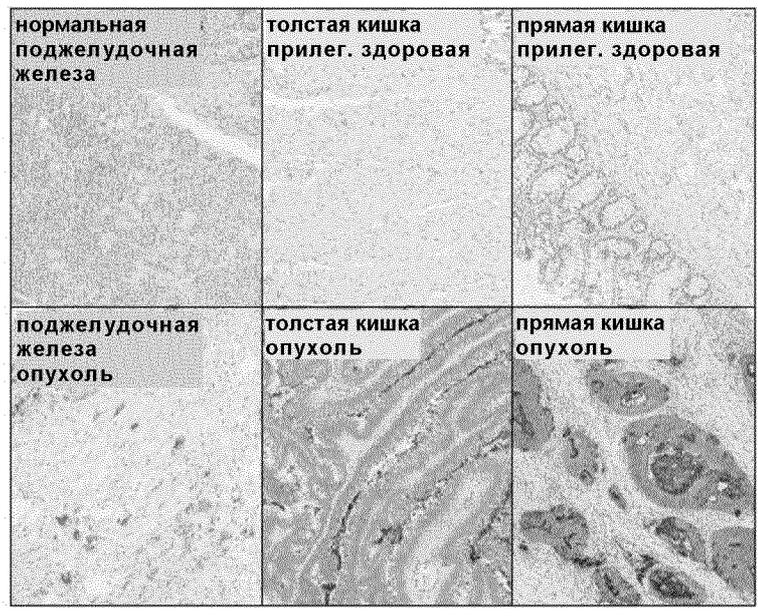
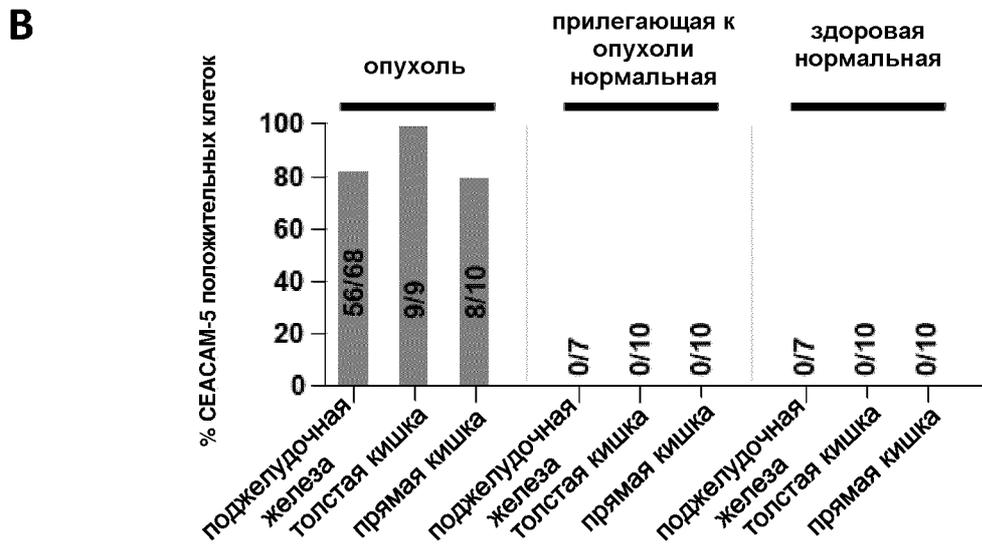
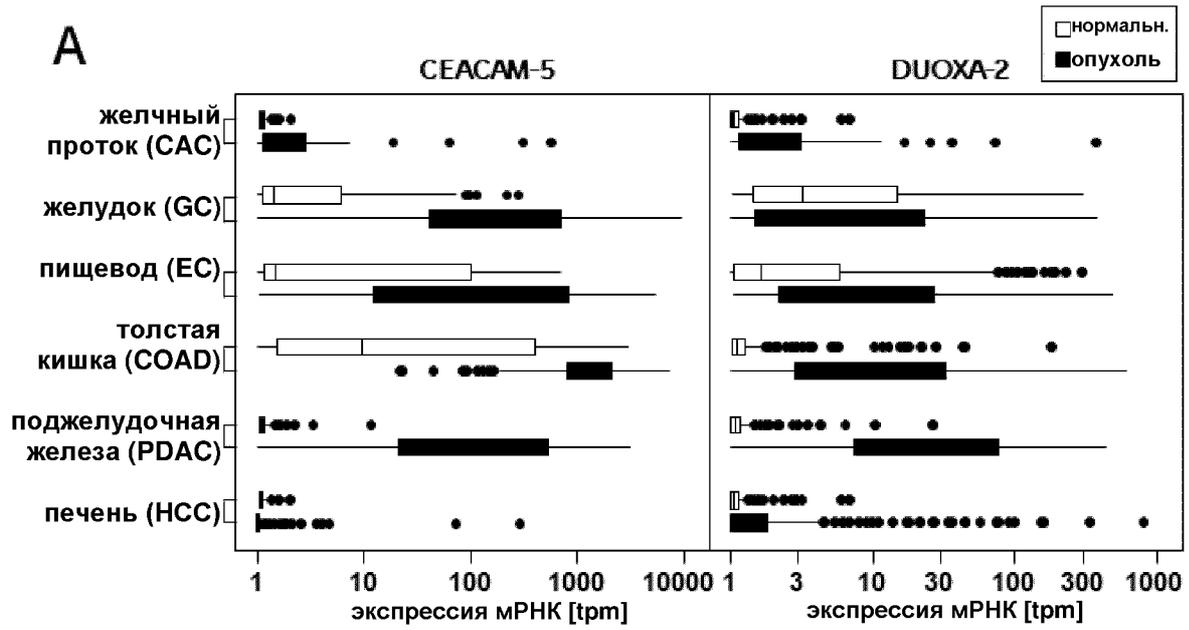
**B**



