



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(51) МПК

A61K 35/76 (2015.01)

A61K 35/766 (2015.01)

A61K 39/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

C07K 14/705 (2006.01)

C12N 15/12 (2006.01)

C12N 7/01 (2006.01)

C12N 15/86 (2006.01)

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A61K 35/76 (2013.01); A61K 35/766 (2013.01); A61K 39/0011 (2013.01); C07K 14/4748 (2013.01); C12N 7/00 (2013.01); C12N 15/86 (2013.01); A61K 2039/5256 (2013.01); A61K 2039/585 (2013.01); C12N 2760/20223 (2013.01); C12N 2760/20232 (2013.01); C12N 2760/20243 (2013.01)

(21)(22) Заявка: 2015135890, 20.02.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
20.02.2014

Дата регистрации:  
04.04.2019

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
21.02.2013 US 61/767,776

(43) Дата публикации заявки: 27.03.2017 Бюл. №  
9

(45) Опубликовано: 04.04.2019 Бюл. № 10

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 21.09.2015

(86) Заявка РСТ:  
CA 2014/050118 (20.02.2014)

(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2014/127478 (28.08.2014)

Адрес для переписки:  
190000, Санкт-Петербург, ВОХ-1125,  
ПАТЕНТИКА

(72) Автор(ы):

СТОЙДЛ Дэвид Ф. (CA),  
БЕЛЛ Джон Кэмерон (CA),  
ЛИХТИ Брайан (CA),  
ПОЛ Джонатан (FR)

(73) Патентообладатель(и):

ТЁРНСТОУН ЛИМИТЕД  
ПАРТНЕРШИП (CA)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: POL J. et al. Use of oncolytic  
rhabdoviruses as potent tumour vaccine  
boosters. Cancer Immunology Therapy, 10th  
Annual Meeting. 23-25.05.2012, Abstract 145,  
P.149. WO 2010105347 A1, 23.09.2010. BRUN  
J. et al. Identification of genetically modified  
Maraba virus as an oncolytic rhabdovirus.  
Molecular Therapy. 2010, V.18, No.8, P.1440-  
1449. BRIDLE (см. прод.)

## (54) КОМПОЗИЦИЯ ВАКЦИНЫ

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии. Описано применение для лечения пациента с раком, экспрессирующим опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, выделенной вирусной частицы Maraba MG1 и первого вируса. Частица содержит нуклеиновую кислоту, которая способна экспрессировать опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3. Указанный антигенный белок содержит аминокислотную

последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO: 1, и включает по меньшей мере один опухолеассоциированный эпитоп MAGEA3, выбранный из группы, состоящей из: FLWGPRALV (SEQ ID NO: 27), KVAELVHFL (SEQ ID NO: 28), EGDCAPEEK (SEQ ID NO: 35), KKLLTQHFVQENYLEY (SEQ ID NO: 36) и RKVAELVHFLLLKYR (SEQ ID NO: 37). Антигенный белок способен индуцировать иммунный ответ у указанного пациента в

гетерологичном прайм-буст формате. Указанный первый вирус представляет собой аденовирус, содержащий нуклеиновую кислоту, способную экспрессировать опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3. Указанный антигенный белок содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO: 1, и включает по меньшей мере один опухолеассоциированный эпитоп MAGE A3, выбранный из группы, состоящей из: FLWGPRALV (SEQ ID NO: 27), KVAELVHFL (SEQ ID NO: 28), EGDCAPEEK (SEQ

ID NO: 35), KKLLTQHFVQENYLEY (SEQ ID NO: 36) и RKVAELVHFLLLKYR (SEQ ID NO: 37). Описана онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина для лечения пациента с раком и применение выделенной вирусной частицы Maraba MG1 для индукции иммунного ответа у пациента в гетерологичном прайм-буст формате для онколитической вирусной терапии. Изобретение позволяет расширить арсенал средств, используемых для онколитической вирусной терапии. 3 н. и 30 з.п. ф-лы, 9 ил., 4 табл., 10 пр.

(56) (продолжение):

**B.W. et al. Vesicular stomatitis virus as a novel cancer vaccine vector to prime antitumor immunity amenable to rapid boosting with adenovirus. Molecular Therapy. 2009, V.17, No.10, P.1814-1821. RU 2011130511 A, 27.01.2013. POL J. et al. Use of oncolytic rhabdoviruses as potent tumour vaccine boosters. Cancer Immunology Therapy, 10th Annual Meeting. 23-25.05.2012, Abstract 145, P.149. WO 2010105347 A1, 23.09.2010. BRUN J. et al. Identification of genetically modified Maraba virus as an oncolytic rhabdovirus. Molecular Therapy. 2010, V.18, No.8, P.1440-1449. BRIDLE B.W. et al. Vesicular stomatitis virus as a novel cancer vaccine vector to prime antitumor immunity amenable to rapid boosting with adenovirus. Molecular Therapy. 2009, V.17, No.10, P.1814-1821, весь документ. RU 2011130511 A, 27.01.2013.**

RU 2 6 8 4 2 1 1 C 2

RU 2 6 8 4 2 1 1 C 2



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

*A61K 35/76* (2015.01)*A61K 35/766* (2015.01)*A61K 39/00* (2006.01)*A61P 35/00* (2006.01)*C07K 14/705* (2006.01)*C12N 15/12* (2006.01)*C12N 7/01* (2006.01)*C12N 15/86* (2006.01)**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*A61K 35/76* (2013.01); *A61K 35/766* (2013.01); *A61K 39/0011* (2013.01); *C07K 14/4748* (2013.01); *C12N 7/00* (2013.01); *C12N 15/86* (2013.01); *A61K 2039/5256* (2013.01); *A61K 2039/585* (2013.01); *C12N 2760/20223* (2013.01); *C12N 2760/20232* (2013.01); *C12N 2760/20243* (2013.01)

(21)(22) Application: **2015135890, 20.02.2014**

(24) Effective date for property rights:  
**20.02.2014**

Registration date:  
**04.04.2019**

Priority:

(30) Convention priority:  
**21.02.2013 US 61/767,776**

(43) Application published: **27.03.2017** Bull. № 9(45) Date of publication: **04.04.2019** Bull. № 10(85) Commencement of national phase: **21.09.2015**

(86) PCT application:  
**CA 2014/050118 (20.02.2014)**

(87) PCT publication:  
**WO 2014/127478 (28.08.2014)**

Mail address:  
**190000, Sankt-Peterburg, VOKH-1125,  
PATENTIKA**

(72) Inventor(s):

**STOJDL Devid F. (CA),  
BELL Dzhon Kameron (CA),  
LIKHTI Brajan (CA),  
POL Dzhonatan (FR)**

(73) Proprietor(s):

**TERNSTOUN LIMITED PARTNERSHIP (CA)**

**(54) VACCINE COMPOSITION**

(57) Abstract:

FIELD: medicine; biotechnology.

SUBSTANCE: described is a method for treatment of a patient with cancer expressing a tumour-associated antigenic protein MAGEA3, an isolated Maraba MG1 virus particle and a first virus. Said particle contains nucleic acid that is capable of expressing the tumour-associated antigenic protein MAGEA3. Said antigenic protein contains an amino acid sequence that is at least 70 % identical to SEQ ID NO: 1, and includes at least one tumour-associated MAGEA3 epitope selected from the group consisting of: FLWGPRALV (SEQ ID NO: 27), KVAELVHFL (SEQ ID NO: 28), EGDCAPEEK

(SEQ ID NO: 35), KKLLTQHFVQENYLEY (SEQ ID NO: 36) and RKVAELVHFLLLKYR (SEQ ID NO: 37). Said antigen protein is able to induce an immune response in a specified patient in a heterologous prime-boost format. This first virus is an adenovirus containing nucleic acid capable of expressing the tumour-associated antigenic protein MAGEA3. Said antigenic protein contains an amino acid sequence that is at least 70 % identical to SEQ ID NO: 1, and includes at least one tumor-associated MAGEA3 epitope selected from the group consisting of: FLWGPRALV (SEQ ID NO: 27), KVAELVHFL (SEQ ID NO: 28), EGDCAPEEK

(SEQ ID NO: 35), KKLLTQHFVQENYLEY (SEQ ID NO: 36) and RKVAELVHFLLLKYR (SEQ ID NO: 37). Described is an oncolytic heterologous viral prime-boost vaccine for treating a patient with cancer and the use of an isolated viral particle Maraba MG1 for the induction of an immune response in a patient in a

heterologous prime-boost format for oncolytic viral therapy.  
EFFECT: invention allows to expand the range of agents and methods used for oncolytic viral therapy.  
33 cl, 9 dwg, 4 tbl, 10 ex

R U 2 6 8 4 2 1 1 C 2

R U 2 6 8 4 2 1 1 C 2

## ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет на основании предварительной заявки на патент США №61/767776, поданной 21 февраля 2013 года, содержание которой включено в настоящее описание посредством ссылки.

### ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[0002] Настоящее изобретение относится к онколитическим вирусам для индукции иммунного ответа.

### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[0003] Онколитические вирусы (ОВ) особым образом инфицируют, реплицируются в злокачественных клетках и уничтожают их, не поражая при этом здоровые ткани. Некоторые ОВ достигли поздних стадий клинической оценки лечения различных новообразований (Russell SJ. et al., (2012) Nat Biotechnol 30:658-670). После разрешения для применения такие вирусные агенты могли бы заменить или комбинироваться со стандартными видами терапии рака, и позволили бы снизить токсичность и повысить терапевтическую эффективность.

[0004] В дополнение к вирусу везикулярного стоматита (VSV) (Stojdl DF. et al., (2000) Nat Med 6:821-825; Stojdl DF. et al., (2003) Cancer Cell 4:263-275) недавно были описаны другие рабдовирусы, демонстрирующие онколитическую активность (Brun J. et al., (2010) Mol Ther 18:1440-1449; Mahoney DJ. et al., (2011) Cancer Cell 20:443-456). Среди них вирус Maraba, не представляющий собой VSV, демонстрировал широчайший онкотропизм in vitro (WO 2009/016433). Был сконструирован мутантный вирус Maraba с повышенной селективностью в отношении опухоли и сниженной вирулентностью в здоровых клетках. Указанный ослабленный штамм представляет собой двойной мутантный штамм, содержащий мутации как G-белка (Q242R), так и М-белка (L123W). In vivo данный ослабленный штамм, называемый MG1 или Maraba MG1, демонстрировал сильную противоопухолевую активность в ксенотрансплантатных и сингенных моделях опухолей у мышей с большей терапевтической эффективностью, чем ослабленный VSV, VSVΔM51 (WO 2011/070440).

[0005] Данные, накопленные за последние несколько лет, показали, что противоопухолевая эффективность онколитических вирусов зависит не только от их прямого онколизиса, но может также зависеть от их способности стимулировать противоопухолевый иммунитет (Bridle BW. et al., (2010) Mol Ther 18:4269-4275). Данный иммуноопосредуемый контроль опухоли, по-видимому, играет критическую роль в общей эффективности терапии ОВ. Действительно, клетки опухолеспецифического адаптивного иммунного ответа могут «патрулировать» ткани и разрушать клетки опухоли, которые были пропущены ОВ. Более того, их компартмент иммунологической памяти может предотвращать рецидив опухоли.

[0006] Были разработаны различные стратегии для повышения ОВ-индуцируемого противоопухолевого иммунитета (Pol J. et al., (2012) Virus Adaptation and Treatment 4:1-21). Несколькими группами исследователей методами генной инженерии был получен ОВ, экспрессирующий иммуностимулирующие цитокины. Вирус простого герпеса и вирус коровьей оспы, экспрессирующие гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF), достигли соответственно III и IV фазы клинической оценки терапии рака, тогда как VSV, экспрессирующий IFN-β, только вступил в I фазу.

[0007] Другая стратегия, определяемая как онколитическая вакцина, состоит из экспрессии опухолевого антигена из ОВ (Russell SJ. et al., (2012) Nat Biotechnol 30:658-670). Ранее было показано, что VSV можно также применять в качестве

противоракового вакцинного вектора (Bridle BW. et al., (2010) Mol Ther 184:4269-4275). При применении в условиях гетерологичной вакцинации прайм-буст (prime-boost) для лечения модели меланомы у мышей, онколитическая вакцина на основе допахромтаутомеразы VSV человека (hDCT) индуцировала не только повышенный  
 5 опухолеспецифический иммунитет к DCT, но также сопутствующее снижение противовирусного адаптивного иммунитета. В результате терапевтическая эффективность значительно повышалась с увеличением как средней, так и длительной выживаемости (WO 2010/105347). Хотя было показано, что VSV является эффективным при использовании hDCT в качестве опухолеассоциированного антигена, нет способа  
 10 предсказать, какие опухолеассоциированные антигены будут эффективными в условиях гетерологичной вакцинации прайм-буст.

[0008] Желательным является получение вакцинного вектора, который можно применять для активации иммунной системы пациента для уничтожения клеток опухоли с пониженной токсичностью для здоровых тканей, например, путем активации антител  
 15 и/или лимфоцитов против опухолеассоциированного антигена на опухоли. Желательно, чтобы такой вакцинный вектор демонстрировал как онколитическую активность, так и способность повышать адаптивный клеточный иммунитет.

### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0009] Следующее краткое описание предназначено для ознакомления читателя с  
 20 одним или более изобретениями, описанными в настоящем документе, но не для определения какого-либо из них.

[0010] Задачей настоящего изобретения является устранение или ограничение по меньшей мере одного из недостатков предыдущих противораковых вакцин.

[0011] Авторы настоящего изобретения неожиданно установили, что MAGEA3,  
 25 гибридный белок Е6/Е7 вируса папилломы человека, белок, представляющий собой шести-трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы человека, и раково-тестикулярный антиген 1 можно применять в условиях гетерологичной вакцинации прайм-буст для индукции иммунного ответа у млекопитающего. Данные результаты являются неожиданными и непрогнозируемыми, поскольку не все  
 30 опухолеассоциированные антигены способны индуцировать иммунный ответ посредством гетерологичной вакцинации прайм-буст. Например, авторы настоящего изобретения также установили, что плацентарный белок 1 (PLAC-1) и ядерный антиген 1 вируса Эпштейна-Барр неспособны стимулировать иммунный ответ посредством гетерологичной вакцинации прайм-буст.

[0012] В соответствии с первым аспектом предложен набор для применения для индукции иммунного ответа у млекопитающего. Указанный набор содержит: первый вирус, который экспрессирует белок, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, или его вариант в качестве антигенного белка, и который включен в состав для выработки иммунитета к указанному белку или его варианту у  
 40 млекопитающего. Набор также содержит вирус Maraba MG1, кодирующий белок, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, или его вариант в качестве антигенного белка, при этом указанный вирус Maraba MG1 включен в состав для индукции иммунного ответа у млекопитающего; при этом первый вирус иммунологически отличается от вируса Maraba MG1. Антигенный белок,  
 45 экспрессируемый первым вирусом, и антигенный белок, экспрессируемый вирусом Maraba MG1, могут быть идентичными.

[0013] Первый вирус, вирус Maraba MG1 или оба вируса могут быть представлены в форме для введения в виде выделенных вирусов.

[0014] Вирус Maraba MG1 может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию транскена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 2. Вирус Maraba MG1 может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию кодон-оптимизированного транскена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO:3.

[0015] Первый вирус может содержать транскен, содержащий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 2 или 3, или может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию транскена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 2 или 3, в зависимости от того, является первый вирус вирусом, содержащим плюс-смысловую РНК, ДНК-вирусом или вирусом, содержащим минус-смысловую РНК.

[0016] Указанные два вируса могут быть способны экспрессировать разные варианты белка, содержащего последовательность SEQ ID NO: 1. Вариант белка, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, который экспрессируется первым вирусом, вирусом Maraba MG1 или обоими вирусами, может содержать по меньшей мере один опухолеассоциированный эпитоп, выбранный из группы, состоящей из: FLWGPRALV, KVAELVHFL, EGDCAPEEK, KKLLTQHFVQENYLEY, RKVAELVHFLLLKYR и KKLLTQHFVQENYLEY, и быть по меньшей мере на 70% идентичным последовательности SEQ ID NO: 1. Предпочтительно, указанный вариант будет по меньшей мере на 80% идентичен последовательности SEQ ID NO: 1. Более предпочтительно, указанный вариант будет по меньшей мере на 90% идентичен последовательности SEQ ID NO: 1. Еще более предпочтительно, указанный вариант будет по меньшей мере на 95% идентичен последовательности SEQ ID NO: 1.

[0017] Вариант белка, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, который экспрессируется первым вирусом, вирусом Maraba MG1 или обоими вирусами, может содержать аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4. Нуклеотидная последовательность, которая кодирует указанный вариант, может включать нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 5.

[0018] Вирус Maraba MG1 может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 5. Первый вирус может содержать транскен, содержащий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 5, или может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию транскена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 5, в зависимости от того, является первый вирус вирусом, содержащим плюс-смысловую РНК, ДНК-вирусом или вирусом, содержащим минус-смысловую РНК.

[0019] Если первый вирус представляет собой вирус, содержащий минус-смысловую РНК, один из: либо вирус Maraba MG1, либо первый вирус может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2 или 3, а другой из вируса Maraba MG1 и первого вируса может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию последовательности SEQ ID NO: 5.

[0020] Если первый вирус представляет собой вирус, содержащий плюс-смысловую РНК, или ДНК-вирус, вирус Maraba MG1 может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2 или 3, а первый вирус может содержать нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 5. В качестве альтернативы, вирус Maraba MG1 может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 5, а первый вирус может содержать нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 2 или 3.

[0021] Один из: либо вирус Maraba MG1, либо первый вирус может быть способен

экспрессировать белок, который содержит последовательность SEQ ID NO: 1 или 4, а другой из вируса Maraba MG1 и первого вируса может быть способен экспрессировать белок, который содержит другую последовательность.

[0022] Первый вирус может представлять собой аденовирус.

5 [0023] В соответствии с другим аспектом предложена выделенная вирусная частица Maraba MG1, содержащая геном, который кодирует белок, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, или его вариант.

[0024] Вариант белка, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1, может иметь аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4.

10 [0025] Геном может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2 или 3.

[0026] Геном может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 5.

15 [0027] Геном может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 6.

[0028] В соответствии с другим аспектом предложен набор для применения для индукции иммунного ответа у млекопитающего. Указанный набор содержит: первый вирус, который экспрессирует белок, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, или его вариант в качестве антигенного белка, и который включен в  
20 состав для выработки иммунитета к указанному белку или его варианту у млекопитающего. Набор также содержит вирус Maraba MG1, кодирующий белок, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, или его вариант в качестве антигенного белка, при этом указанный вирус Maraba MG1 включен в состав для индукции иммунного ответа у млекопитающего; при этом первый вирус  
25 иммунологически отличается от вируса Maraba MG1. Антигенный белок, экспрессируемый первым вирусом, и антигенный белок, экспрессируемый вирусом Maraba MG1, могут быть идентичными.

[0029] Первый вирус, вирус Maraba MG1 или оба вируса могут быть представлены в форме для введения в виде выделенных вирусов.

30 [0030] Если первый вирус представляет собой вирус, содержащий минус-смысловую РНК, вирус Maraba MG1, первый вирус или оба вируса могут содержать обратно-комплементарную и РНК-версию кодон-оптимизированного трансгена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 8. Если первый вирус представляет собой ДНК-вирус или вирус, содержащий плюс-смысловую РНК, первый вирус может  
35 содержать кодон-оптимизированный трансген, содержащий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 8.

[0031] Вариант белка, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, который экспрессируется первым вирусом, вирусом Maraba MG1 или обоими вирусами, может содержать по меньшей мере один опухолеассоциированный эпитоп  
40 и быть по меньшей мере на 70% идентичным последовательности SEQ ID NO: 7. Предпочтительно, указанный вариант будет по меньшей мере на 80% идентичен последовательности SEQ ID NO: 7. Более предпочтительно, указанный вариант будет по меньшей мере на 90% идентичен последовательности SEQ ID NO: 7. Еще более предпочтительно, указанный вариант будет по меньшей мере на 95% идентичен  
45 последовательности SEQ ID NO: 7.

[0032] Один из: либо вирус Maraba MG1, либо первый вирус может быть способен экспрессировать белок, который содержит последовательность SEQ ID NO: 7, а другой из вируса Maraba MG1 и первого вируса может быть способен экспрессировать вариант



белка, который содержит последовательность SEQ ID NO: 7. Указанные два вируса могут быть способны экспрессировать разные варианты белка, который содержит последовательность SEQ ID NO: 7.

[0033] Первый вирус может представлять собой лентивирус.

5 [0034] В соответствии с другим аспектом предложена выделенная вирусная частица Maraba MG1, содержащая геном, который кодирует белок, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7, или его вариант.

[0035] Геном может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 8.

10 [0036] Геном может содержать нуклеотидную последовательность, которая представляет собой обратно-комплементарную и РНК-версию SEQ ID NO: 9.

[0037] В соответствии с другим аспектом предложен набор для применения для индукции иммунного ответа у млекопитающего. Указанный набор содержит: первый вирус, который экспрессирует белок, содержащий аминокислотную последовательность  
15 SEQ ID NO: 10, или его вариант в качестве антигенного белка, и который включен в состав для выработки иммунитета к указанному белку или его варианту у млекопитающего. Набор также содержит вирус Maraba MG1, кодирующий белок, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, или его вариант в качестве антигенного белка, при этом указанный вирус Maraba MG1 включен в состав  
20 для индукции иммунного ответа у млекопитающего; при этом первый вирус иммунологически отличается от вируса Maraba MG1. Антигенный белок, экспрессируемый первым вирусом, и антигенный белок, экспрессируемый вирусом Maraba MG1, могут быть идентичными.

[0038] Первый вирус, вирус Maraba MG1 или оба вируса могут быть представлены в  
25 форме для введения в виде выделенных вирусов.

[0039] Если первый вирус представляет собой вирус, содержащий минус-смысловую РНК, вирус Maraba MG1, первый вирус или оба вируса могут содержать обратно-комплементарную и РНК-версию кодон-оптимизированного трансгена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 11. Если первый вирус представляет  
30 собой ДНК-вирус или вирус, содержащий плюс-смысловую РНК, первый вирус может содержать кодон-оптимизированный трансген, содержащий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 11.

[0040] Вариант белка, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, который экспрессируется первым вирусом, вирусом Maraba MG1 или обоими  
35 вирусами, может содержать по меньшей мере один опухолеассоциированный эпитоп и быть по меньшей мере на 70% идентичным последовательности SEQ ID NO: 10. Предпочтительно, указанный вариант будет по меньшей мере на 80% идентичен последовательности SEQ ID NO: 10. Более предпочтительно, указанный вариант будет по меньшей мере на 90% идентичен последовательности SEQ ID NO: 10. Еще более  
40 предпочтительно, указанный вариант будет по меньшей мере на 95% идентичен последовательности SEQ ID NO: 10.

[0041] Один из: либо вирус Maraba MG1, либо первый вирус может быть способен экспрессировать белок, который содержит последовательность SEQ ID NO: 10, а другой из вируса Maraba MG1 и первого вируса может быть способен экспрессировать вариант  
45 белка, который содержит последовательность SEQ ID NO: 10. Указанные два вируса могут быть способны экспрессировать разные варианты белка, который содержит последовательность SEQ ID NO: 10.

[0042] Первый вирус может представлять собой лентивирус.

[0043] В соответствии с другим аспектом предложена выделенная вирусная частица Maraba MG1, содержащая геном, который кодирует белок, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10, или его вариант.

[0044] Геном может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 11.

[0045] Геном может содержать нуклеотидную последовательность, которая представляет собой обратно-комплементарную и РНК-версию SEQ ID NO: 12.

[0046] В соответствии с другим аспектом предложен набор для применения для индукции иммунного ответа у млекопитающего. Указанный набор содержит: первый вирус, который экспрессирует белок, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, или его вариант в качестве антигенного белка, и который включен в состав для выработки иммунитета к указанному белку или его варианту у млекопитающего. Набор также содержит вирус Maraba MG1, кодирующий белок, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, или его вариант в качестве антигенного белка, при этом указанный вирус Maraba MG1 включен в состав для индукции иммунного ответа у млекопитающего; при этом первый вирус иммунологически отличается от вируса Maraba MG1. Антигенный белок, экспрессируемый первым вирусом, и антигенный белок, экспрессируемый вирусом Maraba MG1, могут быть идентичными.

[0047] Первый вирус, вирус Maraba MG1 или оба вируса могут быть представлены в форме для введения в виде выделенных вирусов.

[0048] Если первый вирус представляет собой вирус, содержащий минус-смысловую РНК, вирус Maraba MG1, первый вирус или оба вируса могут содержать обратно-комплементарную и РНК-версию кодон-оптимизированного трансгена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 14. Если первый вирус представляет собой ДНК-вирус или вирус, содержащий плюс-смысловую РНК, первый вирус может содержать кодон-оптимизированный трансген, содержащий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 14.

[0049] Вариант белка, содержащего аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, который экспрессируется первым вирусом, вирусом Maraba MG1 или обоими вирусами, может содержать по меньшей мере один опухолеассоциированный эпитоп и быть по меньшей мере на 70% идентичным последовательности SEQ ID NO: 13. Предпочтительно, указанный вариант будет по меньшей мере на 80% идентичен последовательности SEQ ID NO: 13. Более предпочтительно, указанный вариант будет по меньшей мере на 90% идентичен последовательности SEQ ID NO: 13. Еще более предпочтительно, указанный вариант будет по меньшей мере на 95% идентичен последовательности SEQ ID NO: 13.

[0050] Один из: либо вирус Maraba MG1, либо первый вирус может быть способен экспрессировать белок, который содержит последовательность SEQ ID NO: 13, а другой из вируса Maraba MG1 и первого вируса может быть способен экспрессировать вариант белка, который содержит последовательность SEQ ID NO: 13. Указанные два вируса могут быть способны экспрессировать разные варианты белка, который содержит последовательность SEQ ID NO: 13.

[0051] Первый вирус может представлять собой лентивирус.

[0052] В соответствии с другим аспектом предложена выделенная вирусная частица Maraba MG1, содержащая геном, который кодирует белок, содержащий аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13, или его вариант.

[0053] Геном может включать обратно-комплементарную и РНК-версию

нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 14.

[0054] Геном может включать нуклеотидную последовательность, которая представляет собой обратнo-комплементарную и РНК-версию SEQ ID NO: 15.

[0055] Другие аспекты и признаки настоящего изобретения станут очевидными для специалиста в данной области техники после рассмотрения следующего описания конкретных вариантов реализации в сочетании с прилагаемыми фигурами.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

[0056] Варианты реализации настоящего изобретения далее будут описаны со ссылкой на прилагаемые фигуры и только в качестве примера.

[0057] На фиг. 1А показаны ответы  $CD8^{+}$  или  $CD4^{+}$  Т-клеток у мышей, являющихся носителями опухолей, которым вводили MG1-hDCT.

[0058] На фиг. 1В показана терапевтическая эффективность MG1-hDCT, вводимого в качестве только примирующего вектора в модели метастатического рака легкого у мышей.

[0059] На фиг. 2 показано сравнение иммунного ответа в результате вакцинации прайм-буст у мышей C57/B16 с использованием Ad-hDCT в качестве примирующего вектора и либо Maraba MG1-hDCT, либо VSV-hDCT в качестве бустер-вектора.

[0060] На фиг. 3 показан ответ Т-клеток в модели метастатического рака легкого у мышей после введения только Ad-empty или Ad-hDCT в качестве примирующего вектора или после вакцинации прайм-буст с использованием Ad-hDCT в качестве примирующего вектора и либо Maraba MG1 GFP, либо Maraba MG1-hDCT в качестве бустер-вектора.

[0061] На фиг. 4 показан график выживаемости в модели метастатического рака легкого у мышей после введения только Ad-empty или Ad-hDCT в качестве примирующего вектора или после вакцинации прайм-буст с использованием Ad-hDCT в качестве примирующего вектора и либо Maraba MG1 GFP, либо Maraba MG1-hDCT в качестве бустер-вектора.

[0062] На фиг. 5 показан график выживаемости в модели метастатического рака головного мозга у мышей после введения только Ad-empty или Ad-hDCT в качестве примирующего вектора или после вакцинации прайм-буст с использованием Ad-hDCT в качестве примирующего вектора и Maraba MG1-hDCT в качестве бустер-вектора.

[0063] Фиг. 6 представляет собой схему стратегии с примирующим вектором Ad-MAGEA3, бустер-вектором Maraba MG1-MAGEA3 и стратегии прайм-буст, используемой в исследовании токсичности/иммуногенности у приматов.

[0064] На фиг. 7 показан усредненный ответ Т-клеток у приматов, которым вводили Ad-MAGEA3 в качестве примирующего вектора и высокую или низкую дозу MG1-MAGEA3 в качестве бустер-вектора. Ответы Т-клеток определяли через 5, 13 и 84 дня после введения бустер-вектора.

[0065] На фиг. 8 показаны ответы Т-клеток у отдельных приматов, которым вводили Ad-MAGEA3 в качестве примирующего вектора и MG1-MAGEA3 в качестве бустер-вектора, через 5 дней после введения бустер-вектора. Ответы Т-клеток стратифицировали относительно пептидного пула MAGEA3, используемого для стимуляции ответа.

[0066] На фиг. 9 показан график выживаемости в модели метастатического рака легкого у мышей после введения Ad-hDCT относительно Ad-hDCT плюс циклофосфамид в качестве только примирующего вектора или после вакцинации прайм-буст с использованием Ad-hDCT относительно Ad-hDCT плюс циклофосфамид в качестве примирующего вектора и VSV-hDCT в качестве бустер-вектора.

#### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0067] Согласно настоящему изобретению предложен набор для применения для

индукции иммунного ответа у млекопитающего. Указанный набор содержит первый вирус, который экспрессирует MAGEA3, гибридный белок E6/E7 вируса папилломы человека, белок, представляющий собой шести-трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы человека, или раково-тестикулярный антиген 1, или его вариант в качестве антигена и который включен в состав для выработки иммунитета к указанному антигену у млекопитающего. Набор также содержит вирус Maraba MG1, кодирующий такой же антиген или вариант такого же антигена, при этом указанный вирус Maraba MG1 включен в состав для индукции иммунного ответа у млекопитающего. Первый вирус иммунологически отличается от вируса Maraba MG1, так что он может выступать в качестве «примирующего вируса» при гетерологичной вакцинации прайм-буст.

[0068] Иммунизацию прайм:буст можно осуществлять с помощью несовпадающих способов доставки вакцины при использовании одного и того же антигена, в «гетерологичном» формате прайм-буст; или с помощью совпадающих способов доставки вакцины, в «гомологичном» формате прайм-буст. Гетерологичные способы прайм-буст являются предпочтительными при использовании платформ на основе векторных вакцин, поскольку гомологичная вакцинация приведет к бустированию ответов как на вектор, так и на трансген во вторичном ответе. Гетерологичная система, напротив, фокусирует вторичный ответ (т.е. бустированный ответ) на антигене, поскольку ответы на первый и второй вектор являются первичными ответами и, следовательно, гораздо менее устойчивыми.

[0069] В настоящем изобретении первый вирус и вирус Maraba MG1 применяют в гетерологичном формате прайм-буст.

[0070] Антигенные белки, перечисленные выше, представляют собой аутоантигены, уже толеризованные иммунной системой в результате жестко контролируемого процесса негативной селекции в тимусе (Kruisbeek AM and Amsen D, (1996) *Curr Opin Immunol* 8: 233-244; Stockinger B (1999) *Adv Immunol* 71:229-265) или периферической толеризации. Главной задачей в случае разработки вакцин для данных антигенных белков и любых других аутоантигенов является индукция сильного иммунного ответа, направленного селективно на раковые клетки. Хотя был обнаружен ряд опухолеассоциированных антигенных пептидов, авторы настоящего изобретения установили, что невозможно предсказать какие опухолеассоциированные антигенные пептиды можно успешно применять для разработки вакцин.

[0071] Антиген меланомы, семейство A,3 (MAGEA3) представляет собой «раково-тестикулярный антиген». MAGE-семейство генов, кодирующих опухолеспецифические антигены, рассмотрено в De Plaen et al., *Immunogenetics* 40:360-369 (1994), MAGEA3 экспрессируется в широком спектре опухолей, включая меланому, опухоль толстой и прямой кишки, и легкого. Авторы настоящего изобретения использовали данный белок в качестве антигенного белка как в первом вирусе, так и в вирусе Maraba MG1. Авторы настоящего изобретения также использовали вариант белка MAGEA3 в качестве антигенного белка как в первом вирусе, так и в вирусе Maraba MG1.

[0072] Онкобелки E6/E7 вируса папилломы человека (HPV) конструктивно экспрессируются при раке шейки матки (Zur Hausen, H (1996) *Biochem Biophys Acta* 1288: F55-F78). Кроме того, 16 и 18 типы HPV являются причиной 75% случаев рака шейки матки (Walboomers JM (1999) *J Pathol* 189:12-19). Авторы настоящего изобретения использовали гибридный белок онкобелков E6/E7 HPV 16 и 18 типов в качестве антигенного белка. Указанный гибридный белок экспрессировали с использованием нуклеотидной последовательности, коэкспрессирующей E6/E7 HPV 16/18 типа в виде

гибридного белка, который подвергали мутациям с устранением онкогенного потенциала. Авторы настоящего изобретения использовали указанный гибридный белок в качестве антигенного белка как в первом вирусе, так и в вирусе Maraba MG1.

[0073] Шести-трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы (huSTEAP) представляет собой недавно идентифицированный белок, который, как было показано, сверхэкспрессируется при раке предстательной железы и подвергается повышающей регуляции в нескольких линиях раковых клеток, включая рак поджелудочной железы, толстой кишки, молочной железы, яичка, шейки матки, мочевого пузыря, яичников, острый лимфоцитарный лейкоз и саркому Юинга (Hubert RS et al., (1999) Proc Natl Acad Sci 96:14523-14528). Ген STEAP кодирует белок с шестью потенциальными трансмембранными областями, фланкированными гидрофильными амино- и карбоксиконцевыми доменами. Авторы настоящего изобретения использовали данный белок в качестве антигенного белка как в первом вирусе, так и в вирусе Maraba MG1.

[0074] Раково-тестикулярный антиген 1 (NYESO1) представляет собой раково-тестикулярный антиген, экспрессируемый в здоровых тканях взрослого, таких как яичко и яичник, и при различных видах рака (Nicholaou T et al., (2006) Immunol Cell Biol 84:303-317). Раково-тестикулярные антигены представляют собой уникальное семейство антигенов, которые демонстрируют экспрессию, ограниченную половыми клетками яичка у здорового взрослого, но аномально экспрессируются в различных солидных опухолях, включая саркомы мягких тканей, меланому и эпителиальные раковые опухоли. Авторы настоящего изобретения использовали данный белок в качестве антигенного белка как в первом вирусе, так и в вирусе Maraba MG1.

[0075] В отличие от успешного применения MAGEA3, гибрида E6/E7 HPV, белков huSTEAP и NYESO1 в качестве антигенных белков в гетерологичной вакцине прайм-буст, авторы настоящего изобретения установили, что ядерный антиген 1 вируса Эпштейна-Барр (EBDNA1, SEQ ID NO: 16, кодируемый последовательностью SEQ ID NO: 17) не мог вызывать подобный иммунный ответ. EBDNA1 представляет собой многофункциональный вирусный белок, ассоциированный с вирусом Эпштейна-Барр (EBV) (Sibille H et al., (2003) Proc Natl Acad Sci 100:10989-10994), и согласованно экспрессируется в EBV-ассоциированных опухолях (Young LS et al., (2004) Nature Reviews - Cancer 4:757-768). EBNA1 содержит последовательность повторов глицин-аланин, которая разделяет белок на амино- и карбоксиконцевые домены (Young LS (2004) Nature Reviews - Cancer 4:757-768). Данная последовательность также, по-видимому, стабилизирует белок, предотвращая протеасомный распад, а также нарушая процессирование антигена и рестриктивное представление антигена. Это, таким образом, ингибирует CD8-рестриктивный ответ цитотоксических Т-клеток, направленный против клеток, инфицированных вирусом (Levitskaya J et al., (1995) Nature 375:685-688).

[0076] Плацентарный белок 1 (PLAC-1) является другим примером опухолеассоциированного антигенного белка, который не мог вызывать иммунный ответ в гетерологичной вакцине прайм-буст.

[0077] В контексте настоящего изобретения термин «вариант» опухолеассоциированного антигенного белка относится к белку, который (а) содержит по меньшей мере один опухолеассоциированный антигенный эпитоп указанного опухолеассоциированного антигенного белка и (b) по меньшей мере на 70% идентичен указанному опухолеассоциированному антигенному белку. Предпочтительно, указанный вариант будет по меньшей мере на 80% идентичен опухолеассоциированному

антигенному белку. Более предпочтительно, указанный вариант будет по меньшей мере на 90% идентичен опухолеассоциированному антигенному белку. Еще более предпочтительно, указанный вариант будет по меньшей мере на 95% идентичен опухолеассоциированному антигенному белку. Варианты с более высокой

идентичностью последовательностей демонстрируют увеличенную вероятность того, что эпитопы представлены в 3-мерном виде, схожем с антигенными белками дикого типа.

[0078] Как правило, опухолеассоциированный антигенный эпитоп может быть идентифицирован путем расщепления всего антигенного белка на перекрывающиеся серии пептидов, или путем генерирования библиотек случайных пептидов и определения ответов Т-клеток путем стимуляции моноклеарных клеток периферической крови (МКПК) или спленоцитов животных, вакцинированных целевым белком, с использованием пептидных пулов. Пулы, получающие ответ, позволяют идентифицировать данный пептид как потенциальный антигенный эпитоп. Данный

подход рассмотрен Morris, GE в Encyclopedia of Life Sciences, 2007, page 1-3 (doi: 10.1002/9780470015902.a0002624.pub2).

[0079] База данных, суммирующая общепринятые антигенные эпитопы, предложена Van der Bruggen P, Stroobant V, Vigneron N, Van den Eynde B в "Database of T cell-defined human tumor antigens: the 2013 update." Cancer Immun 2013 13:15 и на сайте <<http://www.cancerimmunity.org/peptide/>>.

[0080] Опухولهассоциированные антигенные эпитопы уже идентифицированы для MAGEA3. Соответственно, вариант белка MAGEA3 может представлять собой, например, антигенный белок, который содержит по меньшей мере один опухولهассоциированный антигенный эпитоп, выбранный из группы, состоящей из:

EVDPIGHLV, FLWGPRALV, KVAELVHFL, TFPDLESEF, VAEVLVHFL, MEVDPIGHLV, EVDPIGHLV, REPVTKAEM, AELVHFL, MEVDPIGHLV, WQYFFPVIF, EGDCAPEEK, KKLLTQHFVQENYLEY, RKVAELVHFLLLKYR, KKLLTQHFVQENYLEY, ACYEFLWGPRALVETS, RKVAELVHFLLLKYR, VIFSKASSSLQL, VIFSKASSSLQL, VFGIELMEVDPIGHL, GDNQIMPAGLLIV, TSYVKVLHNMVKISG, RKVAELVHFLLLKYRA и FLLLLKYRAREPVTKE; и который по меньшей мере на 70% идентичен белку MAGEA3.

[0081] Может быть желательным, чтобы варианты опухولهассоциированного антигенного белка содержали только антигенные эпитопы, которые имеют высокую частоту аллелей, такую как частота, составляющая более 40% популяции.

Соответственно, предпочтительные примеры вариантов MAGEA3 могут включать белки, которые содержат по меньшей мере один антигенный эпитоп, выбранный из группы, состоящей из: FLWGPRALV, KVAELVHFL, EGDCAPEEK, KKLLTQHFVQENYLEY, RKVAELVHFLLLKYR и KKLLTQHFVQENYLEY; и которые по меньшей мере на 70% идентичны белку MAGEA3.

[0082] Антиген, экспрессируемый первым вирусом, не обязательно должен иметь точно такую же последовательность, что и антиген, экспрессируемый вирусом Maraba MG1. Антиген, экспрессируемый Maraba MG1, должен только индуцировать перекрывающийся иммунный ответ на антиген, экспрессируемый первым вирусом. Например, первый вирус может экспрессировать MAGEA3, а вирус Maraba MG может экспрессировать вариант MAGEA3 или наоборот. Поскольку как MAGEA3, так и вариант MAGEA3 индуцируют перекрывающиеся иммунные ответы (так как они оба содержат по меньшей мере одну идентичную опухولهассоциированную антигенную последовательность), первый вирус выступает в качестве праймирующего вектора, а

вирус Maraba MG1 выступает в качестве бустер-вируса. Достаточно того, что иммунный ответ, вызываемый у млекопитающего на первый антиген, обуславливает иммунный ответ главным образом на MAGEA3 или вариант MAGEA3, когда вводят вирус Maraba MG1.

5 [0083] В контексте настоящего изобретения следует понимать, что все обсуждения и ссылки на «белок, экспрессируемый вирусом» точнее относятся к белку, экспрессируемому клеткой, инфицированной указанным вирусом, поскольку сами вирусы не обладают способностью экспрессировать белки. Подобным образом, все  
10 обсуждения и ссылки на «вирус, который экспрессирует белок» или вирус, способный экспрессировать белок» точнее относятся к вирусу, который содержит генетическую информацию, необходимую для экспрессии указанного белка клеткой, инфицированной данным вирусом.

[0084] Набор может дополнительно содержать иммунопотенцирующее соединение, такое как циклофосфамид (CPA), которое повышает первичный иммунный ответ на  
15 опухолеассоциированный антигенный белок, вызываемый у млекопитающего путем введения первого вируса. Циклофосфамид представляет собой химиотерапевтический агент, который может приводить к усилению иммунных ответов на опухолеассоциированный антигенный белок. В синергетической модели опухоли-меланомы у мышей CPA, вводимый до примиряющего вектора, значительно увеличивал  
20 выживаемость, в то время как в случае CPA, вводимого до бустер-вектора, этого не наблюдали.

[0085] Терапевтический подход, описанный в настоящем документе, сочетает: (1) вирусную вакцину и (2) вирус Maraba MG1 в качестве онколитической вирусной вакцины, оба из которых экспрессируют MAGEA3, гибридный белок E6/E7 вируса папилломы  
25 человека, белок, представляющий собой шести-трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы человека, или раково-тестикулярный антиген 1, или его вариант. Бустирование онколитической вакциной может привести как к уменьшению массы опухоли онколитическим вирусом, так и к значительному увеличению количества опухолеспецифических цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL) у животных,  
30 примированных вирусной вакциной. В действительности данная методика парадоксальным образом вызывает большие противоопухолевые ответы у животных, являющихся носителями опухолей, по сравнению с животными без опухолей, поскольку репликация онколитического вируса усиливается у животных, являющихся носителями опухолей, что приводит к увеличению количества антигенспецифических проникающих  
35 в опухоль лимфоцитов (TIL), по сравнению с репликацией онколитического вируса у животных без опухолей и связанным количеством антигенспецифических проникающих в опухоль лимфоцитов (TIL).

[0086] Продукты экспрессии данных генов процессируются в пептиды, которые, в свою очередь, экспрессируются на клеточных поверхностях. Это может привести к  
40 лизису клеток опухоли специфическими CTL. Ответ Т-клеток на чужеродные антигены включает как цитолитические Т-лимфоциты, так и хелперные Т-лимфоциты. CD8<sup>+</sup> цитотоксические или цитолитические Т-клетки (CTL) представляют собой Т-клетки, которые в активированном состоянии лизируют клетки, которые представляют  
45 соответствующий антиген, представленный молекулами I класса HLA. CD4<sup>+</sup> Т-хелперы представляют собой Т-клетки, которые секретируют цитокины для стимуляции макрофагов и антигенпродуцирующих В-клеток, которые представляют соответствующий антиген с помощью молекул II класса HLA на своей поверхности.

[0087] Белок «MAGEA3» может также называться «MAGE-A3» и обозначает

ассоциированный с меланомой антиген 3. Антигенный белок MAGEA3 согласно настоящему изобретению представляет собой белок, который содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1. Данная аминокислотная последовательность может кодироваться нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 2. В качестве альтернативы, указанная аминокислотная последовательность может кодироваться кодон-оптимизированным транскриптом, который содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3. Вирус, содержащий минус-смысловую РНК, экспрессирующий белок SEQ ID NO: 1, может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию полинуклеотида SEQ ID NO: 2 или 3. Вирус, содержащий плюс-смысловую РНК, или ДНК-вирус, экспрессирующий белок SEQ ID NO: 1, может содержать последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 2 или 3.

[0088] Примером варианта антигенного белка MAGEA3 согласно настоящему изобретению является белок, который содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4. Данная аминокислотная последовательность может кодироваться нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 5. Вирус, содержащий минус-смысловую РНК, экспрессирующий белок SEQ ID NO: 4, может содержать РНК-полинуклеотид, который содержит последовательность, которая представляет собой обратно-комплементарную и РНК-версию SEQ ID NO: 5. ДНК-вирус или РНК-вирус, который экспрессирует белок SEQ ID NO: 4, может содержать последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 5.

[0089] Одним из примеров такого вируса, содержащего минус-смысловую РНК, является вирус Maraba, который содержит обратно-комплементарную и РНК-версию SEQ ID NO: 6.

[0090] Антигенный белок «гибридный белок E6/E7» или «гибридный белок E6/E7 вируса папилломы человека» согласно настоящему изобретению представляет собой белок, который содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 7. Данная аминокислотная последовательность может кодироваться нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 8. Вирус, содержащий минус-смысловую РНК, экспрессирующий белок SEQ ID NO: 7, может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию полинуклеотида SEQ ID NO: 8. ДНК-вирус или вирус, содержащий плюс-смысловую РНК, экспрессирующий белок SEQ ID NO: 7, может содержать полинуклеотид SEQ ID NO: 8. Одним из примеров такого вируса, содержащего минус-смысловую РНК, является вирус Maraba, который содержит обратно-комплементарную и РНК-версию SEQ ID NO: 9.

[0091] Белок «huSTEAP» или «белок, представляющий собой шести-трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы человека» согласно настоящему изобретению представляет собой белок, который содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 10. Данная аминокислотная последовательность может кодироваться нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 11. Вирус, содержащий минус-смысловую РНК, экспрессирующий белок SEQ ID NO: 10, может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию полинуклеотида SEQ ID NO: 11. ДНК-вирус или РНК-вирус, экспрессирующий белок SEQ ID NO: 10, может содержать последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 11. Одним из примеров такого вируса, содержащего минус-смысловую РНК, является вирус Maraba, который содержит обратно-комплементарную и РНК-версию SEQ ID NO: 12.

[0092] Белок «NYESO1» или «раково-тестикулярный антиген 1 человека» согласно настоящему изобретению представляет собой белок, который содержит аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 13. Данная аминокислотная последовательность может



кодироваться нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 14. Вирус, содержащий минус-смысловую РНК, экспрессирующий белок SEQ ID NO: 13, может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию полинуклеотида SEQ ID NO: 14. ДНК-вирус или РНК-вирус, экспрессирующий белок SEQ ID NO: 13, может содержать последовательность, которая представляет собой SEQ ID NO: 14. Одним из примеров такого вируса, содержащего минус-смысловую РНК, является вирус Maraba, который содержит обратно-комплементарную и РНК-версию SEQ ID NO: 15.

[0093] Вышеуказанные последовательности представлены в Приложении А.

[0094] Термин «млекопитающее» относится к людям, а также к млекопитающим, не относящимся к человеку. В настоящем описании термин «рак» включает любой рак, экспрессирующий опухолеассоциированный антигенный белок (т.е.: MAGEA3, гибридный белок Е6/Е7 вируса папилломы человека, белок, представляющий собой шести-трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы человека, или раково-тестикулярный антиген 1), используемый в представляющих интерес вирусах.

[0095] Например, при рассмотрении MAGEA3 в качестве антигенного белка термин «рак» включает любой рак, экспрессирующий MAGEA3 в качестве антигена. Примеры такого рака включают, но не ограничиваются ими, меланому, немелкоклеточный рак легкого, рак головы и шеи, рак толстой и прямой кишки, и рак мочевого пузыря.

[0096] При рассмотрении гибридного белка Е6/Е7 в качестве антигенного белка термин «рак» включает любой рак, экспрессирующий белки Е6 и Е7 в качестве антигенных белков. Примеры такого рака включают, но не ограничиваются ими, рак шейки матки.

[0097] Первый вирус, вирус Maraba MG1 или оба вируса можно независимо вводить млекопитающему внутривенно, внутримышечно, интраперитонеально или интраназально. После введения указанных вирусов иммунный ответ формируется у млекопитающего в интервале иммунного ответа, например, в течение примерно 4 дней, и действует в течение месяцев, лет или возможно всей жизни.

[0098] Первый вирус может представлять собой любой вирус, который индуцирует иммунный ответ на опухолеассоциированный антигенный белок или его вариант после введения указанного первого вируса пациенту. Вирусы, которые можно применять согласно настоящему изобретению, включают, например: аденовирус (Ad), поксвирус, ретровирус и альфа-вирус. Примером поксвируса является вирус коровьей оспы. Примером ретровируса является лентивирус. Примером альфа-вируса является вирус леса Семлики.

[0099] Для формирования иммунного ответа на опухолеассоциированный антигенный белок или его вариант вакцинацию с применением первого вируса и вируса Maraba MG1 можно осуществлять с использованием общепринятых методик. Как очевидно специалисту в данной области техники, количество вируса, которое требуется для того, чтобы вызвать иммунный ответ, будет варьироваться в зависимости от ряда факторов, включая, например, выбранный антиген, вирусный вектор, применяемый для доставки антигена, и млекопитающее, которое лечат, например, вид, возраст, объем и т.д. В этом отношении, например, внутримышечного введения по меньшей мере примерно  $10^7$  БОЕ аденовирусного вектора мышце достаточно для того, чтобы вызвать иммунный ответ. Соответствующее количество будет достаточным для введения человеку для того, чтобы вызвать иммунный ответ.

[00100] После выработки иммунного ответа у млекопитающего путем введения первого вируса, вирус Maraba MG1, кодирующий опухолеассоциированный антигенный белок или его вариант, вводят в количестве, подходящем для онколитической вирусной

терапии, в подходящем интервале иммунного ответа. Подходящий интервал иммунного ответа может составлять, например, по меньшей мере примерно 24 часа, предпочтительно по меньшей мере примерно 2-4 дня или больше, например, по меньшей мере примерно 1 неделю или по меньшей мере примерно 2 недели. Количество вируса Maraba MG1, подходящее для онколитической вирусной терапии, будет варьироваться в зависимости от млекопитающего, которого лечат, как очевидно специалисту в данной области техники. Например,  $10^8$  БОЕ вируса Maraba MG1, кодирующего MAGEA3, вводимых внутривенно мыши, достаточно для онколитической терапии. Соответствующее количество будет достаточным для применения у человека.

[00101] Вирус Maraba MG1, кодирующий опухолеассоциированный антигенный белок или его вариант, может быть получен путем включения обратно-комплементарной последовательности трансгена, кодирующего опухолеассоциированный антигенный белок или его вариант, в вирус Maraba MG1 с использованием стандартной рекомбинантной технологии. Например, обратно-комплементарная последовательность трансгена может быть включена в геном вируса Maraba MG1 или, в качестве альтернативы, может быть включена в указанный вирус с использованием плазмиды, содержащей трансген. Трансген, кодирующий опухоль, может представлять собой кодон-оптимизированный трансген.

#### ПРИМЕРЫ

[00102] Онколитический Maraba MG1 представляет собой эффективную платформу на основе онколитической вакцины. Несмотря на неспособность примировать с вызовом детектируемых ответов на ассоциированный с меланомой антиген, Maraba MG1-вакцина демонстрировала способность бустировать предсуществующий опухолеспецифический иммунитет, опосредуемый  $CD4^+$  и  $CD8^+$  Т-клетками. При применении для лечения сингенных моделей опухоли-меланомы у мышей Maraba MG1-опосредуемая вторичная иммунизация приводила к увеличению средней выживаемости с полной ремиссией у более 20% животных, получавших лечение.