**C**

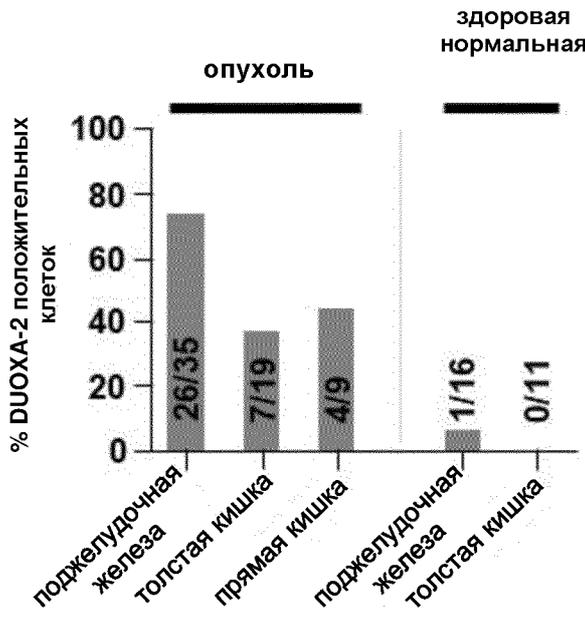


Фигура 1

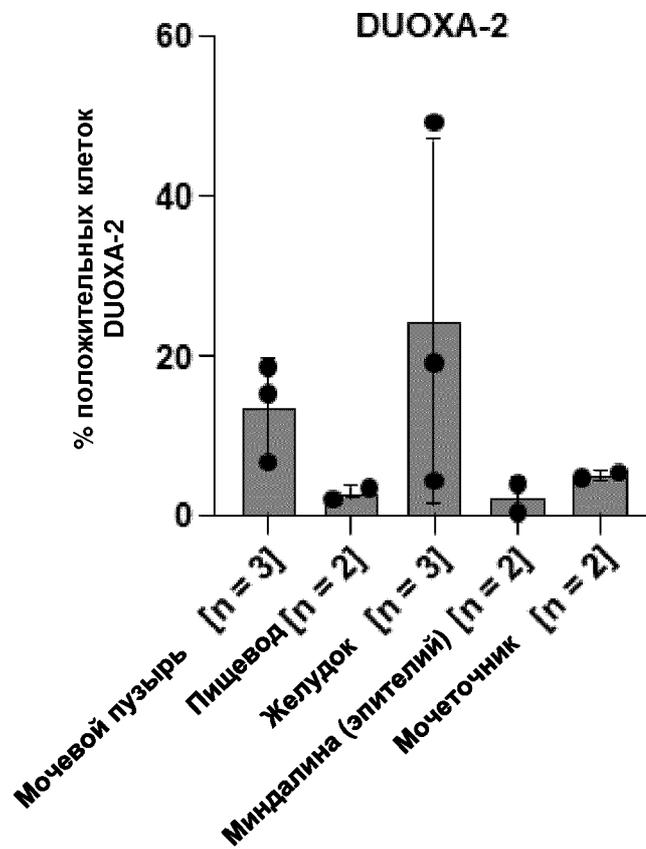


Фигура 2