[00103] В исследовании токсичности у приматов гетерологичная вакцинация прайм-буст с применением примирующего вектора Ad-MAGEA3 с последующим бустер-вектором Maraba-MG1-MAGEA3 вызывала ответы Т-клеток, сопоставимые с ответами, полученными в сингенных моделях опухолей у мышей, что показывает, что в аутбредной популяции приматов стратегия онколитической вакцины прайм-буст позволяет получить иммунные ответы, сопоставимые с моделями у животных, в которых опухоли могут быть привиты, и достигается значительное увеличение выживаемости.

[00104] Авторы настоящего изобретения также установили, что белки, имеющие последовательности SEQ ID NO: 7, 10 или 13, можно применять для стимуляции иммунного ответа у пациента с применением гетерологичной вакцинации прайм-буст вирусом Maraba MG1. В противоположность этому, авторы настоящего изобретения установили, что введение первого вируса, экспрессирующего белок EBDNA-1 или плацентарный белок 1 (PLAC-1), с последующим введением Maraba-MG1, экспрессирующего белок EBDNA-1 или PLAC-1 соответственно, не могло стимулировать иммунный ответ.

[00105] Пример 1: MG1-hDCT представляет собой слабый примирующий вектор, но сильный бустер-вектор:

[00106] Ad-empty и Ad-hDCT представляют собой дефектные по репликации аденовирусы (E1/E3-деления) на основе 5 серотипа человека (Lane C. et al., (2004) Cancer Research 64:1509-1514; Ng P. et al., (2001) Mol Ther 3:809-815). Вектор на основе дефектного по репликации аденовируса создавали для экспрессии трансгена hDCT, который кодирует

полноразмерный ассоциированный с меланомой антиген человека DCT (допахромтаутомераза), тогда как Ad-empty не содержит трансген. Полученный аденовирусный вектор называется «Ad-hDCT».

[00107] MG1-вариант вируса Maraba создавали для экспрессии человеческой формы трансгена hDCT ассоциированного с меланомой антигена. Полученный MG1-вирусный вектор называется «MG1-hDCT» или «Maraba MG1-hDCT». Другие вирусные векторы названы с использованием подобного обозначения.

[00108] Рекомбинантные Maraba и VSV получали путем встраивания трансгена между вирусными генами G и L. VSV-hDCT происходит из штамма Indiana дикого типа вируса VSV (Bridle BW. et al. (2009) 17:1814-1821; Lawson ND. et al., (1995) Proc Natl Acad Sci USA 92:4477-4481). MG1-GFP (зеленый флуоресцентный белок, используемый для встраивания в качестве контрольного неиммуногенного трансгена) и MG1-hDCT происходят из ослабленного штамма MG1 вируса Maraba. Перед исследованиями *in vivo* экспрессию DCT (и GFP) из указанного вируса подтверждали путем вестерн-блоттинга лизатов инфицированных клеток Vero, культивированных в альфа-MEM, содержащей 10% FBS, 2 mM L-глутамин, 100 ед/мл пенициллина и 100 мг/мл стрептомицина (все от Invitrogen, Гранд-Айленд, Нью-Йорк).

[00109] Вначале оценивали терапевтическую эффективность MG1-hDCT, вводимого в виде монотерапии. Для получения метастазов в легких мышам C57 B1/6 (в возрасте 8-10 недель в начале исследования) внутривенно вводили путем инъекции  $2,5 \times 10^5$  клеток B16-F10 (клетки меланомы мыши, экспрессирующие антиген DCT мыши) в 200 мкл соленой воды. Онколитическую вакцину вводили системно путем инъекции спустя 5 или 14 дней, и ответы Т-клеток на антиген меланомы DCT измеряли в крови в 19 день. Вирус вводили системно в высокой дозе ( $10^9$  БОЕ внутривенно в 200 мкл ФБР). Ответы Т-клеток измеряли путем выделения МКПК или спленоцитов и их стимуляции пептидами SVYDFFVWL (SVY) или KFFHRTCKCTGNFA (KFF), соответствующими МНС-I- или МНС-II-рестриктивному иммунодоминантному эпитопам DCT соответственно. Отвечающие Т-клетки детектировали после внутриклеточного окрашивания цитокинов (ICS) на предмет IFN- $\gamma$  путем проточной цитометрии.

[00110] Как показано на фиг. 1А и 1В, MG1-hDCT не мог примировать с вызовом DCT-специфических ответов CD8<sup>+</sup> или CD4<sup>+</sup> Т-клеток у мышей, являющихся носителями опухолей (фиг. 1А). Одна только вводимая вакцина MG1-hDCT не улучшала исход опухоли. Действительно, мыши, которых лечили через 14 дней после заражения опухолью, достигали конечной точки в подобные сроки, что и мыши, не получавшие лечения: через 20 дней для контрольной группы с Ad-empty относительно 21 дня для группы с Ad-empty + MG1-hDCT (фиг. 1В). Кроме того, выживаемость не увеличивалась, даже когда мышей лечили MG1-hDCT уже через 5 дней после прививания опухолью (группа MG1-hDCT, фиг. 1В). В заключение, MG1-hDCT не только не индуцировал иммунитет анти-DCT, но его онколитическая активность не обеспечивала полезный терапевтический эффект. Данные результаты показывают, что MG1-hDCT не может примировать с вызовом значительных ответов Т-клеток на опухолевый антиген DCT и, таким образом, является слабым примирующим вектором.

[00111] Ранее сообщали, что онколитический VSV-вектор служит сильным бустером предсуществующего иммунитета (Bridle BW. et al., (2010) Mol Ther 18:4269-4275; WO 2010/105347). В настоящем изобретении исследовали способность вируса Maraba MG1 выступать в качестве бустер-вакцины. Аденовирусные векторы использовали в качестве примирующих векторов и вводили внутримышечно (в/м) в общей дозе, составляющей

$2 \times 10^8$  БОЕ ( $1 \times 10^8$  БОЕ в 50 мкл ФБР в бедро). Для инъекции аденовируса мышей анестезировали в герметичной камере, содержащей 5% ингаляционный изофлуран. С использованием Ad-hDCT в качестве примиряющего вектора MG1-hDCT оценивали в качестве бустера предсуществующих DCT-специфических ответов. Для оценки вируса Maraba в качестве бустер-вектора оценивали различные пути введения. Вводили онколитическую дозу, составляющую  $1 \times 10^9$  БОЕ вируса, которая хорошо переносилась у мышей данной линии, и выбирали интервал, составляющий 12 дней после Ad-примирения, поскольку он являлся самым длинным интервалом, который практически возможен в указанной модели опухоли. Когда данную дозу MG1-Maraba-hDCT вводили внутривенным (в/в), интраназальным (и/н) и внутримышечным (в/м) путями, внутривенный путь оказался гораздо более эффективным по данным измерения путем ICS на предмет IFN- $\gamma$  в периферических CD8<sup>+</sup> Т-клетках:  $28,33\% \pm 3,82$  внутривенно по сравнению с  $4,73\% \pm 1,52$  интраназально по сравнению с  $13,84\% \pm 1,88$  внутримышечно. Ответы измеряли в 5 день после введения Maraba, что совпадало с пиком MG1-hDCT-опосредуемого буст-ответа. У животных, которых бустировали внутривенно, значительную часть DCT-специфических CD8<sup>+</sup> Т-клеток также измеряли в селезенке, при этом 3-кратное увеличение наблюдали у мышей, которым вводили оба вакцинных вектора, по сравнению с животными, которых только примировали:  $3,45\% \pm 0,45$  в группе Ad-hDCT по сравнению с  $11,02\% \pm 2,14$  у животных, иммунизированных Ad-hDCT + MG1-hDCT ( $p=0,0085^{**}$ ). В то время как Ad-hDCT не мог индуцировать детектируемую DCT-специфическую популяцию CD4<sup>+</sup> Т-клеток в крови и едва детектируемую популяцию в селезенке, бустер-вектор MG1 Maraba-hDCT мог вызывать отчетливый системный ответ CD4<sup>+</sup> Т-клеток, но только при внутривенном введении ( $0,30\% \pm 0,11$ ). Ответ можно было также детектировать в селезенке, при этом  $0,14\% \pm 0,03$  CD4<sup>+</sup> Т-клеток селезенки реагировали на воздействие пептида DCT KFF. Подобно VSV, максимального бустирования иммунного ответа вирусом MG1 Maraba достигали путем внутривенного введения. В заключение, оказалось, что системная доставка Maraba-векторной вакцины в дозе, составляющей  $10^9$  БОЕ, обеспечивала эффективное бустирование антигенспецифических популяций как CD8<sup>+</sup>, так и CD4<sup>+</sup> Т-клеток. По этой причине данный путь и дозу использовали для введения Maraba MG1 в последующих экспериментах *in vivo*.

[00112] Для демонстрации того, что Maraba MG1-hDCT является более мощным бустер-вектором, чем VSV-hDCT, мышей C57/B16 примировали Ad-hDCT (Ad-BHG включали в качестве контрольного вектора, не содержащего трансген), а затем бустировали с использованием внутривенной дозы либо VSV-hDCT, либо Maraba-hDCT спустя 14 дней. Анализ иммунных ответов CD8<sup>+</sup> Т-клеток проводили в периферической крови в 5 день после введения бустер-вектора. В эквивалентной дозе ответ, индуцируемый путем вакцинации Maraba, был в 3-8 раз больше VSV-индуцируемых ответов (фиг. 2).

[00113] Пример 2: стратегия с применением вакцины MG1-hDCT в моделях рака у мышей

[00114] Затем исследовали терапевтическую эффективность MG1-hDCT, вводимого в качестве бустер-вектора. Через пять дней после прививания B16-F10 для образования метастазов в легких у животных, животные получали примиряющую вакцину Ad-hDCT с последующей, спустя 9 дней, однократной внутривенной дозой MG1 Maraba-hDCT в

качестве онколитической бустер-вакцины. Ad-hDCT-прайм-MG1-hDCT-буст-вакцинация вызывала очень сильный DCT-специфический ответ  $CD8^+$  Т-клеток (средний %  $IFN-\gamma^+$   $CD8^+$  Т-клеток =  $27,54 \pm 2,17$ , фиг. 3), который был в 14 раз выше, чем у мышей, которым не вводили бустер-вакцину ( $1,95\% \pm 0,29$  в группе Ad-hDCT и  $1,91\% \pm 0,59$  в группе Ad-hDCT + MG1-GFP, фиг. 3). Подобным образом, DCT-специфические ответы  $CD4^+$  Т-клеток измеряли у животных, которым вводили бустер-вакцину MG1-hDCT, тогда как их редко детектировали у мышей, которым вводили только примирующую вакцину (средний %  $IFN-\gamma^+$   $CD4^+$  Т-клеток =  $0,25\% \pm 0,06$  в группе Ad-hDCT + MG1-hDCT по сравнению с  $<0,05\%$  в группах Ad-hDCT и Ad-hDCT + MG1-GFP, фиг. 3).

[00115] Если рассматривать результат лечения, иммунизация Ad-hDCT обеспечивала 10-дневное увеличение средней выживаемости по сравнению с мышами, не получавшими лечение: 31 день для лечения Ad-hDCT по сравнению с 20,5 днями для группы Ad-empty (фиг. 4). Лечение Ad-hDCT с последующим онколитическим лечением MG1 Maraba-GFP не увеличивало выживаемость (средняя выживаемость для группы Ad-hDCT + MG1-GFP составляла 27,5 дней, фиг. 4). Однако бустирование противоопухолевого иммунитета вакциной Maraba MG1-DCT значительно улучшало исход опухоли с 20-дневным увеличением средней выживаемости по сравнению с животными, которым вводили только примирующую вакцину Ad-hDCT (51 день для группы Ad-hDCT + MG1-hDCT, фиг. 4). Что еще более важно, лечение онколитической бустер-вакциной MG1-hDCT приводило к 23,3% длительной выживаемости (фиг. 4).

[00116] Для того чтобы охарактеризовать соответствующий вклад опухолеспецифических ответов  $CD4^+$  и  $CD8^+$  Т-клеток в терапевтическую эффективность, каждую категорию Т-клеток селективно истощали (данные не представлены). Истощение популяции  $CD8^+$  Т-клеток в момент бустирования «отменяло» полезный терапевтический эффект введения MG1-hDCT. Оказалось, что истощение  $CD4^+$  Т-клеток, напротив, не оказывало значительного влияния на терапевтическую эффективность, что указывает на то, что Maraba-иммунобустирование  $CD8^+$  Т-клеток является  $CD4^+$ -независимым. В то время как критическая роль  $CD8^+$  Т-клеток в контроле роста опухоли является признанной, данные результаты показывают, что бустирование опухолеспецифических  $CD8^+$  Т-клеток вакциной Maraba является эффективным способом улучшения терапии рака.

[00117] Наконец, эффективность стратегии прайм-буст, в которую вовлечена вакцина Maraba, также оценивали в очень сложной интракраниальной модели рака головного мозга, вызванного метастатической меланомой B16-F10. Ad-hDCT-опосредуемая иммунотерапия значительно увеличивала выживаемость мышей с метастазами в головном мозге, вызванными меланомой, со средним значением, увеличенным с 15 дней для контролей Ad-empty до 25,5 дней для группы Ad-hDCT (фиг. 5). Как сообщалось ранее, такая терапевтическая эффективность демонстрирует способность индуцированных опухолеспецифических эффекторных Т-клеток преодолевать гематоэнцефалический барьер и проникать в ложе опухоли (Bridle BW. et al., (2010) Mol Ther 184:4269-4275). Дополнительное введение онколитической бустер-вакцины Maraba MG1-hDCT дополнительно улучшало исход опухоли со средней выживаемостью, достигающей 42 дней, наряду с излечением, наблюдаемым у 21,4% животных, получавших лечение (группа Ad-hDCT + MG1-hDCT, фиг. 5).

[00118] Пример 3: неспособность стратегии с вакциной индуцировать ответ Т-клеток

анти-mPLAC1:

[00119] Хотя Maraba MG1 и VSV могли выступать в качестве бустер-векторов с использованием hDCT в качестве опухолеассоциированного антигена, не все опухолеассоциированные антигены могут быть использованы в стратегии с гетерологичной вакциной прайм-буст. Авторы настоящего изобретения тестировали стратегию прайм-буст с гетерологичной вакциной с использованием huAd5-mPLAC1 в качестве примиряющего вектора и VSV-mPLAC1 в качестве бустер-вектора.

[00120] PLAC1 представляет собой недавно описанный опухолеассоциированный антиген, экспрессируемый в плаценте, а также был описан в нескольких линиях клеток опухоли и в опухолях пациентов с раком молочной железы, легкого, печени, желудка и толстой и прямой кишки (Silva, WA et al, (2007) Cancer Immun 7:18).

[00121] Ad-mPLAC1 представляет собой дефектный по репликации аденовирус (E1/E3-делеция) на основе 5 серотипа человека (Lane C. et al., (2004) Cancer Research 64:1509-1514; Ng P. et al., (2001) Mol Ther 3:809-815). Вектор на основе дефектного по репликации аденовируса создавали для экспрессии трансгена mPLAC1, который кодирует полноразмерный антиген PLAC1 мыши (плацентарный белок 1), и полученный аденовирусный вектор называется «Ad-mPLAC1» или «huAd5-mPLAC1».

[00122] Вирус VSV создавали для экспрессии человеческой формы трансгена mPLAC1 ассоциированного с меланомой антигена. Полученный VSV-вирусный вектор называется «VSV-mPLAC1». Рекомбинантный VSV получали путем встраивания трансгена между вирусными генами G и L. VSV-mPLAC1 происходит из штамма Indiana дикого типа вируса VSV (Bridle BW. et al. (2009) 17:1814-1821; Lawson ND. et al., (1995) Proc Natl Acad Sci USA 92:4477-4481).

[00123] Мышей C57 B1/6 примировали Ad-mPLAC1 ( $2 \times 10^9$  БОЕ, внутримышечная инъекция), а затем бустировали однократной внутривенной дозой VSV-mPLAC1 ( $2 \times 10^9$  БОЕ) спустя 14 дней. Ответы Т-клеток измеряли путем выделения спленоцитов и их стимуляции индивидуальными 15-мерными пептидами из библиотеки перекрывающихся пептидов PLAC1 всего в течение 6 часов с добавлением golgi plug через 1 час после начала стимуляции. После стимуляции спленоциты окрашивали на предмет CD4, CD8 и IFN $\gamma$ ; и анализировали на FACSCanto и FlowJo. Отвечающие Т-клетки детектировали после внутриклеточного окрашивания цитокинов (ICS) на предмет IFN- $\gamma$  путем проточной цитометрии. Ни один из пептидов mPLAC1 не мог стимулировать выработку IFN- $\gamma$  ни в CD8, ни в CD4 Т-клетках.

[00124] Пример 4: создание онколитических вакцинных векторов с MAGEA3 или его вариантом:

[00125] Ad-MAGEA3 представляет собой дефектный по репликации аденовирус (E1/E3-делеция) на основе 5 серотипа человека (Lane C. et al., (2004) Cancer Research 64:1509-1514; Ng P. et al., (2001) Mol Ther 3:809-815), содержащий полноразмерный ген MAGEA3 человека. Maraba MG1-hMAGEA3 был разработан и содержит кодон-оптимизированный полноразмерный ген MAGEA3 человека, встроенный между вирусными генами G и L двойного мутанта MG1 вируса Maraba (Brun J. et al., (2010) Mol Ther 18:1440-1449). Последовательность MAGEA3 (ID гена в Национальном центре биотехнологической информации (NCBI): 4102 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4102>) кодон-оптимизировали для экспрессии в клетках млекопитающих, а затем синтезировали с FLAG-меткой на 3'-конце и с сайтами рестрикции MluI как на 3'-, так и на 5'-конце. Данную последовательность лигировали в шаттл-вектор pMRB-MG1/pNF в сайте MluI (между генами G и L), содержащий часть генома Maraba-MG1 от начала гена G до конца гена L, фланкированную сайтами KpnI и NheI соответственно. Затем всю область от KpnI

до NheI, ныне содержащую MAGEA3 Flag между G и L, удаляли из pMRB-MG1/pNF и снова лигировали в геномную плазмиду pMRB-MG1 с использованием сайтов KpnI и NheI. Затем Maraba-MG1-MAGEA3 Flag восстанавливали и очищали методом бляшек. Это проиллюстрировано на фиг. 6.

5 [00126] Полноразмерный белок MAGEA3 человека, экспрессируемый аденовирусом, может содержать аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1. Аденовирус может содержать нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 2. В качестве альтернативы, аминокислотная последовательность может кодироваться кодон-оптимизированным трансгеном, который содержит нуклеотидную последовательность  
10 SEQ ID NO: 3. Соответственно, аденовирус может содержать кодон-оптимизированную нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3.

[00127] Вирус Maraba MG1 может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2. В качестве альтернативы, аминокислотная последовательность может кодироваться кодон-оптимизированным  
15 трансгеном, который содержит нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3. Соответственно, вирус Maraba MG1 может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию кодон-оптимизированной нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 3.

[00128] Один из вариантов MAGEA3 представляет собой белок, который содержит  
20 аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4. Данная аминокислотная последовательность может кодироваться нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 5. Аденовирус может содержать нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 5. Вирус Maraba MG1 может содержать обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 5.

25 [00129] Вирус, содержащий минус-смысловую РНК, такой как вирус Maraba, который экспрессирует белок SEQ ID NO: 4, может содержать РНК-полинуклеотид, который содержит последовательность, которая представляет собой обратно-комплементарную и РНК-версию SEQ ID NO: 6.

[00130] Пример 5: иммунный ответ на вакцину MG1-MAGEA3 у здоровых приматов:

30 [00131] Здоровых яванских макак использовали в исследовании, предназначенном для сбора данных токсичности и иммуногенности для разработки потенциальной онколитической вакцины MG1-MAGEA3 для применения у человека. Использование яванских макак максимально увеличивает вероятность идентификации ответов, которые количественно и качественно схожи с ответами, ожидаемыми у людей. Перед началом  
35 исследования приматам давали 4-6 недель для адаптации с момента поступления животного до момента оперативного вмешательства по имплантации порт-системы сосудистого доступа. Через минимум 2-3 недели после оперативного вмешательства животных вакцинировали примирующим вектором Ad-MAGEA3 на основе нереплицирующегося аденовируса, вводимым путем инъекции в каждую ногу, 0,5 мл  
40 на дозу, что в общем составляло  $1 \times 10^{10}$  БОЕ, путем медленной внутримышечной инъекции. Для исследования прайм-буст с использованием Ad-MAGEA3/MG1-MAGEA3 примирование Ad-MAGEA3 осуществляли либо за 2 недели (-14 дней), либо за 4 недели (-28 дней) до бустирования MG1-MAGEA3. Следовательно, введение Ad-MAGEA3 осуществляли в -14 день или -28 день, а бустирование MG1-MAGEA3 осуществляли в 0  
45 и 3 день. Основание для уровня доз Ad-MAGEA3 следует из литературы и из предшествующих экспериментов, демонстрирующих, что доза, составляющая  $1 \times 10^{10}$  БОЕ у макак (и людей), является безопасной дозой без наблюдаемой токсичности (Bett et al. Vaccine, 2010). Для животных в группе бустирования через 2 недели вирус MG1-

MAGEA3 вводили внутривенно путем инъекции либо в низкой дозе  $1 \times 10^{10}$ , либо в высокой дозе  $1 \times 10^{11}$  в 0 и 3 дни эксперимента (14 и 17 дни после введения Ad-MAGEA3). Для животных в группе бустирования через 4 недели вирус MG1-MAGEA3 вводили

5 внутривенно путем инъекции либо в низкой дозе  $1 \times 10^{10}$ , либо в высокой дозе  $1 \times 10^{11}$  в 0 и 3 дни эксперимента (28 и 31 дни после введения Ad-MAGEA3). Бустер-вирус вводили путем инфузии в 30 мл стерильного буферного раствора (pH 7,5) в течение 30 минут через порт-систему сосудистого доступа. Основание для низкого уровня доз MG1-MAGEA3 следует из доклинических исследований, демонстрирующих, что максимальная  
10 переносимая доза у мышей составляет  $1 \times 10^9$ . Увеличение относительной площади поверхности тела для макак приравнивает данную дозу к общему значению  $3,5 \times 10^{10}$  БОЕ. Основание для высокого уровня доз MG1-MAGEA3 следует из пилотного токсикологического исследования у нечеловекообразных приматов (NHP), в котором  
15 не наблюдали токсичность на уровне доз, составляющем  $2 \times 10^{11}$  БОЕ. Животных в исследовании прайм-буст умерщвляли либо рано (14 день), либо поздно (84 день). Для исследования прайм-буст с использованием Ad-MAGEA3/MG1-MAGEA3 у всех животных брали образцы крови в 5 различных моментов времени. Для животных в 2-недельной когорте гетерологичной вакцинации прайм-буст образцы крови забирали перед любой  
20 вакцинацией и в день перед -14 днем (начало исследования) и в 5, 13 и 84 день эксперимента. Для животных в 4-недельной когорте гетерологичной вакцинации прайм-буст образцы крови забирали перед любой вакцинацией и в день перед -28 днем (начало исследования) и в 5, 13 и 84 день эксперимента.

[00132] Для оценки иммунных ответов у приматов на гетерологичную вакцинацию прайм-буст с использованием Ad-MAGEA3/MG1-MAGEA3, мононуклеарные клетки  
25 периферической крови (МКПК) инкубировали в течение 4 часов (последние 3 часа в присутствии Брефелдина А) совместно с пулом 10 пептидов hMAGE-A3 для (повторной) стимуляции Т-клеток (или оставляли без стимуляции для оценки фонового значения). Пептиды были из библиотеки перекрывающихся пептидов, включающей весь антиген  
30 hMAGE-A3 от N- до C-конца в 87 пептидах (каждый 15-мерный). После стимуляции Т-клетки окрашивали флуоресцентными антителами анти-CD8 и анти-CD4 в течение 25 минут. После данного окрашивания поверхности клетки пермеабилizировали и фиксировали BD Cytotfix/Cytoperm в течение 20 минут. Затем детектировали hMAGE-A3-специфические Т-клетки путем наблюдения за экспрессией цитокинов путем  
35 внутриклеточного окрашивания флуоресцентными антителами анти-IFN $\gamma$  и анти-TNF $\alpha$  в течение 25 минут. Анализ клеток проводили на проточном цитометре BD Canto.

[00133] На фиг. 7 показаны средние иммунные ответы CD8<sup>+</sup> Т-клеток у обезьян, которым вводили высокую и низкую дозу MG1-MAGEA3 в качестве бустер-вектора после примирования Ad-MAGEA3. У животных, которым вводили низкую дозу MG1-  
40 MAGEA3, происходило значительное увеличение ответа CD8<sup>+</sup> Т-клеток через 5 дней после бустирования, которое спадало со временем, тогда как у животных, которым вводили высокую дозу MG1-MAGEA3, происходило схожее значительное увеличение  
ответа CD8<sup>+</sup> Т-клеток через 5 дней после бустирования, которое поддерживалось на  
45 более высоком уровне в течение времени. На фиг. 8 показано, что все животные в исследовании демонстрировали значительное увеличение ответа CD8<sup>+</sup> Т-клеток через 5 дней после бустирования MG1-MAGEA3, независимо от того, была доза высокой или низкой. Данные пиковые ответы Т-клеток у приматов показывают, что в аутбредной



популяции стратегия онколитической вакцины прайм-буст позволяет получить иммунные ответы, сопоставимые с моделями у животных, в которых опухоли могут быть привиты, и достигается значительное увеличение выживаемости.