C



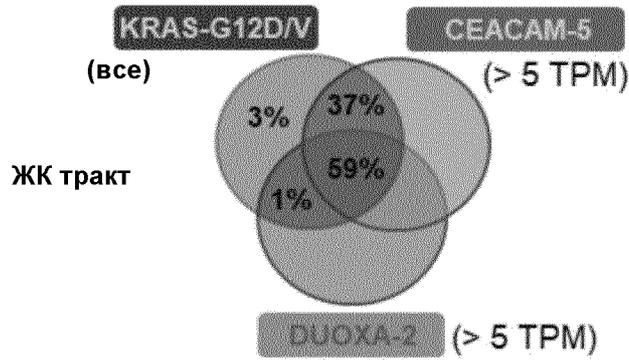
D



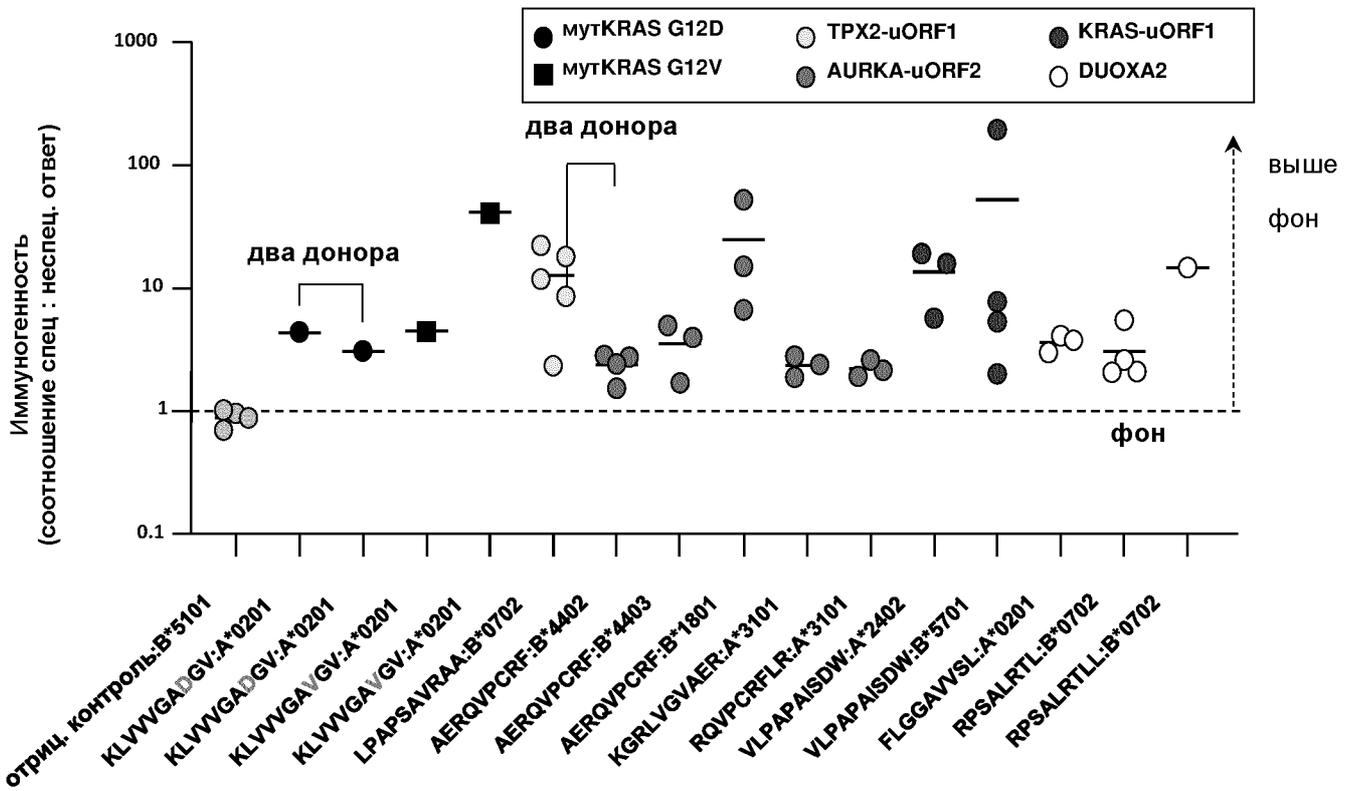
Фигура 2 (продолжение)

4/10

**A**

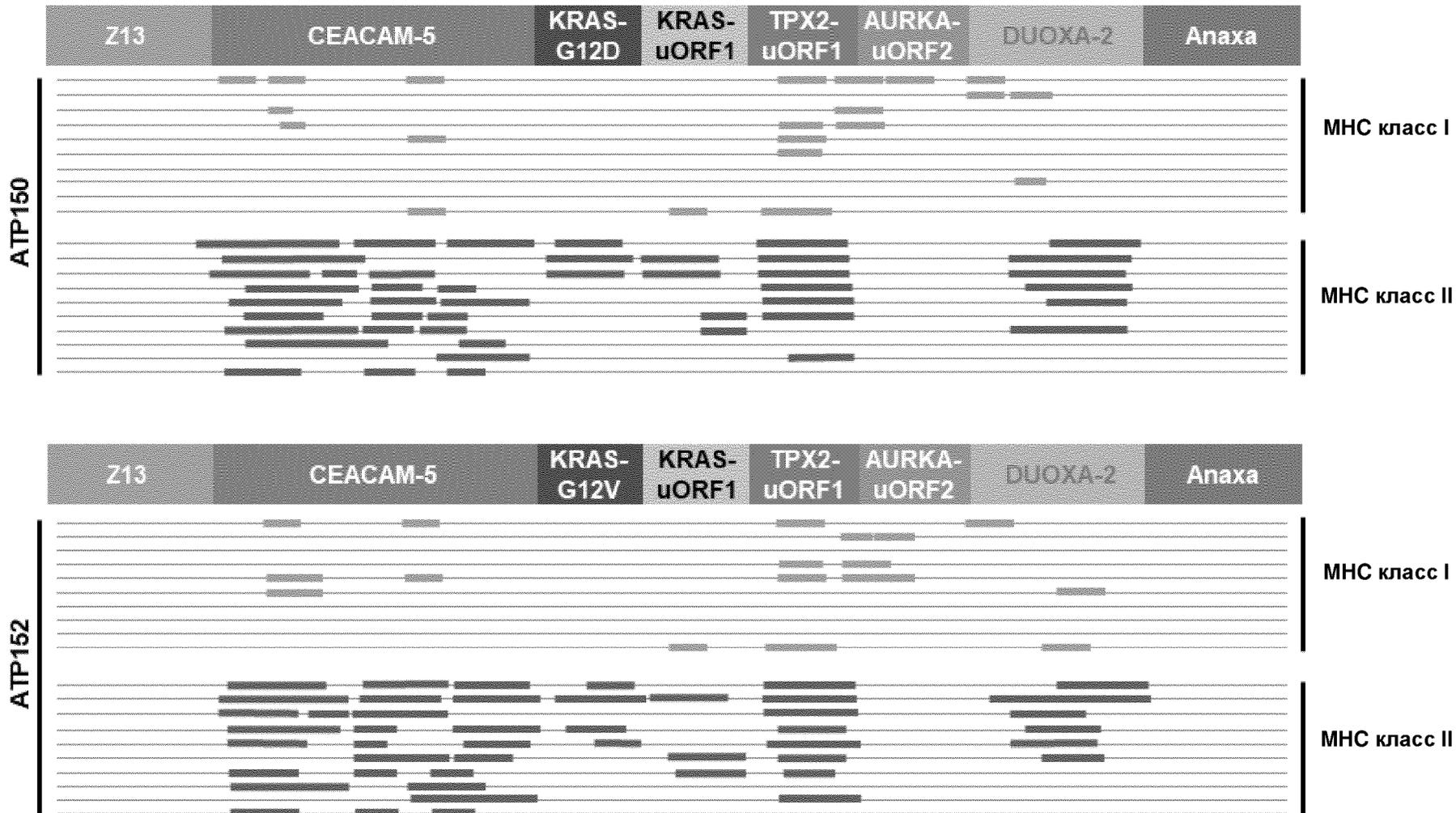


**B**

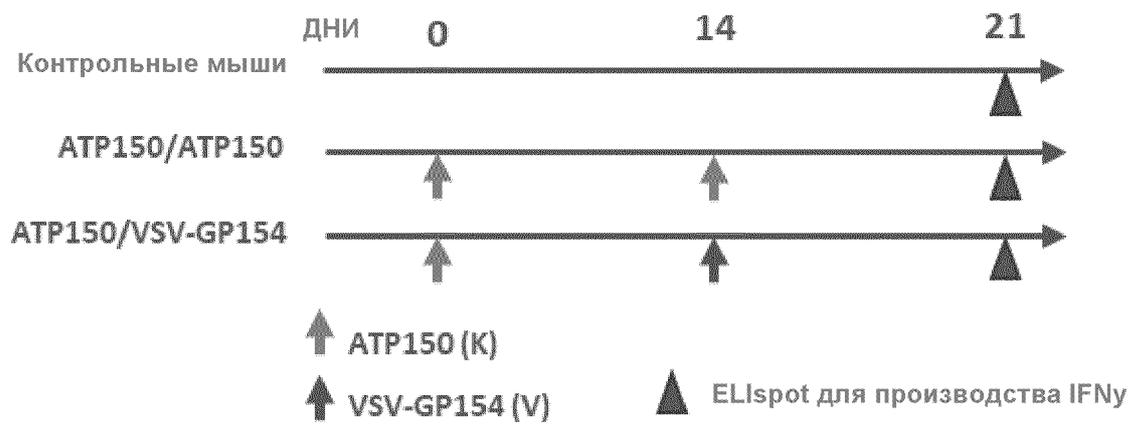


Фигура 3