[00134] Пример 6: конструирование и иммунотестирование лентивирусных  
5 приммирующих векторов и онколитических вакцинных векторов, экспрессирующих гибридный белок E6/E7 вируса папилломы человека:

[00135] Трансген HPV представляет собой гибрид полноразмерных  
последовательностей E6 (gi/4927720/gb/AAD33252.1/AF125673\_1 E6 вирус папилломы  
человека 16 типа) и E7 (gi/4927721/gb/AAD33253.1/AF125673\_2 E7 вирус папилломы  
10 человека 16 типа) дикого типа 16 серотипа HPV и полноразмерных последовательностей  
E6 (gi/137758/sp/P06463.1/VE6\_HPV18 RecName: Full = Protein E6) и E7 (gi/137792/sp/  
P06788.2/VE7\_HPV18 RecName: Full = Protein E7) дикого типа 18 серотипа HPV с  
делениями во всех 4 нуклеотидных последовательностях для удаления цинковых пальцев,  
необходимых для связывания Rb или p53 (устранение онкогенного потенциала указанных  
15 белков). Полученный гибридный белок имеет гибкий глициновый линкер плюс  
последовательность AAY (который служит в качестве сайта протеасомного расщепления  
с тем, чтобы каждый антиген протеолитически распадался на пептиды, обычно  
образующиеся для представления антигена). Данная кодон-оптимизированная гибридная  
нуклеотидная последовательность позволяет получить 527-аминокислотный гибридный  
20 белок E6/E7 HPV16/18 (SEQ ID NO: 7).

[00136] Лентивирусы, экспрессирующие гибридный трансген E6/E7 вируса папилломы  
человека, получали с использованием лентивирусного вектора pDY.EG.WS.

Модифицированный трансген HPV амплифицировали методом ПЦР с использованием  
праймеров, содержащих сайт рестрикции EcoRI (прямой праймер

25 **ACTGGAATTCATGCATCAGAAGCGAACTGC**, SEQ ID NO: 18) и сайт рестрикции BamHI  
(обратный праймер **ACTGGGATCCTCACTGCTGGGAGGCACAC**, SEQ ID NO: 19).

Продукт ПЦР трансгена очищали в агарозном геле. Лентивирусный вектор pDY.EG.WS  
разрезали в сайтах EcoRI и BamHI с удалением eGFP, очищали в агарозном геле и  
30 подвергали дефосфорилированию с использованием CIAP (Каталог Invitrogen 18009-  
019). Затем разрезанный вектор подвергали дополнительной очистке в агарозном геле.  
Затем продукт ПЦР трансгена HPV дотировали в указанный разрезанный EcoRI/BamHI  
вектор с использованием ДНК-лигазы T4 (Invitrogen). Реакцию лигирования подвергали  
трансформации с использованием компетентных клеток, и плазмидную ДНК

35 положительных колоний подвергали амплификации с помощью mini-prep. Затем  
лентивирусный вектор pDY.EG.WS, экспрессирующий модифицированный трансген  
HPV, подвергали амплификации с помощью maxi-prep. Лентивирус, экспрессирующий  
гибридный трансген E6/E7 вируса папилломы человека, восстанавливали на клетках  
293T после трансфекции 6,4 мкг каждой из трех плазмид: лентивирусный вектор  
40 pDY.EG.WS, экспрессирующий модифицированный трансген HPV, пакующая плазида  
PCMV-8.84 и плазида pMD2G, кодирующая белки оболочки. Вирусные надосадочные  
жидкости объединяли в пул и фильтровали через 0,45 мкм фильтр, и центрифугировали  
в течение 120 минут при 50000×g при 16°C. Лентивирус, экспрессирующий гибридный  
трансген E6/E7 вируса папилломы человека, ресуспендировали в ФБР и хранили при  
45 -80°C.

[00137] Maraba MG1 создавали таким образом, чтобы он содержал гибридный трансген  
E6/E7 вируса папилломы, встроенный между вирусными генами G и L двойного мутанта  
MG1 вируса Maraba (Brun J. et al., (2010) Mol Ther 18:1440-1449). Последовательность

трансгена (SEQ ID NO: 8) кодон-оптимизировали для экспрессии в клетках млекопитающих. Полученный Maraba MG1, содержащий E6/E7 HPV, обозначается, как правило, «Maraba-MG1-HPV E6/E7». Модифицированный остов Maraba MG1 использовали для облегчения клонирования. Молчащую мутацию вводили в ген L остова генома Maraba MG1 для удаления одного из сайтов MluI. Второй сайт MluI заменяли сайтом BsiWI в области клонирования между G и L. Данные модификации остова генома Maraba MG1 позволяли получить систему более направленного клонирования, чем система, описанная в документе Brun et al., поскольку она позволяет избежать использования шаттл-плазмиды pMRB-MG1/pNF. Последовательность гибридного трансгена E6/E7 HPV лигировали в модифицированный остов генома Maraba MG1 в сайте MluI и сайте BsiWI (в области клонирования между G и L). Затем Maraba-MG1-HPV E6/E7 восстанавливали (как описано ранее в Brun et al., (2010) Mol Ther 18: 1440-1449), один раз очищали методом блюшек и подвергали очистке с использованием Opti-Prep. Maraba-MG1-HPV E6/E7 содержит геномную последовательность, которая является обратно-комплементарной и РНК-версией SEQ ID NO: 9.

[00138] Как правило, животных иммунизировали путем введения примиряющего вектора (лентивирус-E6/E7 HPV + poly I:C в качестве адъюванта) в 0 день и путем введения  $1 \times 10^9$  БОЕ бустер-вектора (Maraba-MG1-E6/E7 HPV) в 14 день. Контрольных мышей вакцинировали по типу прайм-буст вирусными векторами, кодирующими GFP вместо трансгена E6/E7 HPV в качестве встраивания контрольного неиммуногенного трансгена. Анализ ответа на примиряющий вектор проводили в 14 день, а ответа на бустер-вектор - в 19 день. Каждый препарат лентивирус-HPV E6/E7 получали с использованием 250 мкг poly I:C, добавляемого в качестве адъюванта к примиряющему вирусу, а затем делили между 5 животными для каждого вируса. Мышей анестезировали изофлураном и 30 мкл лентивирус-HPV E6/E7/poly I:C вводили путем инъекции в каждую подушечку задних лап. Оставшийся вирус вводили путем инъекции подкожно рядом с левым паховым лимфатическим узлом. Через 14 дней после примирения кровь забирали и анализировали путем проточной цитометрии. Затем мышей бустировали  $1 \times 10^9$  БОЕ MG1-HPV E6/E7 внутривенно. Через 5 дней после бустирования брали кровь и оценивали иммунные ответы путем проточной цитометрии.

[00139] Анализ иммунных ответов проводили следующим образом: кровь забирали путем ретроорбитального кровопускания с использованием гепаринизированного капилляра и кровь собирали в гепарин. Затем эритроциты лизировали с использованием лизирующего буфера АСК и полученные МКПК анализировали на предмет иммунных ответов на опухолевые антигены. МКПК либо инкубировали в отсутствие пептида, либо стимулировали 2 мкг/мл пептидов (RAHYNIVTF) всего в течение 5 часов с добавлением golgi plug через 1 час после начала стимуляции. После стимуляции МКПК окрашивали на предмет CD4, CD8 и IFN $\gamma$ , и анализировали на FACSCanto и FlowJo. Отвечающие Т-клетки детектировали после внутриклеточного окрашивания цитокинов (ICS) на предмет IFN- $\gamma$  путем проточной цитометрии. Значения, полученные от нестимулированных МКПК, рассматривали в качестве фоновых и вычитали из значений, полученных от стимулированных МКПК. Данные представляют собой среднее значение  $\pm$  SEM. В таблице 1 показано, что пептиды E6/E7 HPV могли стимулировать выработку IFN- $\gamma$  в клетках CD8, что указывает на наличие иммунного ответа.

**Таблица 1. Иммунный ответ на вакцинацию E6/E7 HPV по типу прайм-буст**

Симулирующий пептидный эпитоп	Процент CD8 Т-клеток, секретирующих интерферон (IFN) $\gamma$			
	Контрольная группа Примирующий вектор: лентивирус-GFP Бустер-вектор: MG1-GFP		Иммуно-группа Примирующий вектор: лентивирус-HPV E6/E7 Бустер-вектор: MG1-HPV E6/E7 (N=5)	
RAHYNIVTF	0,0033 $\pm$ 0,0033 (после примирования)	0,03 $\pm$ 0,025 (после бустирования)	0,036 $\pm$ 0,012 (после примирования)	5,9 $\pm$ 2,7 (после бустирования)

[00140] Пример 7: конструирование и иммунотестирование лентивирусных примирующих векторов и онколитических вакцинных векторов, экспрессирующих раково-тестикулярный антиген 1:

[00141] Трансген NYESO1 представляет собой полноразмерную последовательность дикого типа (SEQ ID NO: 14), кодон-оптимизированную для экспрессии у человека и мыши с образованием 180-аминокислотного белка (SEQ ID NO: 13).

[00142] Лентивирусы, экспрессирующие трансген раково-тестикулярного антигена 1, получали с использованием лентивирусного вектора pDY.EG.WS. Трансген NYESO1 амплифицировали методом ПЦР с использованием праймеров, содержащих сайт рестрикции BamHI (прямой праймер ACTGGGATCCATGCAGGCCGAGGGCAGAG, SEQ ID NO: 20) и сайт рестрикции BamHI (обратный праймер

ACTGGGATCCTCATCTTCTCTGGCCGCTGG, SEQ ID NO: 21). Продукт ПЦР трансгена NYESO1 очищали в агарозном геле. Лентивирусный вектор pDY.EG.WS разрезали в сайте BamHI с удалением eGFP, очищали в агарозном геле и подвергали дефосфорилированию с использованием CIAP (Каталог Invitrogen 18009-019). Затем разрезанный вектор подвергали дополнительной очистке в агарозном геле. Затем продукт ПЦР трансгена NYESO1 лигировали в указанный разрезанный BamHI вектор с использованием ДНК-лигазы T4 (Invitrogen). Реакцию лигирования подвергали трансформации с использованием компетентных клеток, и плазмидную ДНК положительных колоний подвергали амплификации с помощью mini-prep. Затем лентивирусный вектор pDY.EG.WS, экспрессирующий модифицированный трансген HPV, подвергали амплификации с помощью maxi-prep. Лентивирус, экспрессирующий трансген NYESO1, восстанавливали на клетках 293T после трансфекции 6,4 мкг каждой из трех плазмид: лентивирусный вектор pDY.EG.WS, экспрессирующий трансген NYESO1, пакующая плазида pCMV-8.84 и плазида pMD2G, кодирующая белки оболочки. Вирусные надосадочные жидкости объединяли в пул и фильтровали через 0,45 мкм фильтр, и центрифугировали в течение 120 минут при 50000xg при 16°C. Лентивирус, экспрессирующий трансген NYESO1, ресуспендировали в ФБР и хранили при -80°C.

[00143] Maraba MG1 создавали таким образом, чтобы он содержал трансген раково-тестикулярного антигена 1, встроенный между вирусными генами G и L двойного

мутанта MG1 вируса Maraba (Brun J. et al., (2010) Mol Ther 18:1440-1449).

Последовательность трансгена кодон-оптимизировали для экспрессии в клетках млекопитающих. Полученный Maraba MG1, содержащий белок NYESO1, обозначается «Maraba-MG1-NYESO1» или «MG1-NYESO1».

5 [00144] Трансген NYESO1 лигировали в шаттл-вектор pMRB-MG1/pNF в сайте MluI (между генами G и L), содержащий часть генома Maraba-MG1 от начала гена G до конца гена L, фланкированную сайтами KpnI и NheI соответственно. Затем всю область от KpnI до NheI, ныне содержащую трансген NYESO1, встроенный между G и L, удаляли из pMRB-MG1/pNF и снова лигировали в геномную плазмиду pMRB-MG1 с

10 использованием сайтов KpnI и NheI. Затем Maraba-MG1-NYESO1 восстанавливали (как ранее описано в Brun J. et al, (2010) Mol Ther 18:1440-1449). Maraba-MG1-NYESO1 три раза очищали методом бляшек и очищали путем очистки на сахарозной подушке. Вирус Maraba-MG1-NYESO1 содержит геномную последовательность, которая является обратно-комплементарной и РНК-версией SEQ ID NO: 15.

15 [00145] Как правило, животных иммунизировали путем введения примирующего вектора (лентивирус-NYESO1 + poly I:C качестве адъюванта) в 0 день и путем введения  $1 \times 10^9$  БОЕ бустер-вектора (Maraba-MG1-NYESO1) в 14 день. Контрольных мышей вакцинировали по типу прайм-буст вирусными векторами, кодирующими GFP вместо трансгена NYESO1 в качестве встраивания контрольного неиммуногенного трансгена.

20 Анализ ответа на примирующий вектор проводили в 14 день и 19 день. Каждый препарат лентивирус-NYESO1 получали с использованием 250 мкг poly I:C, добавляемого в качестве адъюванта к примирующему вирусу, а затем делили между 5 животными для каждого вируса. Мышей анестезировали изофлураном и 30 мкл лентивирус-NYESO1/poly I:C вводили путем инъекции в каждую подушечку задних лап. Оставшийся вирус

25 вводили путем инъекции подкожно рядом с левым паховым лимфатическим узлом. Через 14 дней после примирования кровь забирали и анализировали путем проточной цитометрии. Затем мышей бустировали  $1 \times 10^9$  БОЕ MG1-NYESO1 внутривенно. Через пять дней после бустирования брали кровь и оценивали иммунные ответы путем проточной цитометрии.

30 [00146] Анализ иммунных ответов проводили следующим образом: кровь забирали путем ретроорбитального кровопускания с использованием гепаринизированного капилляра и кровь собирали в гепарин. Затем эритроциты лизировали с использованием лизирующего буфера АСК и полученные МКПК анализировали на предмет иммунных ответов на опухолевые антигены. МКПК либо инкубировали в отсутствии пептида,

35 либо стимулировали 2 мкг/мл пептидов (RGPE SRL) всего в течение 5 часов с добавлением golgi plug через 1 час после начала стимуляции. После стимуляции МКПК окрашивали на предмет CD4, CD8 и IFN $\gamma$ , и анализировали на FACSCanto и FlowJo. Отвечающие Т-клетки детектировали после внутриклеточного окрашивания цитокинов (ICS) на предмет IFN- $\gamma$  путем проточной цитометрии. Значения, полученные от

40 нестимулированных МКПК, рассматривали в качестве фоновых и вычитали из значений, полученных от стимулированных МКПК. Данные представляют собой среднее значение  $\pm$  SEM. В таблице 2 показано, что пептиды NYESO1 могли стимулировать выработку IFN- $\gamma$  в клетках CD8, что указывает на наличие иммунного ответа.

Таблица 2. Иммунный ответ на вакцинацию NYESO1 по типу прайм-буст

Стимулирующий пептидный эпитоп	Процент CD8 Т-клеток, секретирующих интерферон (IFN) $\gamma$			
	Контрольная группа Примирующий вектор: лентивирус-GFP Бустер-вектор: MG1-GFP		Иммуно-группа Примирующий вектор: лентивирус-NYESO1 Бустер-вектор: MG1-NYESO1 (N=5)	
RGPE SRL	$0 \pm 0$ (после примирования)	$0,013 \pm 0,0088$ (после бустирования)	$0,027 \pm 0,015$ (после примирования)	12,33 (после бустирования)

[00147] Пример 8: конструирование и иммунотестирование лентивирусных примирующих векторов и онколитических вакцинных векторов, экспрессирующих белок, представляющий собой шести-трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы человека:

[00148] Трансген huSTEAP представляет собой полноразмерную последовательность дикого типа (SEQ ID NO: 11), кодон-оптимизированную для экспрессии у человека и мыши с образованием 341-аминокислотного белка (SEQ ID NO: 10).

[00149] Лентивирусы, экспрессирующие белок, представляющий собой шести-трансмембранный эпителиальный антиген предстательной железы человека, получали с использованием лентивирусного вектора pDY.EG.WS. Трансген huSTEAP амплифицировали методом ПЦР с использованием праймеров, содержащих сайт рестрикции EcoRI (прямой праймер АСТGGAATTCATGGAATCACGGAAGGACATC, SEQ ID NO: 22) и сайт рестрикции BamHI (обратный праймер

АСТGGGATCCTTAAAGCTTCAGCTGGCTACAG, SEQ ID NO: 23). Продукт ПЦР трансгена huSTEAP очищали в агарозном геле. Лентивирусный вектор pDY.EG.WS разрезали в сайте EcoRI/BamHI с удалением eGFP, очищали в агарозном геле и подвергали дефосфорилированию с использованием CIAP (Каталог Invitrogen 18009-019). Затем разрезанный вектор подвергали дополнительной очистке в агарозном геле. Затем продукт ПЦР трансгена huSTEAP лигировали в указанный разрезанный EcoRI/BamHI вектор с использованием ДНК-лигазы T4 (Invitrogen). Реакцию лигирования подвергали трансформации с использованием компетентных клеток, и плазмидную ДНК положительных колоний подвергали амплификации с помощью mini-prep. Затем лентивирусный вектор pDY.EG.WS, экспрессирующий модифицированный трансген huSTEAP, подвергали амплификации с помощью maxi-prep. Лентивирус, экспрессирующий трансген huSTEAP, восстанавливали на клетках 293Т после трансфекции 6,4 мкг каждой из трех плазмид: лентивирусный вектор pDY.EG.WS, экспрессирующий трансген huSTEAP, пакующая плазида pCMV-8.84 и плазида pMD2G, кодирующая белки оболочки. Вирусные надосадочные жидкости объединяли в пул и фильтровали через 0,45 мкм фильтр, и центрифугировали в течение 120 минут при 50000×g при 16°C. Лентивирус, экспрессирующий трансген huSTEAP, ресуспендировали в ФБР и хранили при -80°C.

[00150] Maraba MG1 создавали таким образом, чтобы он содержал трансген шести-

трансмембранного эпителиального антигена предстательной железы человека, встроенный между вирусными генами G и L двойного мутанта MG1 вируса Maraba (Bran J. et al., (2010) Mol Ther 18:1440-1449). Последовательность трансгена кодон-оптимизировали для экспрессии в клетках млекопитающих. Полученный Maraba MG1, содержащий белок huSTEAP, обозначается «Maraba-MG1-huSTEAP» или «MG1-huSTEAP». Модифицированный остов Maraba MG1 использовали для облегчения клонирования. Молчащую мутацию вводили в ген L остова генома Maraba MG1 для удаления одного из сайтов MluI. Второй сайт MluI заменяли сайтом BsiWI в области клонирования между G и L. Данные модификации остова генома Maraba MG1 позволяли получить систему более направленного клонирования, чем система, описанная в документе Brun et al., поскольку она позволяет избежать использования шаттл-плазмиды pMRB-MG1/pNF. Последовательность трансгена huSTEAP лигировали в модифицированный остов генома Maraba MG1 в сайте MluI и сайте BsiWI (в области клонирования между G и L). Затем Maraba-MG1-huSTEAP восстанавливали (как описано ранее в Brun J. et al., (2010) Mol Ther 18:1440-1449), один раз очищали методом бляшек и подвергали очистке с использованием Opti-Prep. Maraba-MG1-huSTEAP содержит геномную последовательность, которая является обратно-комплементарной и РНК-версией SEQ IDNO: 12.

[00151] Как правило, животных иммунизировали путем введения примиряющего вектора (лентивирус-huSTEAP + poly I:C в качестве адъюванта) в 0 день и путем введения  $1 \times 10^9$  БОЕ бустер-вектора (Maraba-MG1-huSTEAP) в 14 день. Контрольных мышей вакцинировали по типу прайм-буст вирусными векторами, кодирующими GFP вместо трансгена huSTEAP в качестве встраивания контрольного неиммуногенного трансгена. Анализ ответа на примиряющий вектор проводили в 14 день и 19 день. Каждый препарат лентивирус-huSTEAP получали с использованием 250 мкг poly I:C, добавляемого в качестве адъюванта к примиряющему вирусу, а затем делили между 5 животными для каждого вируса. Мышей анестезировали изофлураном и 30 мкл лентивирус-huSTEAP/poly I:C вводили путем инъекции в каждую подушечку задних лап. Оставшийся вирус вводили путем инъекции подкожно рядом с левым паховым лимфатическим узлом. Через 14 дней после примирения кровь забирали и анализировали путем проточной цитометрии. Затем мышей бустировали  $1 \times 10^9$  БОЕ MG1-huSTEAP внутривенно. Через пять дней после бустирования брали кровь и оценивали иммунные ответы путем проточной цитометрии.

[00152] Анализ иммунных ответов проводили следующим образом: кровь забирали путем ретроорбитального кровопускания с использованием гепаринизированного капилляра и кровь собирали в гепарин. Затем эритроциты лизировали с использованием лизирующего буфера АСК и полученные МКПК анализировали на предмет иммунных ответов на антигены опухоли. МКПК либо инкубировали в отсутствии пептида, либо стимулировали пептидами всего в течение 5 часов с добавлением golgi plug через 1 час после начала стимуляции. МКПК либо инкубировали в отсутствии пептида, либо стимулировали 2 мкг/мл пептидов (RSRYKLL) всего в течение 5 часов с добавлением golgi plug через 1 час после начала стимуляции. После стимуляции МКПК окрашивали на предмет CD4, CD8 и IFN $\gamma$ , и анализировали на FACSCanto и FlowJo. Отвечающие Т-клетки детектировали после внутриклеточного окрашивания цитокинов (ICS) на предмет IFN- $\gamma$  путем проточной цитометрии. Значения, полученные от нестимулированных МКПК, рассматривали в качестве фоновых и вычитали из значений, полученных от стимулированных МКПК. Данные представляют собой среднее значение  $\pm$  SEM. В таблице 3 показано, что пептиды huSTEAP могли стимулировать выработку IFN- $\gamma$  в

клетках CD8, что указывает на наличие иммунного ответа.

**Таблица 3. Иммунный ответ на вакцинацию huSTEAP по типу прайм-буст**

Стимулирующий пептидный эпитоп	Процент CD8 Т-клеток, секретирующих интерферон (IFN) $\gamma$			
	Контрольная группа Примирующий вектор: лентивирус-GFP Бустер-вектор: MG1-GFP		Иммуно-группа Примирующий вектор: лентивирус-huSTEAP Бустер-вектор: MG1-huSTEAP (N=5)	
RSYRYKLL	0,0033 $\pm$ 0,0033 (после примирования)	0,0033 $\pm$ 0,0033 (после бустирования)	0,008 $\pm$ 0,0508 (после примирования)	0,406 $\pm$ 0,11 (после бустирования)

[00153] Пример 9: конструирование и иммунотестирование лентивирусных примирующих векторов и онколитических вакцинных векторов, экспрессирующих ядерный антиген 1 вируса Эпштейна-Барр:

[00154] Трансген EBDNA1 представляет собой частичную нуклеотидную последовательность полноразмерного EBDNA1 дикого типа (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/Q1HVF7.1>) с делецией последовательности, кодирующей повторы глицин-аланин (которая делит белок на amino- и карбоксиконцевые домены). Данная последовательность, по-видимому, стабилизирует белок, предотвращая протеасомный распад, а также нарушая процессирование антигена и МНС I-рестриктированную презентацию антигена (Levitskaya J et al., (1995) Nature 375:685-688). Укороченную нуклеотидную последовательность EBDNA1 (SEQ ID NO: 17) кодон-оптимизировали для экспрессии у человека и мыши с образованием 238-аминокислотного белка (SEQ IDNO: 16).

[00155] Лентивирусы, экспрессирующие белок, представляющий собой ядерный антиген 1 вируса Эпштейна-Барр, получали с использованием лентивирусного вектора pDY.EG.WS. Модифицированный трансген EBDNA1 амплифицировали методом ПЦР с использованием праймеров, содержащих сайт рестрикции EcoRI (прямой праймер ACTGGAATTCATGCCAGTCGGCCAGGCTG, SEQ ID NO: 24) и сайт рестрикции BamHI (обратный праймер ACTGGGATCCTTATTCCTGCCCCTCTTCTCC, SEQ ID NO: 25).

Продукт ПЦР трансгена EBDNA1 очищали в агарозном геле. Лентивирусный вектор pDY.EG.WS разрезали в сайтах EcoRI и BamHI с удалением eGFP, очищали в агарозном геле и подвергали дефосфорилированию с использованием CIAP (Каталог Invitrogen 18009-019). Затем разрезанный вектор подвергали дополнительной очистке в агарозном геле. Затем продукт ПЦР трансгена EBDNA1 лигировали в указанный разрезанный EcoRI/BamHI вектор с использованием ДНК-лигазы T4 (Invitrogen). Реакцию лигирования подвергали трансформации с использованием компетентных клеток, и плазмидную ДНК положительных колоний подвергали амплификации с помощью mini-prep. Затем лентивирусный вектор pDY.EG.WS, экспрессирующий трансген EBDNA1, подвергали амплификации с помощью maxi-prep. Лентивирус, экспрессирующий трансген EBDNA1, восстанавливали на клетках 293T после трансфекции 6,4 мкг каждой из трех плазмид: лентивирусный вектор pDY.EG.WS, экспрессирующий трансген EBDNA1, пакующая плазида pCMV-8.84 и плазида pMD2G, кодирующая белки оболочки. Вирусные

надосадочные жидкости объединяли в пул и фильтровали через 0,45 мкМ фильтр, и центрифугировали в течение 120 минут при 50000×g при 16°C. Лентивирус, экспрессирующий трансген EBDNA1, ресуспендировали в ФБР и хранили при -80°C.

[00156] Maraba MG1 создавали таким образом, чтобы он содержал трансген ядерного антигена 1 вируса Эпштейна-Барр, встроенный между вирусными генами G и L двойного мутанта MG1 вируса Maraba (Brun J. et al., (2010) Mol Ther 18:1440-1449).

Последовательность трансгена кодон-оптимизировали для экспрессии в клетках млекопитающих. Полученный Maraba MG1, содержащий белок EBVDNA1, обозначается «Maraba-MG1-EBVDNA1» или «MG1-EDVDNA1». Модифицированный остов Maraba MG1 использовали для облегчения клонирования. Молчащую мутацию вводили в ген L остова генома Maraba MG1 для удаления одного из сайтов MluI. Второй сайт MluI заменяли сайтом BsiWI в области клонирования между G и L. Данные модификации остова генома Maraba MG1 позволяли получить систему более направленного клонирования, чем система, описанная в документе Brun et al., поскольку она позволяет избежать использования шаттл-плазмиды pMRB-MG1/pNF. Последовательность трансгена EBDNA1 лигировали в модифицированный остов генома Maraba MG1 в сайте MluI и сайте BsiWI (в области клонирования между G и L). Затем трансген Maraba-MG1-EBDNA1 восстанавливали (как описано ранее в Brun J. et al., (2010) Mol Ther 18:1440-1449), один раз очищали методом бляшек и подвергали очистке с использованием Opti-Prep.

[00157] Как правило, животных иммунизировали путем введения примирующего вектора (лентивирус-EBDNA1 + poly I:C качестве адъюванта) в 0 день и путем введения 1e9 БОЕ бустер-вектора (Maraba-MG1-EBDNA1) в 14 день. Контрольных мышей вакцинировали по типу прайм-буст вирусными векторами, кодирующими GFP вместо трансгена ТАА в качестве встраивания контрольного неиммуногенного трансгена. Анализ ответа на примирующий вектор проводили в 14 день и 19 день. Каждый препарат лентивирус-EBDNA1 получали с использованием 250 мкг poly I:C, добавляемого в качестве адъюванта к примирующему вирусу, а затем делили между 5 животными для каждого вируса. Мышей анестезировали изофлураном и 30 мкл лентивирус-EBDNA1/poly I:C вводили путем инъекции подкожно рядом с левым паховым лимфатическим узлом. Через 14 дней после примирования кровь забирали и анализировали путем проточной цитометрии. Затем мышей бустировали  $1 \times 10^9$  БОЕ MG1-EBVDNA1 внутривенно. Через пять дней после бустирования брали кровь и оценивали иммунные ответы путем проточной цитометрии.

[00158] Анализ иммунных ответов проводили следующим образом: кровь забирали путем ретроорбитального кровопускания с использованием гепаринизированного капилляра и кровь собирали в гепарин. Затем эритроциты лизировали с использованием лизирующего буфера АСК и полученные МКПК анализировали на предмет иммунных ответов на опухолевые антигены. МКПК либо инкубировали в отсутствии пептида, либо стимулировали 2 мкг/мл пептидов (VYGGSKTSL) всего в течение 5 часов с добавлением golgi plug через 1 час после начала стимуляции. После стимуляции МКПК окрашивали на предмет CD4, CD8 и IFN $\gamma$ , и анализировали на FACSCanto и FlowJo. Отвечающие Т-клетки детектировали после внутриклеточного окрашивания цитокинов (ICS) на предмет IFN- $\gamma$  путем проточной цитометрии. Значения, полученные от нестимулированных МКПК, рассматривали в качестве фоновых и вычитали из значений, полученных от стимулированных МКПК. Данные представляют собой среднее значение +/- SEM. Пептиды EBVDNA1 не могли стимулировать выработку IFN- $\gamma$  в CD8 Т-клетках,



что указывает на отсутствие иммунного ответа, как показано в таблице 4.

**Таблица 4. Иммунный ответ на вакцинацию EBVDNA1 по типу прайм-буст**

Симулирующий пептидный эпитоп	Процент CD8 Т-клеток, секретирующих интерферон (IFN) $\gamma$			
	Контрольная группа Примирующий вектор: лентивирус-GFP Бустер-вектор: MG1-GFP		Иммуно-группа Примирующий вектор: лентивирус-EBVDNA1 Бустер-вектор: MG1-EBVDNA1 (N=5)	
VYGGSKTSL	0,055 $\pm$ 0,015 (после примирования)	0,01 $\pm$ 0,0058 (после бустирования)	0,008 $\pm$ 0,0049 (после примирования)	0,09 $\pm$ 0,05 (после бустирования)

[00159] Пример 10: влияние циклофосфамида на стратегию с применением вакцины на основе аденовируса-ОВ по типу прайм-буст:

[00160] Циклофосфамид (CPA) представляет собой химиотерапевтический агент, применяемый для лечения различных видов рака. Для эффективной химиотерапии требуются высокие дозы данного лекарственного средства. Считается, что высокие дозы CPA приводят к иммуносупрессии, тогда как низкие дозы указанного лекарственного средства могут приводить к усилению иммунных ответов на различные антигены. Удивительным образом, в стратегии гетерологичной вакцинации прайм-буст согласно настоящему изобретению CPA приводит к повышению иммунного ответа при введении только до примирования иммунной системы первым вирусом.

[00161] Для получения метастазов в легких мышам C57 B1/6 (в возрасте 8-10 недель в начале исследования) внутривенно вводили путем инъекции  $2,5 \times 10^5$  клеток B16-F10 (клетки меланомы мыши, экспрессирующие антиген DCT мыши) в 200 мкл соленой воды в 0 день. Через пять дней после прививания B16-F10 мыши получали примирующую вакцину Ad-hDCT ( $2 \times 10^8$  БОЕ в 200 мкл ФБР внутримышечно) с последующей, спустя 14 дней, однократной внутривенной дозой VSV-hDCT ( $2 \times 10^9$  БОЕ в 200 мкл ФБР внутривенно) в качестве онколитической бустер-вакцины. Кроме того, мыши получали либо носитель, либо CPA (1 мг/20 г мыши, интраперитонеально) в день (-1) перед примированием и/или в 13 день перед бустированием. На фиг. 9 можно видеть, что CPA, вводимый перед примирующим вектором, значительно увеличивал выживаемость, тогда как CPA, вводимый перед бустер-вектором, не увеличивал выживаемость (данные не представлены).

[00162] В предшествующем описании в целях пояснения приведено множество подробностей для обеспечения полного понимания примеров. Вышеописанные примеры приведены только в качестве примера. Специалистом в данной области техники могут быть произведены изменения, модификации и вариации конкретных примеров в пределах объема, определяемого исключительно прилагаемой формулой изобретения.

Приложение А - белковые и нуклеотидные последовательности

Белковая последовательность полноразмерного MAGEA3 человека дикого типа (SEQ ID NO: 1):

MPLEQRSQHCKPEEGLEARGEALGLVGAQAPATEEQEAASSSSTLVEVTLGEVPAESP  
 DPPQSPQGASSLPTTMNYPLWSQSYEDSSNQEEEGPSTFPDLESEFQAALSRKVAELVHF  
 LLLKYRAREPVTKAEMLGSVVGNWQYFFPVIFSKASSSLQLVFGIELMEVDPIGHLIYFA  
 5 TCLGLSYDGLLDNQMIPKAGLLIIVLAIAREGDCAPEEKIWEELSVLEVFEGREDSILG  
 DPKKLLTQHFVQENYLEYRQVPGSDPACYEFLWGPRALVETSYVKVLHHMVKISGGPH  
 ISYPPLHEWVLREGEE\*

Последовательность ДНК, кодирующая полноразмерный MAGEA3 человека дикого  
 10 типа (SEQ ID NO: 2):

ATGCCTCTTGAGCAGAGGAGTCAGCACTGCAAGCCTGAAGAAGGCCTTGAGGCCCG  
 AGGAGAGGCCCTGGGCCTGGTGGGTGCGCAGGCTCCTGCTACTGAGGAGCAGGAGG  
 CTGCCTCCTCCTCTTCTACTCTAGTTGAAGTCACCCTGGGGGAGGTGCCTGCTGCCG  
 15 AGTCACCAGATCCTCCCCAGAGTCCTCAGGGAGCCTCCAGCCTCCCCACTACCATGA  
 ACTACCCTCTCTGGAGCCAATCCTATGAGGACTCCAGCAACCAAGAAGAGGAGGGG  
 CCAAGCACCTTCCCTGACCTGGAGTCCGAGTCCAAGCAGCACTCAGTAGGAAGGT  
 GGCCGAGTTGGTTCATTTTCTGCTCCTCAAGTATCGAGCCAGGGAGCCGGTCACAAA  
 20 GGCAGAAATGCTGGGGAGTGTCGTCGGAAATTGGCAGTATTTCTTTCCTGTGATCTT  
 CAGCAAAGCTTCCAGTTCCTTGCAGCTGGTCTTTGGCATCGAGCTGATGGAAGTGGA  
 CCCCATCGGCCACTTGTACATCTTTGCCACCTGCCTGGGCCTCTCCTACGATGGCCTG  
 CTGGGTGACAATCAGATCATGCCCAAGGCAGGCCTCCTGATAATCGTCCTGGCCATA  
 25 ATCGCAAGAGAGGGGCGACTGTGCCCCCTGAGGAGAAAATCTGGGAGGAGCTGAGTGT  
 GTTAGAGGTGTTTGAGGGGAGGGAAGACAGTATCTTGGGGGATCCCAAGAAGCTGC  
 TCACCCAACATTTTCGTGCAGGAAACTACCTGGAGTACCGGCAGGTCCCCGGCAGT  
 30 GATCCTGCATGTTATGAATTCCTGTGGGGTCCAAGGGCCCTCGTTGAAACCAGCTAT  
 GTGAAAGTCCTGCACCATATGGTAAAGATCAGTGGAGGACCTCACATTTCTACCCA  
 CCCCTGCATGAGTGGGTTTTGAGAGAGGGGGAAGAGTGA

Кодон-оптимизированная последовательность ДНК, кодирующая полноразмерный  
 35 белок MAGEA3 человека дикого типа (SEQ ID NO: 3):

ATGCCCCCTGGAGCAGCGGTCTCAGCATTGCAAGCCAGAGGAGGGCCTCGAGGCGAG  
 GGGCGAGGCCCTCGGCTTGGTGGGGGCGCAGGCTCCTGCAACCGAGGAGCAAGAGG

CCGCATCCAGTTCCTCTACCTGGTTGAGGTGACCTTGGGTGAGGTGCCCCGCCGCGG  
 AGAGCCCCGACCCGCCTCAAAGCCCCCAGGGTGCCAGCTCCCTGCCCACAACAATG  
 AACTACCCACTCTGGAGTCAGTCTTACGAGGACAGTAGTAACCAAGAGGAGGAGGG  
 5 ACCCTCCACATTCCCAGACCTGGAGTCTGAATTCCAGGCAGCATTGTCTAGAAAAGT  
 GGCCGAATTGGTGCACCTTCCTGCTGCTGAAGTATCGCGCCCCGCGAGCCAGTCACAAA  
 AGCTGAAATGCTGGGTTCTGTCTGTTGGGAAATTGGCAGTACTTCTTCCCCGTGATCTT  
 10 CAGTAAAGCGTCCAGCTCCTTGCAGCTGGTCTTTGGTATCGAGCTGATGGAGGTGGA  
 TCCCATCGGCCATCTGTATATCTTTGCCACATGCCTGGGCCTGAGCTACGATGGCCT  
 GCTGGGCGACAACCAGATCATGCCAAAAGCTGGCCTGCTGATCATCGTTCTGGCTAT  
 CATCGCTAGAGAAGGAGATTGCGCCCCCTGAAGAAAAGATCTGGGAGGAACTGAGCG  
 15 TCCTGGAAGTCTTTGAGGGTCGTGAAGACAGCATTCTCGGGGATCCCAAGAAGCTG  
 CTGACCCAGCACTTCGTGCAGGAGAACTATCTGGAGTACCGCCAGGTTCCCGGCAG  
 CGACCCCGCTTGCTACGAGTTCCTGTGGGGCCCCAGGGCCCTGGTCGAGACATCCTA  
 CGTGAAGGTCCTGCACCATATGGTTAAAATCAGCGGCGGCCCCCATATCTCTTATCC  
 20 GCCGCTCCACGAGTGGGTGCTCCGGGAGGGAGAGGAG

Белковая последовательность варианта полноразмерного MAGEA3 человека дикого типа (SEQ ID NO: 4):

MPLEQRSQHCKPEEGLEARGEALGLVGAQAPATEEQEAASSSSTLVEVTLGEVPAAESP  
 25 DPPQSPQGASSLPTTMNYPLWSQSYEDSSNQEEEGPSTFPDLESEFQAALSRKVAELVHF  
 LLLKYRAREPVTKAEMLGSVVGNWQYFFPVIFSKASSSLQLVFGIELMEVDPIGHLIYIFA  
 TCLGLSYDGLLDGNQIMPKAGLLIIVLAIHAREGDCAPEEKIWEELSVLEVFEGREDSILG  
 DPKLLTQHFVQENYLEYRQVPGSDPACYEFLWGPRLVETSYVKVLHHMVKISGGPH  
 30 ISYPPLHEWVLREGEDYKDDDDK\*

Последовательность ДНК, кодирующая вариант полноразмерного MAGEA3 человека дикого типа (SEQ ID NO: 5):

ATGCCCCTGGAACAGCGGAGCCAGCACTGCAAGCCCGAGGAAGGCCTGGAAGCCA  
 35 GAGGCGAAGCCCTGGGACTGGTGGGAGCCCAGGCCCTGCCACAGAAGAACAGGA  
 AGCCGCCAGCAGCAGCTCCACCCTGGTGGAAAGTGACCCTGGGCGAAGTGCCTGCCG  
 CCGAGAGCCCTGATCCCCCTCAGTCTCCTCAGGGCGCCAGCAGCCTGCCACACCA  
 TGAATAACCCCTGTGGTCCCAGAGCTACGAGGACAGCAGCAACCAGGAAGAGGAA  
 40 GGCCCCAGCACCTTCCCCGACCTGGAAAGCGAGTTCCAGGCCGCCCTGAGCCGGAA  
 GGTGGCAGAGCTGGTGCACCTCCTGCTGCTGAAGTACAGAGCCCGCGAGCCCGTGA  
 CCAAGGCCGAGATGCTGGGCAGCGTGGTGGGAAACTGGCAGTACTTCTTCCCCGTG

ATCTTCTCCAAGGCCAGCAGCTCCCTGCAGCTGGTGTTCGGCATCGAGCTGATGGAA  
 GTGGACCCCATCGGCCACCTGTACATCTTCGCCACCTGTCTGGGCCTGAGCTACGAC  
 GGCCTGCTGGGCGACAACCAGATCATGCCCAAGGCCGGCCTGCTGATCATCGTGCT  
 5 GGCCATCATTGCCCCGCGAGGGCGACTGCGCCCCTGAGGAAAAGATCTGGGAGGAAC  
 TGAGCGTGCTGGAAGTGTTTCGAGGGCAGAGAGGACAGCATCCTGGGCGACCCCAAG  
 AAGCTGCTGACCCAGCACTTCGTGCAGGAAAACTACCTGGAATACCGCCAGGTGCC  
 CGGCAGCGACCCCGCCTGTTACGAGTTCCTGTGGGGCCCCAGGGCTCTGGTGAAAA  
 10 CCAGCTACGTGAAGGTGCTGCACCACATGGTGAAAATCAGCGGCGGACCCACATC  
 AGCTACCCCCCACTGCACGAGTGGGTGCTGAGAGAGGGCGAAGAGGACTACAAGG  
 ACGACGACGACAAATGA

Белковая последовательность гибридного белка E6/E7 HPV (SEQ ID NO: 7):

15 MHQKRTAMFQDPQERPRKLPQLCTELQTTIHDIILECVYCKQQLLRREVYDFAFRDLCIV  
 YRDGNPYAVDKLKFYSKISEYRHYCYSVYGTTLQYQYNKPLCDLLIRINQKPLCPPEEKQ  
 RHLDDKKQRFHNIRGRWTGRCMSSCRSSRTRRETQLGGGGGAAAYMARFEDPTRRPYKLP  
 20 DLCTELNTSLQDIEITCVYCKTVLEL TEVF EFAFKDLFVVYRDSIPHA AHKIDFYSRIRELR  
 HYSDSVYGD TLEKLTNTGLYNLLIRLRQKPLNPAEKLRLHLEKRRFHNIA GHYRGQCHS  
 CCNRARQERLQRRRETQVGGGGGAAAYMHGDTPTLHEYMLDLQPETTDLYQLNDSSEE  
 EDEIDGPAGQAEPDRAHYNIVTFCCCKCDSTLRLCVQSTHVDIRTLEDLLMGTLGIVPICS  
 25 QKPGGGGGGAAAYMHGPKATLQDIVLHLEPQNEIPVDLLQLSDSEEENDEIDGVNHQHLPA  
 RRAEPQRHTMLCMCCCKCEARIKLVVESSADDLRAFQQLFLNTLSFVPWCASQQ\*

Последовательность ДНК для гибридного белка E6/E7 HPV (SEQ ID NO: 8):

30 ATGCATCAGAAGCGAACTGCTATGTTTCAGGACCCTCAGGAGCGGCCACGCAAACT  
 GCCTCAGCTGTGCACCGAACTGCAGACAACTATCCACGACATCATTCTGGAATGCGT  
 GTACTGTAAGCAGCAGCTGCTGAGGAGAGAGGTCTATGACTTCGCTTTTCGCGATCT  
 GTGCATCGTGTACCGAGACGGAAACCCATATGCAGTCGATAAGCTGAAGTTCTACA  
 GCAAGATCTCCGAATACAGGCATTACTGTTACAGCGTGTACGGGACCACACTGGAG  
 35 CAGCAGTATAACAAGCCCCTGTGCGACCTGCTGATCAGAATTAATCAGAAGCCCCCT  
 GTGCCCTGAGGAAAAACAGAGGCACCTGGATAAGAAACAGAGATTTTCATAACATCC  
 GAGGACGATGGACCGGGCGGTGCATGTCCTGCTGTAGAAGCTCCCGGACTCGACGA  
 GAGACCCAGCTGGGCGGAGGAGGAGGAGCAGCTTACATGGCACGATTTCGAGGACC  
 40 CTACCCGAAGGCCATATAAGCTGCCCCGACCTGTGCACAGAACTGAATACTTCTCTGC  
 AGGACATCGAGATTACATGCGTGTACTGTAAAACCGTCCTGGAGCTGACAGAAGTG  
 TTCGAGTTTGCTTTCAAGGACCTGTTTGTGGTCTACCGGGATTCAATCCCTCACGCAG

CCCATAAAATCGACTTCTACAGCAGGATCAGGGAACTGCGCCACTACTCCGACAGC  
 GTGTACGGGGATACACTGGAGAAGCTGACAAACACTGGCCTGTACAATCTGCTGAT  
 CCGACTGCGACAGAAGCCACTGAACCCAGCCGAAAAACTGAGACACCTGAACGAG  
 5 AAGAGACGGTTTCACAATATTGCAGGCCATTATAGGGGACAGTGCCATAGTTGCTGT  
 AATCGAGCCAGGCAGGAAAGACTGCAGCGCCGAAGGGAGACTCAAGTCGGCGGAG  
 GAGGAGGAGCTGCATACATGCACGGCGACACCCCCACACTGCATGAATATATGCTG  
 10 GATCTGCAGCCTGAGACTACCGACCTGTACCAGCTGAACGATTCTAGTGAGGAAGA  
 GGACGAAATCGACGGACCAGCAGGACAGGCAGAGCCTGACCGGGCCCCACTATAAT  
 ATTTGTGACATTCTGCTGTAAGTGCGATTCTACTCTGCGGCTGTGCGTGCAGAGTACT  
 CATGTCGACATCCGCACCCTGGAGGATCTGCTGATGGGGACTCTGGGCATCGTCCCA  
 15 ATTTGTAGCCAGAAACCAGGCGGCGGCGGCGGAGCAGCTTACATGCACGGACCCAA  
 GGCTACCCTGCAGGACATCGTGCTGCATCTGGAACCTCAGAATGAGATTCCAGTCGA  
 CCTGCTGCAGCTGAGTGATTCAGAAGAGGAAAACGACGAGATCGACGGCGTGAATC  
 ACCAGCATCTGCCTGCTAGACGGGCAGAGCCACAGCGACACACAATGCTGTGCATG  
 20 TGCTGTAAGTGTGAAGCCAGGATCAAGCTGGTGGTCGAGTCAAGCGCCGACGATCT  
 GCGCGCCTTCCAGCAGCTGTTCTGAATACTCTGTCAATTTGTCCCTTGGTGTGCCTCC  
 CAGCAGTGA

Белковая последовательность белка huSTEAP (SEQ ID NO: 10):

25 MESRKDITNQEELWKMKPRRNLEEDDYLHKDTGETSMLKRPVLLHLHQTAHADEFDCP  
 SELQHTQELFPQWHLPIKIAAIIASLTFLYTLLREVIHPLATSHQQYFYKIPILVINKVLPM  
 VSITLLALVYLPGVIAAIVQLHNGTKYKKFPHWLDKWMLTRKQFGLLSFFFVLAHAIYS  
 LSYPMRRSYRYKLLNWAYQQVQQNKEDA WIEHDVWRMEIYVSLGIVGLAILALLAVTS  
 30 IPSVSDSLTWREFHYIQSKLGIVSLLLGTIHALIFAWNKWIDIKQFVWYTPPTFMIAVFLPI  
 VVLIFKSILFLPLRKKILKIRHWEDVTKINKTEICSQLKL\*

Последовательность ДНК для белка huSTEAP (SEQ ID NO: 11):

35 ATGGAATCACGGAAGGACATCACTAATCAGGAGGAACTGTGGAAAATGAAGCCAA  
 GAAGGAATCTGGAAGAGGACGACTATCTGCACAAGGACACCGGCGAAACAAGTAT  
 GCTGAAACGACCAGTGCTGCTGCACCTGCATCAGACTGCTCACGCAGACGAGTTTG  
 ATTGCCCTCTGAACTGCAGCACACCCAGGAGCTGTTCCACAGTGGCATCTGCCCA  
 40 TCAAGATTGCCGCTATCATTGCTTCACTGACATTTCTGTACACTCTGCTGAGAGAAG  
 TGATCCACCCCCTGGCCACCAGCCATCAGCAGTACTTCTATAAGATCCCTATCCTGG  
 TCATCAACAAGGTCCTGCCAATGGTGAGCATCACACTGCTGGCCCTGGTCTACCTGC  
 CTGGAGTGATCGCAGCCATTGTCCAGCTGCACAATGGGACAAAGTATAAGAAATTT

CCACATTGGCTGGATAAGTGGATGCTGACTAGGAAACAGTTCGGACTGCTGTCCTTC  
 TTTTTCGCCGTGCTGCACGCTATCTACAGCCTGTCCTATCCCATGAGGAGGAGCTAC  
 CGGTATAAGCTGCTGAACTGGGCTTACCAGCAGGTGCAGCAGAACAAGGAGGACGC  
 5 ATGGATTGAACATGACGTGTGGCGCATGGAAATCTACGTGAGCCTGGGCATTGTCG  
 GACTGGCCATCCTGGCTCTGCTGGCAGTGACCAGTATCCCTTCTGTCAGTGACTCAC  
 TGACATGGAGAGAGTTTCACTACATTCAGAGCAAGCTGGGGATCGTGTCCCTGCTGC  
 TGGGCACCATCCATGCACTGATTTTTGCCTGGAACAAGTGGATCGATATCAAGCAGT  
 10 TCGTGTGGTATACTCCCCCTACCTTTATGATTGCCGTCTTCCTGCCCATCGTGGTCCT  
 GATCTTCAAGTCCATCCTGTTCTGCTGCGGAAGAAAATCCTGAAAATTCG  
 GCACGGATGGGAGGATGTCACCAAAATCAATAAGACTGAAATCTGTAGCCAGCTGA  
 AGCTTTAA

15 Белковая последовательность белка NYESO1 MAR (SEQ ID NO: 13):

MQAEGRGTTGGSTGDADGPGGPGIPDGPGGNAGGPGEAGATGGRGPRGAGAARASGPG  
 GGAPRGPHGGAASGLNGCCRCGARGPESRLLEFYLAMPFATPMEAEELARRSLAQDAPP  
 20 LPVPGVLLKEFTVSGNILTIRLTAADHRQLQLSISSCLQQLSLLMWITQCFLPVFLAQPPS  
 GQRR\*

Последовательность ДНК для NYESO1 MAR (SEQ ID NO: 14):

ATGCAGGCCGAGGGCAGAGGCACAGGCGGATCTACAGGCGACGCCGATGGCCCTG  
 25 GCGGCCCTGGAATTCCTGACGGACCTGGCGGCAATGCCGGCGGACCCGGAGAAGCT  
 GGCGCCACAGGCGGAAGAGGACCTAGAGGCGCTGGCGCCGCTAGAGCTTCTGGACC  
 AGGCGGAGGCGCCCCTAGAGGACCTCATGGCGGAGCCGCCTCCGGCCTGAACGGCT  
 GTTGCAGATGTGGAGCCAGAGGCCCGAGAGCCGGCTGCTGGAATTCTACCTGGCC  
 30 ATGCCCTTCGCCACCCCCATGGAAGCCGAGCTGGCCAGACGGTCCCTGGCCCAGGA  
 TGCTCCTCCTCTGCCTGTGCCCCGGCGTGCTGCTGAAAGAATTCACCGTGTCCGGCAA  
 CATCCTGACCATCCGGCTGACTGCCGCCGACCACAGACAGCTCCAGCTGTCTATCAG  
 CTCCTGCCTGCAGCAGCTGAGCCTGCTGATGTGGATCACCCAGTGCTTTCTGCCCGT  
 35 GTTCCTGGCTCAGCCCCCAGCGGCCAGAGAAGATGA

Белковая последовательность EBDNA1 (SEQ ID NO: 16):

MPVGQADYFEYHQEGGPDGEPDMPPGAIEQGPADDPGEGPSTGPRGQGDGGRRKGG  
 WFGKHRGQGGSNQKFENIADGLRTLARCHVERTTDEGTWVAGVFVYGGSKTSLYNL  
 40 RRGISLAIPQCRLTPLSRLPFGMAPGPGPQPGPLRESIVCYFIVFLQTHIFAEGLKDAIKDL  
 VMPKPAPTCNIKATVCSFDDGVDLPPWFPPMVEGAAEGDDGDDGDDGDEGGDGDGEG  
 EEGQE\*

45 Последовательность ДНК для EBDNA1 (SEQ ID NO: 17):



ATGCCAGTCGGCCAGGCTGATTACTTTGAATACCACCAGGAGGGGGGACCAGACGG  
 AGAACCAGACATGCCACCAGGAGCCATTGAACAGGGACCAGCAGACGATCCTGGA  
 GAGGGACCATCAACTGGACCCCGAGGACAGGGGGACGGCGGAAGGAGAAAGAAAAG  
 5 GGGGATGGTTTCGGAAAGCACCGAGGACAGGGAGGGAGCAACCAGAAATTTGAAAA  
 TATCGCTGACGGCCTGCGAACACTGCTGGCAAGGTGCCATGTGGAGAGAACCACAG  
 ATGAAGGCACATGGGTTCGCCGAGTGTTTCGTCTACGGCGGAAGCAAGACTTCCCTG  
 10 TATAACCTGCGGCGCGGCATCTCTCTGGCCATTCCACAGTGCCGGCTGACCCCTCTG  
 AGTCGCCTGCCATTCGGGATGGCTCCTGGACCAGGACCACAGCCTGGACCACTGAG  
 GGAGTCCATCGTGTGCTACTTCATTGTCTTTCTGCAGACACACATCTTTGCCGAAGG  
 CCTGAAGGACGCCATCAAGGACCTGGTCATGCCCAAGCCTGCACCAACTTGCAATA  
 15 TCAAGGCCACCGTGTGCAGTTTCGACGATGGCGTGGACCTGCCCCCTTGGTTTCCAC  
 CTATGGTGGAGGGAGCCGCTGCAGAAGGGGACGATGGCGATGACGGGGACGATGG  
 GGATGAAGGCGGGGACGGCGATGAGGGAGAAGAGGGGGCAGGAATAA

(57) Формула изобретения

1. Применение для лечения пациента с раком, экспрессирующим  
 опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, выделенной вирусной частицы  
 Maraba MG1, содержащей нуклеиновую кислоту, которая способна экспрессировать  
 опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, причем указанный антигенный  
 белок содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на  
 25 70% идентична SEQ ID NO: 1, и включает по меньшей мере один  
 опухолеассоциированный эпитоп MAGEA3, выбранный из группы, состоящей из:  
 FLWGPRALV (SEQ ID NO: 27), KVAELVHFL (SEQ ID NO: 28), EGDCAPEEK (SEQ ID  
 NO: 35), KKLLTQHFVQENYLEY (SEQ ID NO: 36) и RKVAELVHFLLLKYR (SEQ ID NO:  
 37), причем указанный антигенный белок способен индуцировать иммунный ответ у  
 30 указанного пациента в гетерологичном прайм-буст формате, и  
 первого вируса, причем указанный первый вирус представляет собой аденовирус,  
 содержащий нуклеиновую кислоту, способную экспрессировать  
 опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, причем указанный антигенный  
 белок содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на  
 35 70% идентична SEQ ID NO: 1, и включает по меньшей мере один  
 опухолеассоциированный эпитоп MAGE A3, выбранный из группы, состоящей из:  
 FLWGPRALV (SEQ ID NO: 27), KVAELVHFL (SEQ ID NO: 28), EGDCAPEEK (SEQ ID  
 NO: 35), KKLLTQHFVQENYLEY (SEQ ID NO: 36) и RKVAELVHFLLLKYR (SEQ ID NO:  
 37), причем указанный первый вирус вводят в количестве, подходящем для выработки  
 40 иммунитета к указанному антигенному белку у указанного пациента, при этом:  
 а) указанную вирусную частицу Maraba MG1 вводят в количестве, подходящем для  
 обеспечения терапевтического онколитического эффекта у указанного пациента,  
 б) указанный первый вирус иммунологически отличается от вирусной частицы Maraba  
 MG1,  
 45 в) указанный первый вирус представляет собой примирующий вирус и его вводят до  
 указанной вирусной частицы Maraba MG1, и  
 д) указанная вирусная частица Maraba MG1 представляет собой буст-вирус и ее вводят  
 по меньшей мере дважды после введения указанного первого вируса.