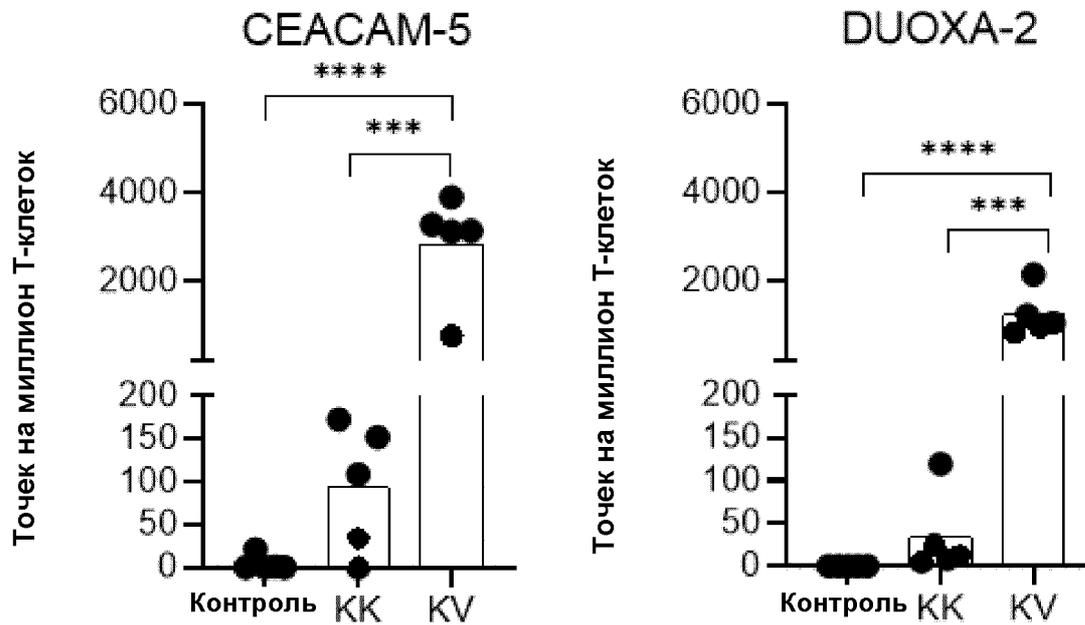
Фигура 4



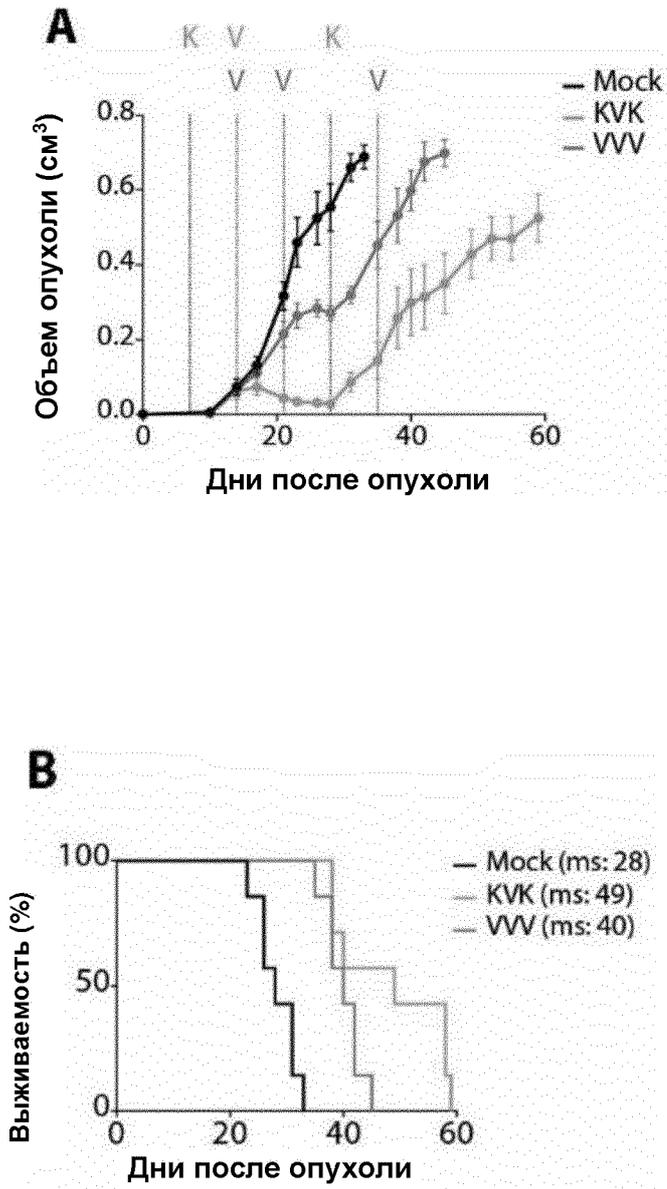
A



B