2. Применение по п. 1, отличающееся тем, что указанный опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, экспрессируемый указанным первым вирусом, указанной выделенной вирусной частицей Maraba MG1 или ими обоими, по меньшей мере на 80% идентичен SEQ ID NO: 1.

5 3. Применение по п. 1, отличающееся тем, что указанный опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, экспрессируемый указанным первым вирусом, указанной выделенной вирусной частицей Maraba MG1 или ими обоими, по меньшей мере на 90% идентичен SEQ ID NO: 1.

10 4. Применение по п. 1, отличающееся тем, что указанный опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, экспрессируемый указанным первым вирусом, указанной выделенной вирусной частицей Maraba MG1 или ими обоими, по меньшей мере на 95% идентичен SEQ ID NO: 1.

15 5. Применение по п. 1, отличающееся тем, что указанный опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, экспрессируемый указанным первым вирусом, указанной выделенной вирусной частицей Maraba MG1 или ими обоими, имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1.

20 6. Применение по п. 1, отличающееся тем, что указанный опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, экспрессируемый указанным первым вирусом, указанной выделенной вирусной частицей Maraba MG1 или ими обоими, имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4.

25 7. Применение по п. 1, отличающееся тем, что указанная вирусная частица Maraba MG1 содержит обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2, 3 или 5; или указанная вирусная частица Maraba MG1 содержит обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 6.

8. Применение по п. 1, отличающееся тем, что:

указанная вирусная частица Maraba MG1 содержит нуклеиновую кислоту, способную экспрессировать опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3 с последовательностью SEQ ID NO: 1, и указанный первый вирус содержит нуклеиновую кислоту, которая способна экспрессировать опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3 с последовательностью SEQ ID NO: 1, причем:

а) указанную вирусную частицу Maraba MG1 вводят внутривенно первый раз примерно через 2 недели после внутримышечного введения указанного первого вируса, и при этом

35 б) указанную вирусную частицу Maraba MG1 вводят внутривенно примерно через 3 дня после указанного первого внутривенного введения указанной вирусной частицы Maraba MG1.

9. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина для лечения пациента с раком, экспрессирующим опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, содержащая: первый вирус, причем указанный первый вирус представляет собой аденовирус, содержащий нуклеиновую кислоту, способную экспрессировать опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, который содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO: 1, и включает по меньшей мере один опухолеассоциированный эпитоп MAGEA3, выбранный из группы, состоящей из: FLWGPRALV (SEQ ID NO: 27), KVAELVHFL (SEQ ID NO: 28), EGDCAPEEK (SEQ ID NO: 35), KKLLTQHFVQENYLEY (SEQ ID NO: 36) и RKVAELVHFLLLKYR (SEQ ID NO: 37), в количестве, подходящем для выработки иммунитета к указанному антигенному белку у указанного пациента,



и

второй вирус, представляющий собой вирус Maraba MG1, содержащий нуклеиновую кислоту, которая способна экспрессировать опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, причем указанный антигенный белок содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO: 1, и включает по меньшей мере один опухолеассоциированный эпитоп MAGEA3, выбранный из группы, состоящей из: FLWGPRALV (SEQ ID NO: 27), KVAELVHFL (SEQ ID NO: 28), EGDCAPEEK (SEQ ID NO: 35), KKLLTQHFVQENYLEY (SEQ ID NO: 36) и RKVAELVHFLLLKYR (SEQ ID NO: 37), в количестве, подходящем для терапевтического онколитического эффекта у указанного пациента, при этом:

а) указанный первый вирус иммунологически отличается от указанного второго вируса,

б) указанный первый вирус представляет собой примиряющий вирус и его вводят до указанного второго вируса, и

с) указанный второй вирус вводят по меньшей мере дважды после введения указанного первого вируса.

10. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что

а) указанный первый вирус представляет собой вирус с минус-нитью РНК и содержит обратно-комплементарную и РНК-версию транскена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 2; или

б) указанный первый вирус представляет собой ДНК-вирус или вирус с плюс-смысловой РНК и содержит транскен, содержащий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 2; или

с) указанный второй вирус содержит обратно-комплементарную и РНК-версию транскена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 2; или

д) (i) указанный первый вирус представляет собой вирус с минус-нитью РНК и включает обратно-комплементарную и РНК-версию транскена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 2, и указанный второй вирус включает обратно-комплементарную и РНК-версию транскена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 2, или

(ii) первый вирус представляет собой ДНК-вирус или вирус с плюс-смысловой РНК и содержит транскен, содержащий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 2, и указанный второй вирус содержит обратно-комплементарную и РНК-версию транскена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 2.

11. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что

а) указанный первый вирус представляет собой вирус с минус-нитью РНК и содержит обратно-комплементарную и РНК-версию кодон-оптимизированного транскена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3; или

б) указанный первый вирус представляет собой ДНК-вирус или вирус с плюс-смысловой РНК и содержит кодон-оптимизированный транскен, содержащий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3; или

с) указанный второй вирус содержит обратно-комплементарную и РНК-версию кодон-оптимизированного транскена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3; или

д) (i) первый вирус представляет собой вирус с минус-нитью РНК и содержит обратно-комплементарную и РНК-версию кодон-оптимизированного транскена, содержащего

нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3, и указанный второй вирус включает обратно-комплементарную и РНК-версию кодон-оптимизированного трансгена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3, или

(ii) указанный первый вирус представляет собой ДНК-вирус или вирус с плюс-смысловой РНК и содержит кодон-оптимизированный трансген, содержащий нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3, и указанный второй вирус включает обратно-комплементарную и РНК-версию кодон-оптимизированного трансгена, содержащего нуклеотидную последовательность SEQ ID NO: 3.

12. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, экспрессируемый указанным первым вирусом, указанным вторым вирусом или ими обоими, по меньшей мере на 80% идентичен SEQ ID NO: 1.

13. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, экспрессируемый указанным первым вирусом, указанным вторым вирусом или ими обоими, по меньшей мере на 90% идентичен SEQ ID NO: 1.

14. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, экспрессируемый указанным первым вирусом, указанным вторым вирусом или ими обоими, по меньшей мере на 95% идентичен SEQ ID NO: 1.

15. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, экспрессируемый указанным первым вирусом, указанным вторым вирусом или ими обоими, имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 1.

16. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, экспрессируемый указанным первым вирусом, указанным вторым вирусом или ими обоими, имеет аминокислотную последовательность SEQ ID NO: 4 или кодируется нуклеотидной последовательностью SEQ ID NO: 5.

17. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по любому из пп. 9-16, отличающаяся тем, что указанный опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, экспрессируемый указанным первым вирусом, и указанный опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, экспрессируемый указанным вторым вирусом, экспрессируемый первым вирусом, идентичны.

18. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что

а) указанный первый вирус представляет собой вирус с минус-смысловой РНК и включает обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности, кодирующей опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3 последовательности SEQ ID NO: 4, и указанный второй вирус включает обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности, кодирующей опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3 последовательности SEQ ID NO: 1; или

б) указанный первый вирус представляет собой вирус с минус-смысловой РНК и включает обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности, кодирующей опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3 последовательности SEQ ID NO: 1, и указанный второй вирус включает обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности, кодирующей опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3 последовательности SEQ ID NO: 4; или

с) указанный первый вирус представляет собой ДНК- или РНК-вирус и включает нуклеотидную последовательность, кодирующую опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3 последовательности SEQ ID NO: 4, и указанный второй вирус включает обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности, кодирующей опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3 последовательности SEQ ID NO: 1; или

d) указанный первый вирус представляет собой ДНК- или РНК-вирус и включает нуклеотидную последовательность, кодирующую опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3 последовательности SEQ ID NO: 1, и указанный второй вирус включает обратно-комплементарную и РНК-версию нуклеотидной последовательности, кодирующей опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3 последовательности SEQ ID NO: 4.

19. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что по меньшей мере один из указанного первого вируса и указанного второго вируса содержит нуклеиновую кислоту, которая способна экспрессировать опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, который содержит последовательность SEQ ID NO: 1, и по меньшей мере один из указанного первого вируса и указанного второго вируса содержит нуклеиновую кислоту, которая способна экспрессировать опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3, который содержит последовательность SEQ ID NO: 4.

20. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный второй вирус первый раз вводят примерно через 24 часа после введения указанного первого вируса.

21. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный второй вирус первый раз вводят примерно через 2-4 дня после введения указанного первого вируса.

22. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный второй вирус первый раз вводят примерно через 1 неделю после введения указанного первого вируса.

23. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный второй вирус первый раз вводят примерно через 2 недели после введения указанного первого вируса.

24. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный второй вирус вводят примерно через 3 дня после первого введения указанного второго вируса.

25. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный первый вирус вводят внутримышечно.

26. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный второй вирус вводят внутривенно.

27. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный рак представляет собой меланому.

28. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный рак представляет собой немелкоклеточный рак легкого.

29. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный рак представляет собой рак головы и шеи.

30. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный рак представляет собой колоректальный рак.

31. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что указанный рак представляет собой рак мочевого пузыря.

32. Онколитическая гетерологичная вирусная прайм-буст вакцина по п. 9, отличающаяся тем, что:

5       указанный первый вирус содержит нуклеиновую кислоту, способную экспрессировать опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3 последовательности SEQ ID NO: 1, и указанный второй вирус содержит нуклеиновую кислоту, способную экспрессировать опухолеассоциированный антигенный белок MAGEA3 of SEQ ID NO: 1; причем:

а) указанный второй вирус вводят внутривенно первый раз примерно через 2 недели  
10   после внутримышечного введения указанного первого вируса; и при этом

б) указанный вирус вводят внутривенно примерно через 3 дня после первого внутривенного введения указанного второго вируса.

33. Применение выделенной вирусной частицы Maraba MG1, содержащей нуклеиновую кислоту, которая способна экспрессировать опухолеассоциированный антигенный  
15   белок MAGEA3, причем указанный антигенный белок содержит аминокислотную последовательность, которая по меньшей мере на 70% идентична SEQ ID NO: 1, и включает по меньшей мере один опухолеассоциированный эпитоп MAGEA3, выбранный из группы, состоящей из: FLWGPRALV (SEQ ID NO: 27), KVAELVHFL (SEQ ID NO: 28), EGDCAPEEK (SEQ ID NO: 35), KKLLTQHFVQENYLEY (SEQ ID NO: 36) и  
20   RKVAELVHFLLLKYR (SEQ ID NO: 37), причем указанный антигенный белок способен индуцировать иммунный ответ у указанного пациента в гетерологичном прайм-буст формате, для индукции иммунного ответа у пациента в гетерологичном прайм-буст формате для онколитической вирусной терапии.

25

30

35

40

45

## ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

<110> Children's Hospital of Eastern Ontario Research Institute  
Inc.  
Ottawa Hospital Research Institute  
McMaster University

<120> КОМПОЗИЦИЯ ВАКЦИНЫ

<130> PAT 7361W-90

<150> US 61/767,776

<151> 2013-02-21

<160> 25

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 314

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 1

Met Pro Leu Glu Gln Arg Ser Gln His Cys Lys Pro Glu Glu Gly Leu  
1 5 10 15

Glu Ala Arg Gly Glu Ala Leu Gly Leu Val Gly Ala Gln Ala Pro Ala  
20 25 30

Thr Glu Glu Gln Glu Ala Ala Ser Ser Ser Thr Leu Val Glu Val  
35 40 45

Thr Leu Gly Glu Val Pro Ala Ala Glu Ser Pro Asp Pro Pro Gln Ser  
50 55 60

Pro Gln Gly Ala Ser Ser Leu Pro Thr Thr Met Asn Tyr Pro Leu Trp  
65 70 75 80

Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Ser Ser Asn Gln Glu Glu Glu Gly Pro Ser  
85 90 95

Thr Phe Pro Asp Leu Glu Ser Glu Phe Gln Ala Ala Leu Ser Arg Lys  
100 105 110

Val Ala Glu Leu Val His Phe Leu Leu Leu Lys Tyr Arg Ala Arg Glu  
115 120 125

Pro Val Thr Lys Ala Glu Met Leu Gly Ser Val Val Gly Asn Trp Gln  
130 135 140

Tyr Phe Phe Pro Val Ile Phe Ser Lys Ala Ser Ser Ser Leu Gln Leu  
145 150 155 160

Val Phe Gly Ile Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr  
165 170 175

Ile Phe Ala Thr Cys Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Gly Leu Leu Gly Asp  
180 185 190

Asn Gln Ile Met Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ile Ile Val Leu Ala Ile  
195 200 205

Ile Ala Arg Glu Gly Asp Cys Ala Pro Glu Glu Lys Ile Trp Glu Glu  
210 215 220

Leu Ser Val Leu Glu Val Phe Glu Gly Arg Glu Asp Ser Ile Leu Gly  
225 230 235 240

Asp Pro Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu  
245 250 255

Glu Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro Ala Cys Tyr Glu Phe Leu  
260 265 270

Trp Gly Pro Arg Ala Leu Val Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu His  
275 280 285

His Met Val Lys Ile Ser Gly Gly Pro His Ile Ser Tyr Pro Pro Leu  
290 295 300

His Glu Trp Val Leu Arg Glu Gly Glu Glu  
305 310

<210> 2  
<211> 945  
<212> ДНК  
<213> Homo sapiens

<400> 2  
atgcctcttg agcagaggag tcagcactgc aagcctgaag aaggccttga ggcccaggga 60  
gaggccctgg gcctgggtggg tgcgcaggct cctgctactg aggagcagga ggctgcctcc 120  
tcctcttcta ctctagtga agtcaccctg ggggaggtgc ctgctgccga gtcaccagat 180  
cctccccaga gtcctcaggg agcctccagc ctccccacta ccatgaacta ccctctctgg 240  
agccaatcct atgaggactc cagcaaccaa gaagaggagg ggccaagcac cttccctgac 300  
ctggagtccg agttccaagc agcactcagt aggaaggtgg ccgagttggt tcattttctg 360  
ctcctcaagt atcgagccag ggagccggtc acaaaggcag aaatgctggg gagtgtcgtc 420  
ggaaattggc agtatttctt tcctgtgatc ttcagcaaag cttccagttc cttgcagctg 480  
gtctttggca tcgagctgat ggaagtggac cccatcggcc acttgtacat ctttgccacc 540  
tgcttgggcc tctcctacga tggcctgctg ggtgacaatc agatcatgcc caaggcaggc 600  
ctcctgataa tcgtcctggc cataatcgca agagaggcg actgtgcccc tgaggagaaa 660  
atctgggagg agctgagtgt gttagaggtg tttaggggga gggaagacag tatcttgggg 720  
gatccaaga agctgctcac ccaacatttc gtgcaggaaa actacctgga gtaccggcag 780

2

gtccccggca gtgacccctgc atgttatgaa ttcctgtggg gtccaagggc cctcgttgaa 840  
 accagctatg tgaaagtcct gcaccatatg gtaaagatca gtggaggacc tcacatttcc 900  
 taccaccccc tgcattgagtg ggttttgaga gagggggaag agtga 945

<210> 3  
 <211> 942  
 <212> ДНК  
 <213> Homo sapiens

<400> 3  
 atgcccctgg agcagcggtc tcagcattgc aagccagagg agggcctcga ggcgaggggc 60  
 gagggcctcg gcttggtggg ggcgcaggct cctgcaaccg aggagcaaga ggccgcatcc 120  
 agttcctcta ccctggttga ggtgaccttg ggtgaggtgc ccgccgcgga gagccccgac 180  
 ccgcctcaaa gccccaggg tgccagctcc ctgcccacaa caatgaacta cccactctgg 240  
 agtcagtctt acgaggacag tagtaaccaa gaggaggagg gaccctccac attcccagac 300  
 ctggagtctg aattccaggc agcattgtct agaaaagtgg ccgaattggt gcacttcctg 360  
 ctgctgaagt atcgcgcccg cgagccagtc acaaaagctg aaatgctggg ttctgtcgtg 420  
 ggaaattggc agtacttctt ccccgtagtc ttcagtaaag cgtccagctc cttgcagctg 480  
 gtctttggta tcgagctgat ggaggtggat cccatcggcc atctgtatat ctttgccaca 540  
 tgccctgggc tgagctacga tggcctgctg ggcgacaacc agatcatgcc aaaagctggc 600  
 ctgctgatca tcgttctggc tatcatcgct agagaaggag attgcgcccc tgaagaaaag 660  
 atctgggagg aactgagcgt cctggaagtc tttgagggtc gtgaagacag cattctcggg 720  
 gatccaaga agctgctgac ccagcacttc gtgcaggaga actatctgga gtaccgccag 780  
 gttccccgga gcgaccccgc ttgctacgag ttcctgtggg gccccagggc cctggctcag 840  
 acatcctacg tgaaggtcct gcaccatatg gttaaaatca gcggcgggcc ccatatctct 900  
 tatccgccgc tccacgagtg ggtgctccgg gagggagagg ag 942

<210> 4  
 <211> 322  
 <212> PRT  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Неизвестный организм

<400> 4

Met Pro Leu Glu Gln Arg Ser Gln His Cys Lys Pro Glu Glu Gly Leu  
 1 5 10 15

Glu Ala Arg Gly Glu Ala Leu Gly Leu Val Gly Ala Gln Ala Pro Ala  
 20 25 30

Thr Glu Glu Gln Glu Ala Ala Ser Ser Ser Ser Thr Leu Val Glu Val  
 35 40 45

Thr Leu Gly Glu Val Pro Ala Ala Glu Ser Pro Asp Pro Pro Gln Ser  
 50 55 60  
 Pro Gln Gly Ala Ser Ser Leu Pro Thr Thr Met Asn Tyr Pro Leu Trp  
 65 70 75 80  
 Ser Gln Ser Tyr Glu Asp Ser Ser Asn Gln Glu Glu Glu Gly Pro Ser  
 85 90 95  
 Thr Phe Pro Asp Leu Glu Ser Glu Phe Gln Ala Ala Leu Ser Arg Lys  
 100 105 110  
 Val Ala Glu Leu Val His Phe Leu Leu Leu Lys Tyr Arg Ala Arg Glu  
 115 120 125  
 Pro Val Thr Lys Ala Glu Met Leu Gly Ser Val Val Gly Asn Trp Gln  
 130 135 140  
 Tyr Phe Phe Pro Val Ile Phe Ser Lys Ala Ser Ser Ser Leu Gln Leu  
 145 150 155 160  
 Val Phe Gly Ile Glu Leu Met Glu Val Asp Pro Ile Gly His Leu Tyr  
 165 170 175  
 Ile Phe Ala Thr Cys Leu Gly Leu Ser Tyr Asp Gly Leu Leu Gly Asp  
 180 185 190  
 Asn Gln Ile Met Pro Lys Ala Gly Leu Leu Ile Ile Val Leu Ala Ile  
 195 200 205  
 Ile Ala Arg Glu Gly Asp Cys Ala Pro Glu Glu Lys Ile Trp Glu Glu  
 210 215 220  
 Leu Ser Val Leu Glu Val Phe Glu Gly Arg Glu Asp Ser Ile Leu Gly  
 225 230 235 240  
 Asp Pro Lys Lys Leu Leu Thr Gln His Phe Val Gln Glu Asn Tyr Leu  
 245 250 255  
 Glu Tyr Arg Gln Val Pro Gly Ser Asp Pro Ala Cys Tyr Glu Phe Leu  
 260 265 270  
 Trp Gly Pro Arg Ala Leu Val Glu Thr Ser Tyr Val Lys Val Leu His  
 275 280 285  
 His Met Val Lys Ile Ser Gly Gly Pro His Ile Ser Tyr Pro Pro Leu  
 290 295 300  
 His Glu Trp Val Leu Arg Glu Gly Glu Glu Asp Tyr Lys Asp Asp Asp  
 305 310 315 320



Asp Lys

<210> 5  
 <211> 969  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

<220>  
 <223> Неизвестный организм

<400> 5  
 atgcccctgg aacagcggag ccagcactgc aagcccagg aaggcctgga agccagaggc 60  
 gaagccctgg gactggtggg agcccaggcc cctgccacag aagaacagga agccgccagc 120  
 agcagctcca ccctggtgga agtgaccctg ggcgaagtgc ctgccgccga gagccctgat 180  
 ccccctcagt ctctcaggg cgccagcagc ctgcccacca ccatgaacta ccccctgtgg 240  
 tcccagagct acgaggacag cagcaaccag gaagaggaag gccccagcac cttccccgac 300  
 ctggaagcg agttccaggc cgccctgagc cggaaggtgg cagagctggt gcacttcctg 360  
 ctgctgaagt acagagcccg cgagcccgtg accaaggccg agatgctggg cagcgtggtg 420  
 ggaaactggc agtacttctt ccccgtgatc ttctccaagg ccagcagctc cctgcagctg 480  
 gtgttcggca tcgagctgat ggaagtggac cccatcggcc acctgtacat cttcgccacc 540  
 tgtctgggccc tgagctacga cggcctgctg ggcgacaacc agatcatgcc caaggccggc 600  
 ctgctgatca tcgtgctggc catcattgcc cgcgagggcg actgcgcccc tgaggaaaag 660  
 atctgggagg aactgagcgt gctggaagtg ttcgagggca gagaggacag catcctgggc 720  
 gacccaaga agctgctgac ccagcacttc gtgcaggaaa actacctgga ataccgccag 780  
 gtgcccggca gcgacccgc ctgttacgag ttctgtggg gcccagggc tctggtggaa 840  
 accagctacg tgaaggtgct gcaccacatg gtgaaaatca gcggcggacc ccacatcagc 900  
 tccccccac tgcacgagtg ggtgctgaga gagggcgaag aggactacaa ggacgacgac 960  
 gacaaatga 969

<210> 6  
 <211> 14297  
 <212> ДНК  
 <213> Maraba virus

<400> 6  
 aagcttgata tcattcagga cgagcctcag actccagcgt aactggactg caatcaactc 60  
 actggctcac cttcacgggt gggcctttct tcggtagaaa atcaaaggat cttcttgaga 120  
 tccttttttt ctgctgctaa tctgctgctt gcaaacaaaa aaaccaccgc taccagcggc 180  
 ggtttggttg ccggatcaag agctaccaac tctttttccg aggtaactgg cttcagcaga 240  
 gcgcagatac caaatactgt tcttctagt tagccgtagt taggccacca cttcaagaac 300  
 tctgtagcac cgctacata cctcgctctg ctaatcctgt taccagtggc tgctgccagt 360  
 ggcgataagt cgtgtcttac cgggttggaac tcaagacgat agttaccgga taaggcgagc 420

cggtcgggct gaacggggggg ttcgtgcaca cagcccagct tggagcgaac gacctacacc	480
gaactgagat acctacagcg tgagctatga gaaagcgcca cgcttcccga agggagaaa	540
gcggacaggt atccggtaag cggcagggtc ggaacaggag agcgcacgag ggagcttcca	600
gggggaaacg cctggtatct ttatagtcct gtcgggtttc gccacctctg acttgagcat	660
cgatTTTTgt gatgctcgtc aggggggagg agcctatgga aaaacgccag caacgcagaa	720
aggcccccc gaaggtgagc cagggtatta catttgggcc ctcacagag gttttcaccg	780
tcacaccga aacgcgcgag gcagctgagg taaagctcat cagcgtggtc gtgaagcgat	840
tcacagatgt ctgctgttc atccgcgtcc agctcgttga gtttctccag aagcgттаат	900
gtctggcttc tgataaagcg ggccatgtta agggcggttt tttcctgttt ggtcatttag	960
aaaaactcat cgagcatcaa gtgaaactgc aatttattca tatcaggatt atcaatacca	1020
tatttttgaa aaagccgttt ctgtaatgaa ggagaaaact caccgaggca gttccatagg	1080
atggcaagat cctggtatcg gtctgagatt ccgactcgtc caacatcaat acaacctatt	1140
aatttccctt cgtcaaaaat aagggtatca agtgagaaat caccatgagt gacgactgaa	1200
tccggtgaga atggcaaaag cttatgcatt tctttccaga cttgttcaac aggccagcca	1260
ttacgctcgt catcaaaatc actcgacca accaaaccgt tattcattcg tgattgagcc	1320
tgagcgagac gaaatacgcg atcgccgtta aaaggacaat tacaacagg aatcgaatgc	1380
aaccggcgca ggaacactgc cagcgcatca acaatatttt cacctgaatc aggatattct	1440
tctaatacct ggaatgctgt tttccctggg atcgagtggt tgagtaacca tgcacatca	1500
ggagtacgga taaaatgctt gatggtcgga agaggcataa attccgtcag ccagtttagc	1560
ctgacctct catctgtaac atcattggca acgctacctt tgccatgttt cagaaacaac	1620
tctggcgcat cgggcttccc atacaatcga tagattgtcg cacctgattg cccgacatta	1680
tcgagagccc atttataccc atataaatca gcatccatgt tggaatttaa tcgaggcctc	1740
gagcaagacg tttcccgttg aatatggctc attttagctt ccttagctcc tgaaaatctc	1800
gataactcaa aaaatacgcc cggtagtgat cttatttcat tatggtgaaa gttggaacct	1860
cttacgtgcc gatcaagtca aaagcctccg gtcggaggct tttgactttc tgctatggag	1920
gtcaggtatg atttaaatgg tcagtattga gcatatctta gagaattcgt ctaatacgac	1980
tcactatagg gacgaagaca aacaaccat tgatagaatt aagaggctca tgaaaatcct	2040
taacagcgtt caaaatgtct gttacagtca agagagtcatt tgatgattca ctcacaccc	2100
ccaaattgcc tgcgaatgag gaccctgtgg agtaccctgc tgattatttc aaaaagtccc	2160
gtgatattcc ggtgtacata aacacgacca aaagtttgtc tgatttgcgg ggctatgttt	2220
atcaaggcct aaagtcaggc aacatctcta taattcatgt caacagttat ctgtatgcag	2280
cattaaaaga gatcagagga aaattggaca gagattggat caccttttgt atccaaatcg	2340
gaaaaacagg agatagcgtg gggatattcg atttactgac cctaaaacct ctagatggtg	2400
ttttaccaga tggggtgtct gatgctactc gaactagctc agacgatgca tggcttccac	2460

tgtatctatt	ggggttatac	agagttggtc	gaacacagat	gccagaatac	aggaagaagc	2520
tgatggatgg	tctgattaat	caatgtaaga	tgatcaatga	gcagtttgaa	ccactgttgc	2580
cagaaggaag	agatgtcttt	gatgtctggg	gaaatgacag	caattacaca	aagattgtgg	2640
ccgctgtaga	tatgttcttc	catatgttca	aaaagcatga	gaaggcctct	ttcaggtatg	2700
gcacaatagt	gtcaagattt	aaggattgtg	cagcattggc	tacatttggt	catctgtgta	2760
agatcactgg	tatgtccact	gaagatgtga	caacttggat	tctaaacagg	gaggtggctg	2820
atgagatggg	tcaaattgatg	taccaggac	aggagataga	taaggctgat	tcttacatgc	2880
cttatcta	cgacttaggt	ctgtcctcaa	aatctccata	ttcatcagtt	aaaaatccag	2940
ctttccattt	ttgggggtcaa	ttgaccgcat	tggtactgag	atcaaccaga	gccagaaatg	3000
cacgtcagcc	ggatgacatc	gagtatacat	ccctgaccac	tgctgggctg	ttgtatgcat	3060
atgccgttgg	ttcgtctgca	gacctggctc	aacaattcta	cgttggggac	aacaagtatg	3120
tgccagaaac	tggagatgga	ggattaacca	ccaatgcacc	gccacaaggg	cgagatgtgg	3180
tcgagtggct	tagttggttt	gaagatcaaa	acagaaaacc	tacccagac	atgctcatgt	3240
atgctaagag	agctgtcagt	gctttacaag	gattgaggga	gaagacgatt	ggcaagtacg	3300
ccaagtcaga	gtttgacaaa	tgacaactca	ctcaccatat	gtattactac	ctttgcttca	3360
tatgaaaaaa	actaacagcg	atcatggatc	agctatcaaa	ggtcaaggaa	ttccttaaga	3420
cttacgcgca	gttggatcaa	gcagtacaag	agatggatga	cattgagtct	cagagagagg	3480
aaaagactaa	ttttgatattg	tttcaggaag	aaggattgga	gattaaggag	aagccttcct	3540
attatcgggc	agatgaagaa	gagattgatt	cagatgaaga	cagcgtggat	gatgcacaag	3600
acttagggat	acgtacatca	acaagtccca	tcgaggggta	tgtggatgag	gagcaggatg	3660
attatgagga	tgagggaagt	aacgtggtgt	ttacatcgga	ctggaaacag	cctgagctgg	3720
aatccgacgg	ggatgggaaa	actctccgat	tgacgatacc	agatggattg	actggggagc	3780
agaagtcgca	atggcttgcc	acgattaagg	cagttgttca	gagtgtctaa	tattggaaca	3840
tctcagaatg	ttcatttgag	agttatgagc	aaggggtttt	gattagagag	agacaaatga	3900
ctcctgatgt	ctacaaagtc	actcctgttt	taaatgctcc	accggttcaa	atgacagcta	3960
atcaagatgt	ttggtctctc	agcagcactc	catttacatt	tttgcccaag	aaacaagggtg	4020
tgactccatt	gaccatgtcc	ttagaagaac	tcttcaacac	ccgagggtgaa	ttcatatctc	4080
tgggaggaaa	cgggaaaatg	agtcaccggg	aggccatcat	tctaggggtg	agacacaaga	4140
agctctataa	tcaagccaga	ctaaagtata	acttagcttg	aatatgaaaa	aaactaacag	4200
atatcaaaa	atatctctaa	ctcagtccat	tgtgttcagt	tcaatcatga	gctctctcaa	4260
gaaaattttg	ggtattaaag	ggaaagggaa	gaaatctaag	aaattaggtg	tggtccccc	4320
accctatgaa	gaagagactc	caatggaata	ttctccaagt	gcaccttatg	ataagtcatt	4380
gtttggagtc	gaagatatgg	atttccatga	tcaacgtcaa	ctccgatatg	agaaatttca	4440
cttctcattg	aagatgactg	tgagatcaaa	caaaccattt	cgaaattatg	atgacgttgc	4500

agcagcgggtg tccaattggg atcatatgta catcggcatg gcaggaaaac gtccttttta 4560  
 taagatatta gcattcatgg gttctactct attgaaggct acaccagccg tctgggctga 4620  
 ccaaggacag ccagaatatc atgctcactg tgaggggacga gcttacttgc cgcacgggtt 4680  
 agggccgacc cctccgatgt tgaatgtccc tgaacatttt cgccgtccat ttaacatcgg 4740  
 attattcaga gggacaatcg acataaccct ggtacttttc gatgatgaat ctgtagattc 4800  
 tgccccgggc atatgggacg attttaatgc atccagattg agcagcttca gagaaaaggc 4860  
 tttgttggtt gggttgattc tagaaaagaa agccactggg aattgggtat tggactctat 4920  
 tagtcatttc aagtaattat cacaagtgtt gaggtgatgg gcagactatg aaaaaacta 4980  
 acagggttca aacactcttg atcgaggtag ccagttatat ttgttacaac aatgttgaga 5040  
 ctttttctct tttgtttctt ggccttagga gccactcca aatttactat agtattccct 5100  
 catcatcaaa aagggaattg gaagaatgtg cttccacat atcattattg cccttctagt 5160  
 tctgaccaga attggcataa tgatttgact ggagttagtc ttcattgtgaa aattcccaaa 5220  
 agtcacaaag ctatacaagc agatggctgg atgtgccacg ctgctaaatg ggtgactact 5280  
 tgtgacttca gatggtacgg acccaaatac atcacgcatt ccatacactc tatgtcacc 5340  
 accctagaac agtgcaagac cagtattgag cagacaaagc aaggagtttg gattaatcca 5400  
 ggctttcccc ctcaaagctg cggatatgct acagtgcagc atgcagaggt ggttgttgta 5460  
 caagcaacac ctcatcatgt gttggttgat gagtacacag gagaatggat tgactcacia 5520  
 ttggtggggg gcaaatgttc caaggagggt tgtcaaacgg ttcacaactc gaccgtgtgg 5580  
 catgctgatt acaagattac agggctgtgc gagtcaaactc tggcatcagt ggatatcacc 5640  
 ttcttctctg aggatgggtc aaagacgtct ttgggaaaac cgaactctgg attcaggagt 5700  
 aatcactttg cttacgaaag tggagagaag gcatgccgta tgcagtactg cacacgatgg 5760  
 ggaatccgac taccttctgg agtatggttt gaattagtgg acaaagatct cttccaggcg 5820  
 gcaaaattgc ctgaatgtcc tagaggatcc agtatctcag ctcttctca gacttctgtg 5880  
 gatgttagtt tgatacaaga cgtagagagg atcttagatt actctctatg ccaggagacg 5940  
 tggagtaaga tacgagccaa gcttcctgta tctccagtag atctgagtta tctcgcccca 6000  
 aaaaatccag ggagcggacc ggccttctc atcattaatg gcactttgaa atatttcgaa 6060  
 acaagataca tcagagttga cataagtaat cccatcatcc ctacatggt gggaacaatg 6120  
 agtgaacca cgactgagcg tgaattgtgg aatgattggt atccatatga agacgtagag 6180  
 attggtccaa atgggggtgt gaaaactccc actgggttca agtttccgct gtacatgatt 6240  
 gggcacggaa tgttggttgc cgatctccac aaatcctccc aggtcaagt cttcgaacat 6300  
 ccacacgcaa aggacgctgc atcacagctt cctgatgatg agactttatt ttttggtgac 6360  
 acaggactat caaaaaaccc agtagagtta gtagaaggct ggttcagtag ctggaagagc 6420  
 acattggcat cgttctttct gattataggc ttgggggttg cattaatctt catcattcga 6480  
 attattgttg cgattcgcta taaatacaag gggaggaaga ccaaaaaat ttacaatgat 6540

gtcgagatga gtcgattggg aaataaataa cagatgacgc atgaggggtca gatcagattt 6600  
 acagcgtaag tgtgatattt aggattataa aggttcctta attttaattt gttacgcgtt 6660  
 gtatgaaaaa aactcatcaa cagccatcgc caccatgccc ctggaacagc ggagccagca 6720  
 ctgcaagccc gaggaaggcc tggaagccag aggcgaagcc ctgggactgg tgggagccca 6780  
 ggccccctgcc acagaagaac aggaagccgc cagcagcagc tccaccctgg tggaagtgc 6840  
 cctgggcgaa gtgcctgccg ccgagagccc tgatccccct cagtctcctc agggcgccag 6900  
 cagcctgccc accaccatga actaccccct gtggtcccag agctacgagg acagcagcaa 6960  
 ccaggaagag gaaggcccca gcaccttccc cgacctggaa agcgagttcc aggccgccct 7020  
 gagccggaag gtggcagagc tgggtgactt cctgctgctg aagtacagag cccgcgagcc 7080  
 cgtgaccaag gccgagatgc tgggcagcgt ggtgggaaac tggcagtact tcttccccgt 7140  
 gatcttctcc aaggccagca gctccctgca gctggtgttc ggcatcgagc tgatggaagt 7200  
 ggacccccatc ggccacctgt acatcttcgc cacctgtctg ggcctgagct acgacggcct 7260  
 gctgggcgac aaccagatca tgccaaggc cggcctgctg atcatcgtgc tggccatcat 7320  
 tgcccgcgag ggcgactgcg cccctgagga aaagatctgg gaggaactga gcgtgctgga 7380  
 agtggttcgag ggcagagagg acagcatcct gggcgacccc aagaagctgc tgaccagca 7440  
 cttcgtcgag gaaaactacc tggaataccg ccaggtgccc ggcagcgacc ccgcctgtta 7500  
 cgagttcctg tggggcccca gggctctggt ggaaccagc tacgtgaagg tgctgcacca 7560  
 catggtgaaa atcagcggcg gaccccatc cagctacccc cactgcacg agtgggtgct 7620  
 gagagagggc gaagaggact acaaggacga cgacgacaaa tgagtctgag cacgagttgc 7680  
 agacgcgttg tatgaaaaaa actcatcaac agccatcatg gatgttaacg attttgagtt 7740  
 gcatgaggac tttgcattgt ctgaagatga cttgtcact tcagaatttc tcaatccgga 7800  
 agaccaaag acatacctga atcatgccga ttataatttg aattctccct taatcagcga 7860  
 tgatattgat ttcctgatca agaaatataa tcatgagcaa attccgaaaa tgtgggatgt 7920  
 caagaattgg gagggagtgt tagagatggt gacagcctgt caagccagtc caattttatc 7980  
 tagcactatg cataagtggg tgggaaagt gctcatgtct gatgatcatg acgcaagcca 8040  
 aggcttcagt tttcttcag aagtggacaa agaagctgat ctgacgtttg aggtggtgga 8100  
 gacattcatt agaggatggg gaggtcgaga attgcagtag aagaggaaag acacatttcc 8160  
 ggactccttt agagttgcag cctcattgtg tcaaaaattc cttgatttgc acaaactcac 8220  
 tctgataatg aattcagttc ctgaagtcga acttaccaac ctacgaaaga attttaaggg 8280  
 aaaaaacagg aaagcaaaaa gcggaaatct gataaccaga ttgagggttc ccagtttagg 8340  
 tcctgctttt gtgactcagg gatgggtgta catgaagaag ttggaaatga ttatggatcg 8400  
 gaattttttt ttgatgttga aagacgttat catcgggagg atgcagacga tcctgtccat 8460  
 gatctcaaga gatgataatc tcttctccga gtctgatatc ttactgtat taaagatata 8520  
 ccgataggg gataagatat tagaaaggca agggacaaag ggttacgact tgatcaaaat 8580

gattgagcct atttctaact taaagatgat gaatctggca cgtaaatac gtcctctcat	8640
ccctacattt cctcattttg aaaaacatat tgctgactct gttaaggaag gatcgaaaa	8700
agacaaaggg attgagttta tatatgatca cattatgtca atccctgggtg tggacttgac	8760
cttagttatt tacggatcat ttcggcactg gggcatcct tttatcaact actatgaggg	8820
cttagagaag ctacacaagc aggttacaat gccaagact attgacagag aatatgcaga	8880
atgtcttgct agtgatctgg caagaatcgt tcttcagcaa caattcaatg aacataagaa	8940
atggtttgtt gatgtagata aagtcacaca atcccatcct ttcaaaagcc atatgaaaga	9000
gaatacttgg cctactgcag cccaagtcca ggattacggc gatcgctggc atcagctccc	9060
actcatcaa tgcttcgaaa tcccagattt gttagatcca tcgatcatct actcagacaa	9120
aagtcattcc atgaaccggt ctgaagtact acgacatgta agacttacac ctcatgtgcc	9180
cattccaagc aggaaagtat tgcagacaat gttggagact aaggcaacag actggaaaga	9240
gtttttaag aaaattgacg aagaggggtt agaggatgat gatcttgtca taggactcaa	9300
agggaaagag agagaattaa aaattgcggg aagattcttt tctttgatgt cctggaagct	9360
cagagagtat tttgtcatca ctgagtattt gattaagacg cactttgtcc cgatgtttaa	9420
agggttgacc atggcggatg acttgacagc ggtgataaag aagatgatgg acacatcttc	9480
aggacaagc ttagataatt atgaatccat ttgtatagcc aaccatattg actatgagaa	9540
gtggaacaat catcaagaa aagagtcgaa cgggcccgtg ttcaagggtga tgggtcaatt	9600
cttgggatat ccacgtctga ttgagagaac tcatgaattt tttgagaaga gtctgatata	9660
ttacaatgga cgaccagatc tgatgcgggt tcgaggaaat tctctagtca acgcctcatc	9720
tttaaatgtc tgctgggagg gtcaagctgg gggattagaa ggactgcgac agaagggatg	9780
gagtattcta aatttgcttg tcattcagag agaagcaaaa ataaggaaca ccgccgtgaa	9840
agtgcctagt caaggtgaca atcaggtgat atgtactcag tataaaacga agaatcccg	9900
gaatgatatt gagcttaagg cagctctaac acagatggta tctaataatg agatgattat	9960
gtctgcgatt aaatcaggca ccgagaaact gggctctttg attaatgatg atgagacaat	10020
gcaatctgct gattacctca attacgggaa ggttcccatt ttcagaggag taatcagagg	10080
ccttgagaca aaaagatggt cacgcgtgac ctgtgtgaca aatgatcaga ttccaacgtg	10140
tgccaacatt atgagctctg tgtcaactaa tgcattaact gtagcccat tggccgagaa	10200
tccagtcaat gccatcattc agtataacta ctttggaaaca tttgcaaggc tactgctgat	10260
gatgcatgac ccgctctgga ggatctctct gtatgaagtc caatcaaaaa ttccaggact	10320
tcacagtttg acatttaaat attctatggt gtatctggat ccttcgatag gaggagtctc	10380
cggaatgtca ctctcgagat tcctcataag atcatttcca gatccagtga cagaaagttt	10440
ggcgttctgg aaatttatcc actctcatgc aagaagcgat tcattaaagg agatatgtgc	10500
agtttttggg aatcctgaaa ttgcaagatt tcggctaact catgtcgata aattgggtgga	10560
agaccaacc tcattgaaca tagctatggg aatgagtcct gctaacttat taaagacaga	10620

ggtaaaaaa tgtctactgg aatcaaggca gagcatcaag aaccagattg taagagatgc 10680  
 tactattttac ctacaccatg aggaagacaa acttcgtagt ttcttatggt ccataacacc 10740  
 actgttccct cggttcttga gtgaattcaa atctgggaca ttcacgag tagcagatgg 10800  
 cctgatcagc ttatttcaga actctaggac tattcgaaat tcttttaaaa agcgttatca 10860  
 cagggaactt gatgatttaa taatcaagag cgaagtttcc tcaattatgc atttgggtaa 10920  
 gctacatttg aggcgaggct cagttcgtat gtggacttgc tcttctactc aggcgtatct 10980  
 tctccgattc cggtcattgg gaagatctgt tataggaacc acagtccctc atcccttaga 11040  
 gatgttagga caacatttta aaaaggagac tccttgcaagt gcttgcaaca tatccggatt 11100  
 agactatgta tctgtccact gtccgaatgg gattcatgac gtttttgaat cacgtggctc 11160  
 actccctgca tatttgggtt ctaaaacatc cgaatcaact tcgatcttgc agccgtggga 11220  
 gagagagagt aaagtaccgt tgattaagcg tgccacaagg cttcgtgatg caatttcatg 11280  
 gtttgtgtct cccgactcta acttggcctc aactatcctt aagaacataa atgcattaac 11340  
 aggagaagaa tggtaaaaga agcagcatgg atttaaaagg acgggatcgg cgttacacag 11400  
 gttctccaca tccaggatga gtcattggtg ttttgccttct cagagtacgg ctgccttgac 11460  
 tagattgatg gcaactactg aactatgag agatctggga gaacagaact atgatttcct 11520  
 gtttcaggcg acattattgt atgctcaa ataccacaact gtagtcagga atggatcatt 11580  
 tcatagctgc acggaccatt accatataac ctgcaaatct tgtctgaggg ccattgatga 11640  
 gattaccttg gattcagcga tggaatatag ccctccagat gtatcatcag ttttacaatc 11700  
 ttggaggaat ggagaaggct cttggggaca tgaagtga ccaatatacc cagttgaagg 11760  
 tgactggagg ggactatctc ctgttgaaca atcttatcaa gtcggacgct gtatcgggtt 11820  
 tctgttcggt gatctggcgt atagaaaatc atcccatgca gatgatagct ccatgtttcc 11880  
 gttatctata caaaacaaag tcagaggaag aggtttttta aaagggtt tggtgggtt 11940  
 aatgagagcc agttgttgcc aggtgatcca tcgtcgaagc ttagcccatc tgaagagacc 12000  
 ggctaattgca gtctatggag ggctgattta tttgatagac aaattgagtg catctgcccc 12060  
 ttttctttca ctgacgagac atggaccttt aagggaagaa ttagaaactg ttccacataa 12120  
 gataccgact tcttacccta cgagcaaccg agatatgggg gtgatagttc gtaattattt 12180  
 taaatatcag tgcagactgg tagaaaaagg tcggtacaag acacattatc ctcaattgtg 12240  
 gcttttctca gatgtgctgt ccattgattt cttaggacct ctgtctatat cttcaactct 12300  
 attgggtatt ctgtataaac agacgttatc ttctcgagac aaaaatgagt tgagagaact 12360  
 cgctaacttg tcttcattgt tgagatcagg agaaggatgg gaagatatcc atgtcaaatt 12420  
 cttctctaag gacactttac tctgccctga agagatccga catgcgtgca aatttgggat 12480  
 tgctaaggaa tccgctgttt taagctatta tcctccttgg tctcaagagt cttatggagg 12540  
 catcacctcg atccccgtat atttttcgac caggaagtat cccaaaattt tagatgtccc 12600  
 tcctcgggtt caaaacccat tggctctcggg tctacgattg gggcaactcc ctactggagc 12660

acattataag attaggagca ttgtaaagaa caagaacctt cgttatagag atttccttag 12720  
 ttgtggggat ggatctgggg ggatgaccgc ggcactattg agagaaaaca gacaaagtag 12780  
 gggaatcttc aacagcctgt tagagttagc cggatctctt atgagaggag catctccaga 12840  
 gcctccaagt gcaactggaga cgctcgggca agaacgatct aggtgtgtga atggaagcac 12900  
 atgttgggag tactcatctg acctaagcca aaaagagaca tgggattact tcttaagatt 12960  
 gaagagaggc ctgggtttga ccgtggactt aatcaccatg gacatggagg tcagagaccc 13020  
 taatacaagt ttgatgatag aaaagaacct caaagtttat ctgcatcaga tattagaacc 13080  
 aactggtgtc ttaatatata aaacatacgg gacctatatt gcgacacaaa cagataatat 13140  
 cctgacgata atcggctcctt tctttgagac ggttgaccta gtccagtccg aatacagcag 13200  
 ctcaaaaacg tccgaggtct atttttagg acgaggcttg cgctctcatg ttgacgaacc 13260  
 ctgggtggac tggccatcct taatggacaa ttggagatcc atttatgctt ttcgatgcc 13320  
 tactacagaa tttatcagag caaaaaagt ctgtgaaatt gacagtctta taggcattcc 13380  
 ggctcaattc attccagacc catttgtaaa tctcgagacc atgctacaga tagttggtgt 13440  
 tccaacagga gtttcgcatg ccgcagctct attatcatca caatatcaa atcaattggt 13500  
 cacaacgtca atattttata tgacactcgt gtcttattat aatgtaaacc atattcgaag 13560  
 aagccccaag cctttctctc ctccgtctga tggagtctca cagaacattg gttcagccat 13620  
 agtcggacta agtttttggg tgagtttgat ggagaatgat ctcggtattat acaaacaggc 13680  
 tctaggtgca ataaagacgt cattccctat tagatggtcc tctgtccaga ccaaggatgg 13740  
 gtttacaaa gaatggagaa ctaaaggaaa cggaattcct aaagattgtc gtctctcaga 13800  
 ctctttggct cagataggaa actggatcag agcgatggaa ttggttagga acaaaacgag 13860  
 gcaatcagga ttttctgaaa ccctatttga tcaattctgc ggacttgag accatcacct 13920  
 caaatggcgg aagttgggaa acagaacagg aattattgat tggctaaata atagaatttc 13980  
 atccattgac aaatccatct tggtgaccaa aagtgatctg catgacgaga actcatggag 14040  
 ggagtgaaga tgtattcttc cacctctcat tgggtgatac ccataatga aaaaaactat 14100  
 aagtacttta aactctcttt gttttttaat gtatatctgg ttttgttgtt tccgtgccgg 14160  
 ccatggtccc agcctcctcg ctggcggccg gtgggcaaca ttccgagggg accgtcccct 14220  
 cggtaatgac gaatgggaca accccttggg gcctctaaac gggctcttgag gggttttttg 14280  
 gtttaaacaa cgaattc 14297

<210> 7  
 <211> 527  
 <212> PRT  
 <213> Искусственная последовательность  
 <220>  
 <223> неизвестный организм  
 <400> 7