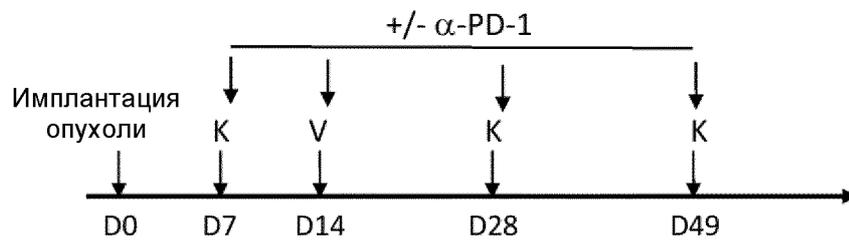


Фигура 5

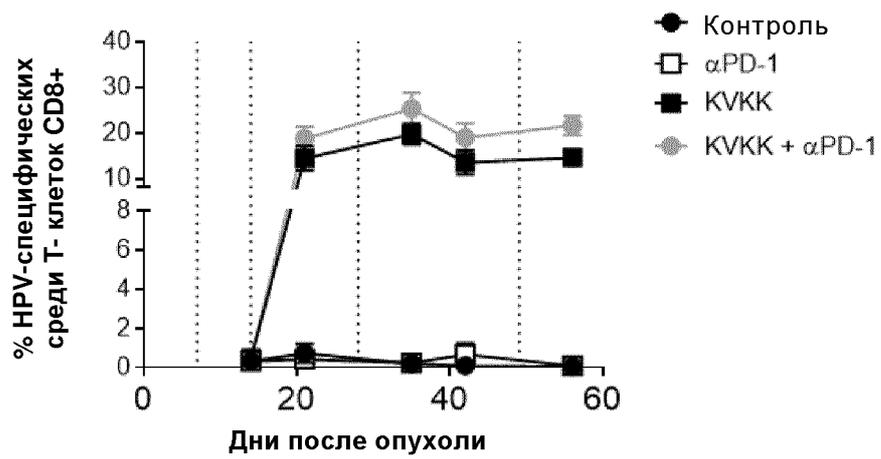


Фигура 6

A

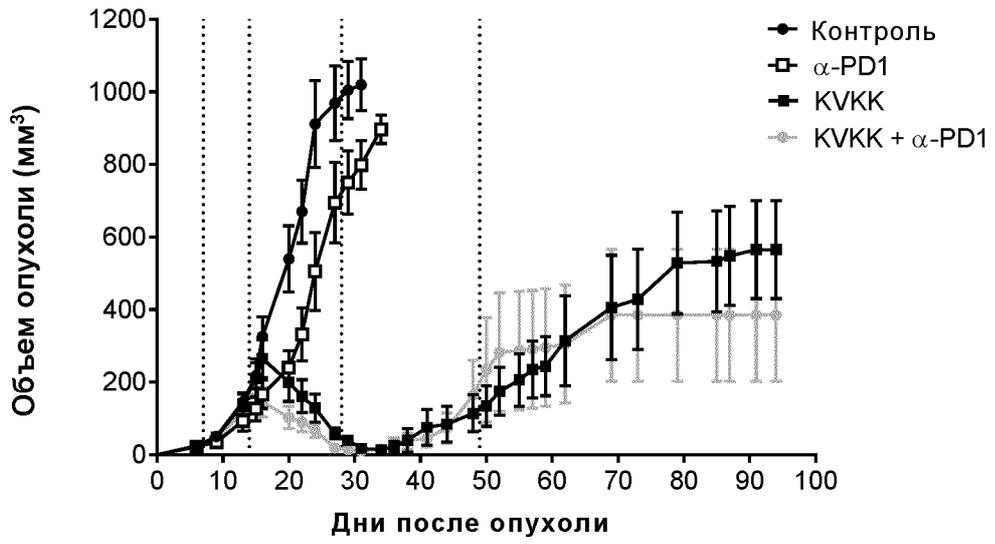


B

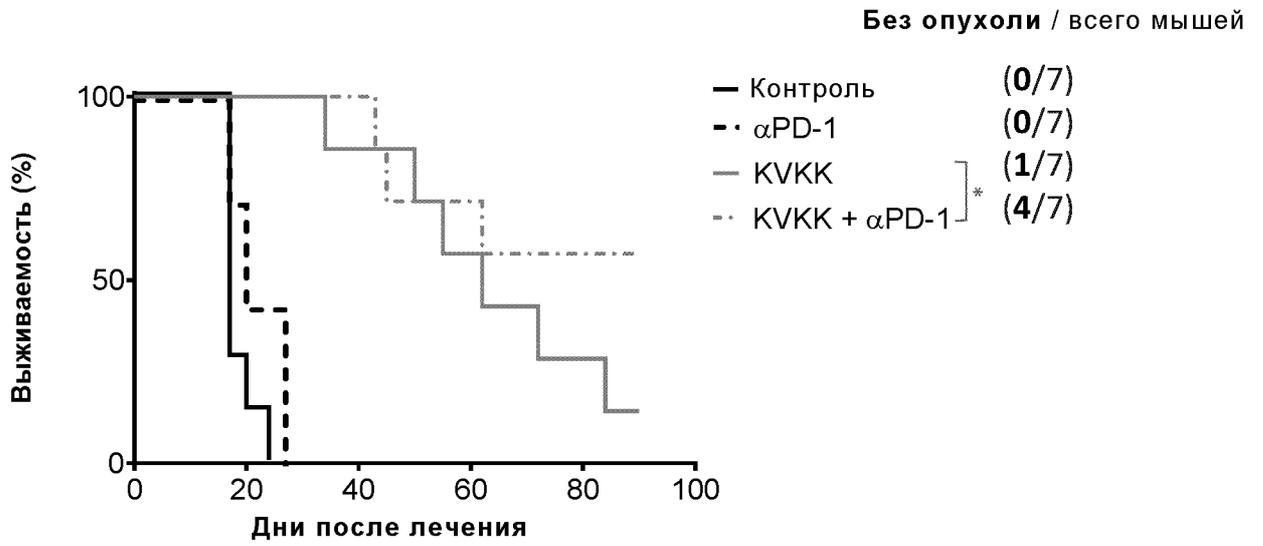


Фигура 7

**A**



**B**



**Фигура 8**

Фигура 9