Met His Gln Lys Arg Thr Ala Met Phe Gln Asp Pro Gln Glu Arg Pro  
 1 5 10 15  
 Arg Lys Leu Pro Gln Leu Cys Thr Glu Leu Gln Thr Thr Ile His Asp  
 20 25 30  
 Ile Ile Leu Glu Cys Val Tyr Cys Lys Gln Gln Leu Leu Arg Arg Glu  
 35 40 45  
 Val Tyr Asp Phe Ala Phe Arg Asp Leu Cys Ile Val Tyr Arg Asp Gly  
 50 55 60  
 Asn Pro Tyr Ala Val Asp Lys Leu Lys Phe Tyr Ser Lys Ile Ser Glu  
 65 70 75 80  
 Tyr Arg His Tyr Cys Tyr Ser Val Tyr Gly Thr Thr Leu Glu Gln Gln  
 85 90 95  
 Tyr Asn Lys Pro Leu Cys Asp Leu Leu Ile Arg Ile Asn Gln Lys Pro  
 100 105 110  
 Leu Cys Pro Glu Glu Lys Gln Arg His Leu Asp Lys Lys Gln Arg Phe  
 115 120 125  
 His Asn Ile Arg Gly Arg Trp Thr Gly Arg Cys Met Ser Cys Cys Arg  
 130 135 140  
 Ser Ser Arg Thr Arg Arg Glu Thr Gln Leu Gly Gly Gly Gly Gly Ala  
 145 150 155 160  
 Ala Tyr Met Ala Arg Phe Glu Asp Pro Thr Arg Arg Pro Tyr Lys Leu  
 165 170 175  
 Pro Asp Leu Cys Thr Glu Leu Asn Thr Ser Leu Gln Asp Ile Glu Ile  
 180 185 190  
 Thr Cys Val Tyr Cys Lys Thr Val Leu Glu Leu Thr Glu Val Phe Glu  
 195 200 205  
 Phe Ala Phe Lys Asp Leu Phe Val Val Tyr Arg Asp Ser Ile Pro His  
 210 215 220  
 Ala Ala His Lys Ile Asp Phe Tyr Ser Arg Ile Arg Glu Leu Arg His  
 225 230 235 240  
 Tyr Ser Asp Ser Val Tyr Gly Asp Thr Leu Glu Lys Leu Thr Asn Thr  
 245 250 255  
 Gly Leu Tyr Asn Leu Leu Ile Arg Leu Arg Gln Lys Pro Leu Asn Pro  
 260 265 270

Ala Glu Lys<sub>275</sub> Leu Arg His Leu Asn<sub>280</sub> Glu Lys Arg Arg Phe<sub>285</sub> His Asn Ile  
 Ala Gly<sub>290</sub> His Tyr Arg Gly Gln<sub>295</sub> Cys His Ser Cys Cys<sub>300</sub> Asn Arg Ala Arg  
 Gln<sub>305</sub> Glu Arg Leu Gln Arg<sub>310</sub> Arg Arg Glu Thr Gln<sub>315</sub> Val Gly Gly Gly Gly<sub>320</sub>  
 Gly Ala Ala Tyr Met<sub>325</sub> His Gly Asp Thr Pro<sub>330</sub> Thr Leu His Glu Tyr Met<sub>335</sub>  
 Leu Asp Leu Gln<sub>340</sub> Pro Glu Thr Thr Asp<sub>345</sub> Leu Tyr Gln Leu Asn<sub>350</sub> Asp Ser  
 Ser Glu Glu<sub>355</sub> Glu Asp Glu Ile Asp<sub>360</sub> Gly Pro Ala Gly Gln<sub>365</sub> Ala Glu Pro  
 Asp Arg<sub>370</sub> Ala His Tyr Asn Ile<sub>375</sub> Val Thr Phe Cys Cys<sub>380</sub> Lys Cys Asp Ser  
 Thr<sub>385</sub> Leu Arg Leu Cys Val<sub>390</sub> Gln Ser Thr His Val<sub>395</sub> Asp Ile Arg Thr Leu<sub>400</sub>  
 Glu Asp Leu Leu Met<sub>405</sub> Gly Thr Leu Gly Ile<sub>410</sub> Val Pro Ile Cys Ser<sub>415</sub> Gln  
 Lys Pro Gly Gly<sub>420</sub> Gly Gly Gly Ala Ala<sub>425</sub> Tyr Met His Gly Pro<sub>430</sub> Lys Ala  
 Thr Leu Gln<sub>435</sub> Asp Ile Val Leu His<sub>440</sub> Leu Glu Pro Gln Asn<sub>445</sub> Glu Ile Pro  
 Val Asp<sub>450</sub> Leu Leu Gln Leu Ser<sub>455</sub> Asp Ser Glu Glu Glu<sub>460</sub> Asn Asp Glu Ile  
 Asp Gly Val Asn His Gln<sub>470</sub> His Leu Pro Ala Arg<sub>475</sub> Arg Ala Glu Pro Gln<sub>480</sub>  
 Arg His Thr Met<sub>485</sub> Leu Cys Met Cys Cys Lys<sub>490</sub> Cys Glu Ala Arg Ile<sub>495</sub> Lys  
 Leu Val Val Glu<sub>500</sub> Ser Ser Ala Asp Asp<sub>505</sub> Leu Arg Ala Phe Gln<sub>510</sub> Gln Leu  
 Phe Leu Asn<sub>515</sub> Thr Leu Ser Phe Val<sub>520</sub> Pro Trp Cys Ala Ser<sub>525</sub> Gln Gln

<210> 8  
 <211> 1584  
 <212> ДНК  
 <213> Искусственная последовательность

&lt;220&gt;

&lt;223&gt; Неизвестный организм

&lt;400&gt; 8

atgcatcaga agcgaactgc tatgtttcag gaccctcagg agcggccacg caaactgcct	60
cagctgtgca ccgaactgca gacaactatc cagcagatca ttctggaatg cgtgtactgt	120
aagcagcagc tgctgaggag agaggtctat gacttcgctt ttcgcgatct gtgcatcgtg	180
taccgagacg gaaacccata tgcagtcgat aagctgaagt tctacagcaa gatctccgaa	240
tacaggcatt actgttacag cgtgtacggg accacactgg agcagcagta taacaagccc	300
ctgtgcgacc tgctgatcag aattaatcag aagcccctgt gccctgagga aaaacagagg	360
cacctggata agaaacagag atttcataac atccgaggac gatggaccgg gcggtgcatg	420
tcctgctgta gaagctcccg gactcgacga gagaccagc tgggcggagg aggaggagca	480
gcttacatgg cagcattcga ggaccctacc cgaaggccat ataagctgcc cgacctgtgc	540
acagaactga atacttctct gcaggacatc gagattacat gcgtgtactg taaaaccgtc	600
ctggagctga cagaagtgtt cgagtttgct ttcaaggacc tgtttgtggt ctaccgggat	660
tcaatccctc acgcagccca taaaatcgac ttctacagca ggatcaggga actgcgccac	720
tactccgaca gcgtgtacgg ggatacactg gagaagctga caaactgagg cctgtacaat	780
ctgctgatcc gactgcgaca gaagccactg aaccagccg aaaaactgag acacctgaac	840
gagaagagac ggtttcacaa tattgcaggc cattataggg gacagtgcga tagttgctgt	900
aatcgagcca ggcaggaaag actgcagcgc cgaagggaga ctcaagtcgg cggaggagga	960
ggagctgcat acatgcacgg cgacaccccc aactgcatg aatatatgct ggatctgcag	1020
cctgagacta ccgacctgta ccagctgaac gattctagtg aggaagagga cgaaatcgac	1080
ggaccagcag gacaggcaga gcctgaccgg gccactata atattgtgac attctgtgt	1140
aagtgcgatt ctactctgcg gctgtgctg cagagtactc atgtcgacat ccgcaccctg	1200
gaggatctgc tgatggggac tctgggcatc gtcccaattt gtagccagaa accaggcggc	1260
ggcggcggag cagcttacat gcacggaccc aaggctaccc tgcaggacat cgtgctgcat	1320
ctggaacctc agaatgagat tccagtcgac ctgctgcagc tgagtgattc agaagaggaa	1380
aacgacgaga tcgacggcgt gaatcaccag catctgcctg ctagacgggc agagccacag	1440
cgacacacaa tgctgtgcat gtgctgtaag tgtgaagcca ggatcaagct ggtggtcgag	1500
tcaagcgccg acgatctgcg cgccttcag cagctgttcc tgaatactct gtcatttgtc	1560
ccttggtgtg cctcccagca gtga	1584

&lt;210&gt; 9

&lt;211&gt; 12754

&lt;212&gt; ДНК

&lt;213&gt; Maraba virus

&lt;400&gt; 9

acgaagacaa acaaaccatt gatagaatta agaggctcat gaaaatcctt aacagcgttc	60
---	----

aaaatgtctg ttacagtcaa gagagtcatt gatgattcac tcatcacccc caaattgcct	120
gcgaatgagg accctgtgga gtaccctgct gattatttca aaaagtcccg tgatattccg	180
gtgtacataa acacgaccaa aagtttgtct gatttgcggg gctatgttta tcaaggccta	240
aagtcaggca acatctctat aattcatgtc aacagttatc tgtatgcagc attaaaagag	300
atcagaggaa aattggacag agattggatc acctttggta tccaaatcgg aaaaacagga	360
gatagcgtgg ggatattcga tttactgacc ctaaaacctc tagatggtgt tttaccagat	420
gggggtgtctg atgctactcg aactagctca gacgatgcat ggcttccact gtatctattg	480
gggttataca gagttggctg aacacagatg ccagaataca ggaagaagct gatggatggt	540
ctgattaatc aatgtaagat gatcaatgag cagtttgaac cactgttgcc agaaggaaga	600
gatgtctttg atgtctgggg aaatgacagc aattacacaa agattgtggc cgctgtagat	660
atgttcttcc atatgttcaa aaagcatgag aaggcctctt tcaggtagtg cacaatagtg	720
tcaagattta aggattgtgc agcattggct acatttggct atctgtgtaa gatcactggt	780
atgtccactg aagatgtgac aacttggatt ctaaacaggg aggtggctga tgagatggtt	840
caaatgatgt acccaggaca ggagatagat aaggctgatt cttacatgcc ttatctaate	900
gacttaggtc tgcctcctaaa atctccatat tcatcagtta aaaatccagc tttccatttt	960
tggggccaat tgaccgcatt gttactgaga tcaaccagag ccagaaatgc acgtcagccg	1020
gatgacatcg agtatacatc cctgaccact gctgggctgt tgtatgcata tgccgttggt	1080
tcgtctgcag acctggctca acaattctac gttggggaca acaagtatgt gccagaaact	1140
ggagatggag gattaaccac caatgcaccg ccacaagggc gagatgtggt cgagtggctt	1200
agttggtttg aagatcaaaa cagaaaacct accccagaca tgctcatgta tgctaagaga	1260
gctgtcagtg ctttacaagg attgaggag aagacgattg gcaagtacgc caagtcagag	1320
tttgacaaat gacaactcac tcaccatatg tattactacc tttgcttcac atgaaaaaaa	1380
ctaacagcga tcatggatca gctatcaaag gtcaaggaat tccttaagac ttacgcgcag	1440
ttggatcaag cagtacaaga gatggatgac attgagtctc agagagagga aaagactaat	1500
tttgatttgt ttcaggaaga aggattggag attaaggaga agccttccta ttatcgggca	1560
gatgaagaag agattgattc agatgaagac agcgtggatg atgcacaaga cttagggata	1620
cgtacatcaa caagtcccat cgaggggtat gtggatgagg agcaggatga ttatgaggat	1680
gaggaagtga acgtggtggt tacatcggac tgaaacagc ctgagctgga atccgacggg	1740
gatgggaaaa ctctccgatt gacgatacca gatggattga ctggggagca gaagtcgcaa	1800
tggcttgcca cgattaaggc agttgttcag agtgctaaat attggaacat ctcagaatgt	1860
tcatttgaga gttatgagca aggggttttg attagagaga gacaaatgac tcctgatgtc	1920
tacaaagtca ctctgtttt aaatgctcca ccggttcaaa tgacagctaa tcaagatgtt	1980
tggctctcta gcagcactcc atttacattt ttgcccaaga aacaaggtgt gactccattg	2040
accatgtcct tagaagaact cttcaacacc cgaggtgaat tcatatctct gggaggaaac	2100

gggaaaatga gtcaccgga ggccatcatt ctagggttga gacacaagaa gctctataat	2160
caagccagac taaagtataa cttagcttga atatgaaaaa aactaacaga tatcaaaaga	2220
tatctctaac tcagtccatt gtgttcagtt caatcatgag ctctctcaag aaaattttgg	2280
gtattaaagg gaaaggggaag aaatctaaga aattaggtat ggctcccca ccctatgaag	2340
aagagactcc aatggaatat tctccaagtg caccttatga taagtcattg tttggagtcg	2400
aagatatgga tttccatgat caacgtcaac tccgatatga gaaatttcac ttctcattga	2460
agatgactgt gagatcaaac aaaccatttc gaaattatga tgacgttgca gcagcgggtg	2520
ccaattggga tcatatgtac atcgcatgg caggaaaacg tcctttttat aagatattag	2580
cattcatggg ttctactcta ttgaaggcta caccagccgt ctgggctgac caaggacagc	2640
cagaatatca tgctcactgt gagggacgag cttacttgcc gcatcgggta gggccgaccc	2700
ctccgatgtt gaatgtccct gaacattttc gccgtccatt taacatcgga ttattcagag	2760
ggacaatcga cataaccctg gtacttttcg atgatgaatc tgtagattct gccccggtca	2820
tatgggatca ttttaatgca tccagattga gcagcttcag agaaaaggct ttgttgtttg	2880
gtttgattct agaaaagaaa gccactggga attgggtatt ggactctatt agtcatttca	2940
agtaattatc acaagtgtt aggtgatggg cagactatga aaaaaactaa cagggttcaa	3000
acactcttga tcgaggtacc cagttatatt tgttacaaca atgttgagac tttttctctt	3060
ttgtttcttg gccttaggag cccactccaa atttactata gtattccctc atcatcaaaa	3120
agggaattgg aagaatgtgc cttccacata tcattattgc ccttctagtt ctgaccagaa	3180
ttggcataat gatttgactg gagttagtct tcatgtgaaa attcccaaaa gtcacaaagc	3240
tatacaagca gatggctgga tgtgccacgc tgctaaatgg gtgactactt gtgacttcag	3300
atggtacgga cccaataca tcacgcattc catacactct atgtcaccca ccctagaaca	3360
gtgcaagacc agtattgagc agacaaagca aggagtttgg attaattccag gctttccccc	3420
tcaaagctgc ggatatgcta cagtgcgga tgcagagggt gttgtgttac aagcaacacc	3480
tcatcatgtg ttggttgatg agtacacagg agaattgatt gactcacaat tgggtggggg	3540
caaatgttcc aaggaggttt gtcaaacggt tcacaactcg accgtgtggc atgctgatta	3600
caagattaca gggctgtgag agtcaaatct ggcatcagtg gatcacct tcttctctga	3660
ggatggtcaa aagacgtctt tgggaaaacc gaacactgga ttcaggagta atcactttgc	3720
ttacgaaagt ggagagaagg catgccgtat gcagtactgc acacgatggg gaatccgact	3780
accttctgga gtatggtttg aattagtgga caaagatctc ttccaggcgg caaaattgcc	3840
tgaatgtcct agaggatcca gtatctcagc tccttctcag acttctgtgg atgttagttt	3900
gatacaagac gtagagagga tcttagatta ctctctatgc caggagacgt ggagtaagat	3960
acgagccaag cttcctgtat ctccagtaga tctgagttat ctgcgccaa aaaatccagg	4020
gagcggaccg gccttcacta tcattaatgg cactttgaaa tatttcgaaa caagatacat	4080
cagagttgac ataagtaatc ccatcatccc tcacatggtg ggaacaatga gtggaaccac	4140

gactgagcgt gaattgtgga atgattggta tccatatgaa gacgtagaga ttggtccaaa	4200
tggggtgttg aaaactccca ctggtttcaa gtttccgctg tacatgattg ggcacggaat	4260
gttgattcc gatctccaca aatcctccca ggctcaagtc ttcgaacatc cacacgcaaa	4320
ggacgctgca tcacagcttc ctgatgatga gactttattt tttggtgaca caggactatc	4380
aaaaaaccca gtagagttag tagaaggctg gttcagtagc tggaagagca cattggcatc	4440
gttctttctg attataggct tgggggttgc attaatcttc atcattcgaa ttattgttgc	4500
gattcgctat aaatacaagg ggaggaagac ccaaaaaatt tacaatgatg tcgagatgag	4560
tcgattggga aataaataac agatgacgca tgagggtcag atcagattta cagcgtaagt	4620
gtgatattta ggattataaa ggttccttaa ttttaatttg ttacgcgttg tatgaaaaaa	4680
actcatcaac agccatcatg catcagaagc gaactgctat gtttcaggac cctcaggagc	4740
ggccacgcaa actgcctcag ctgtgcaccg aactgcagac aactatccac gacatcatc	4800
tggaatgcgt gtactgtaag cagcagctgc tgaggagaga ggtctatgac ttcgcttttc	4860
gcgatctgtg catcgtgtac cgagacggaa acccatatgc agtcgataag ctgaagtctt	4920
acagcaagat ctccgaatac aggcattact gttacagcgt gtacgggacc aactggagc	4980
agcagtataa caagcccctg tgcgacctgc tgatcagaat taatcagaag cccctgtgcc	5040
ctgagggaaa acagaggcac ctggataaga aacagagatt tcataacatc cgaggacgat	5100
ggaccgggcg gtgcatgtcc tgctgtagaa gctcccggac tcgacgagag acccagctgg	5160
gcggaggagg aggagcagct tacatggcac gattcgagga ccctaccga aggccatata	5220
agctgccga cctgtgcaca gaactgaata cttctctgca ggacatcgag attacatcg	5280
tgtactgtaa aaccgtcctg gagctgacag aagtgttcga gtttgctttc aaggacctgt	5340
ttgtgttcta ccgggattca atccctcacg cagcccataa aatcgacttc tacagcagga	5400
tcagggaact gcgccactac tccgacagcg tgtacgggga tacactggag aagctgacaa	5460
acactggcct gtacaatctg ctgatccgac tgcgacagaa gccactgaac ccagccgaaa	5520
aactgagaca cctgaacgag aagagacggt ttcacaatat tgcaggccat tataggggac	5580
agtgccatag ttgctgtaat cgagccaggc aggaagact gcagcgccga agggagactc	5640
aagtcggcgg aggaggagga gctgcataca tgcacggcga cccccaca ctgcatgaat	5700
atatgctgga tctgcagcct gagactaccg acctgtacca gctgaacgat tctagtgagg	5760
aagaggacga aatcgacgga ccagcaggac aggcagagcc tgaccgggcc cactataata	5820
ttgtgacatt ctgctgtaag tgcgattcta ctctgcggct gtgctgagc agtactcatg	5880
tcgacatccg caccctggag gatctgctga tggggactct gggcatcgtc ccaatttgta	5940
gccagaaacc aggcggcggc ggcggagcag cttacatgca cggaccaag gctaccctgc	6000
aggacatcgt gctgcatctg gaacctcaga atgagattcc agtcgacctg ctgcagctga	6060
gtgattcaga agaggaaaac gacgagatcg acggcgtgaa tcaccagcat ctgcctgcta	6120
gacgggcaga gccacagcga cacacaatgc tgtgcatgtg ctgtaagtgt gaagccagga	6180

tcaagctggt ggtcgagtca agcgccgacg atctgcgcgc cttccagcag ctgttcctga	6240
atactctgtc atttgtccct tgggtgtgcct cccagcagtg acgtacgtgt atgaaaaaaa	6300
ctcatcaaca gccatcatgg atgttaacga ttttgagttg catgaggact ttgcattgtc	6360
tgaagatgac tttgtcactt cagaatttct caatccggaa gaccaaatga catacctgaa	6420
tcatgccgat tataatttga attctccctt aatcagcgat gatattgatt tcctgatcaa	6480
gaaatataat catgagcaaa ttccgaaaat gtgggatgtc aagaattggg agggagtgtt	6540
agagatgttg acagcctgtc aagccagtcc aattttatct agcactatgc ataagtgggt	6600
gggaaagtgg ctcatgtctg atgatcatga cgcaagccaa ggcttcagtt ttcttcatga	6660
agtggacaaa gaagctgacg tgacgtttga ggtgggtggag acattcatta gaggatgggg	6720
aggtcgagaa ttgcagtaca agaggaaaga cacatttccg gactccttta gagttgcagc	6780
ctcattgtgt caaaaattcc ttgatttga caaactcact ctgataatga attcagtcctc	6840
tgaagtcgaa cttaccaacc tagcaaagaa ttttaaagga aaaaacagga aagcaaaaaa	6900
cggaaatctg ataaccagat tgagggttcc cagttaggt cctgcttttg tgactcaggg	6960
atgggtgtac atgaagaagt tggaaatgat tatggatcgg aattttttgt tgatgttgaa	7020
agacgttatc atcgggagga tgcagacgat cctgtccatg atctcaagag atgataatct	7080
cttctccgag tctgatattt ttactgtatt aaagatatat cggatagggg ataagatatt	7140
agaaaggcaa gggacaaagg gttacgactt gatcaaatg attgagccta ttgttaactt	7200
aaagatgatg aatctggcac gtaaatatcg tcctctcatc cctacatttc ctcattttga	7260
aaaacatatt gctgactctg ttaaggaagg atcgaaaata gacaaaggga ttgagtttat	7320
atatgatcac attatgtcaa tccctggtgt ggacttgacc ttagttattt acggatcatt	7380
tcggcactgg ggtcatcctt ttatcaacta ctatgagggc ttagagaagc tacacaagca	7440
ggttacaatg cccaagacta ttgacagaga atatgcagaa tgtcttgcta gtgatctggc	7500
aagaatcggt cttcagcaac aattcaatga acataagaaa tggtttgttg atgtagataa	7560
agtcccaaa tcccatcctt tcaaaagcca tatgaaagag aataacttggc ctactgcagc	7620
ccaagttagg gattacggcg atcgtggca tcagctcca ctcatcaaat gcttcgaaat	7680
cccagatttg ttagatccat cgatcatcta ctacagacaaa agtcattcca tgaaccggtc	7740
tgaagtacta cgacatgtaa gacttacacc tcatgtgccc attccaagca ggaaagtatt	7800
gcagacaatg ttggagacta aggcaacaga ctggaaagag tttttaagaa aaattgacga	7860
agaggggtta gaggatgatg atcttgtcat aggactcaaa gggaaagaga gagaattaaa	7920
aattgcggga agattctttt ctttgatgtc ctggaagctc agagagtatt ttgtcatcac	7980
tgagtatttg attaagacgc actttgtccc gatgtttaaa gggttgacca tggcggatga	8040
cttgacagcg gtgataaaga agatgatgga cacatcttca ggacaaggct tagataatta	8100
tgaatccatt tgtatagcca accatattga ctatgagaag tggacaatc atcaaagaaa	8160
agagtcgaac gggcccgtgt tcaagggtgat gggtaattc ttgggatatc cacgtctgat	8220

tgagagaact catgaatfff ttgagaagag tctgatatat tacaatggac gaccagatct	8280
gatgcggggt cgaggaaatt ctctagtcaa cgcctcatct ttaaagtctt gctgggagg	8340
tcaagctggg ggattagaag gactgcgaca gaagggatgg agtattctaa atttgcttgt	8400
cattcagaga gaagcaaaaa taaggaacac cgccgtgaaa gtgctagctc aaggtagaca	8460
tcaggtgata tgtactcagt ataaaacgaa gaaatcccgg aatgatattg agcttaaggc	8520
agctctaaca cagatgggtat ctaataatga gatgattatg tctgcgatta aatcaggcac	8580
cgagaaactg ggtcttttga ttaatgatga tgagacaatg caatctgctg attacctcaa	8640
ttacgggaag gttcccatf ttcagaggagt aatcagaggc cttgagacaa aaagatggtc	8700
tcgagtgacc tgtgtgacaa atgatcagat tccaacgtgt gcgaacatta tgagctctgt	8760
gtcaactaat gcattaactg tagcccatf tgcggagaat ccagtcaatg ccatcattca	8820
gtataactac tttggaacat ttgcaaggct actgctgatg atgcatgacc ccgctctgag	8880
gatctctctg tatgaagtcc aatcaaaaat tccaggactt cacagtttga catttaaata	8940
ttctatgttg tatctggatc cttcgatagg aggagtctcc ggaatgtcac tctcgagatt	9000
cctcataaga tcatfctcag atccagtgc agaaagtttg gcgttctgga aatttatcca	9060
ctctcatgca agaagcgatt cattaaagga gatatgtgca gtttttgaa atcctgaaat	9120
tgcaagattt cggctaactc atgtcgataa attggtggaa gacccaacct cattgaacat	9180
agctatggga atgagctctg ctaatctatt aaagacagag gtaaaaaaat gtctactgga	9240
atcaaggcag agcatcaaga accagattgt aagagatgct actatttacc tacaccatga	9300
ggaagacaaa cttcgtagtt tcttatggtc cataacacca ctgttccctc ggttcttgag	9360
tgaattcaaa tctgggacat tcatcggagt agcagatggc ctgatcagct tatttcagaa	9420
ctctaggact attcgaaatt cttttaaaaa gcgttatcac agggaaactg atgatttaat	9480
aatcaagagc gaagtttctt cacttatgca tttgggtaag ctacatttga ggcgaggctc	9540
agttcgtatg tggacttgct cttctactca ggctgatctt ctccgattcc ggtcatggg	9600
aagatctgtt ataggaacca cagtcctca tcccttagag atgttaggac aacattttaa	9660
aaaggagact cttgacgtg cttgcaacat atccggatta gactatgtat ctgtccactg	9720
tccgaatggg attcatgacg tttttgaatc acgtgggtcca ctccctgcat atttgggttc	9780
taaaacatcc gaatcaactt cgatcttgca gccgtgggag agagagagta aagtaccgtt	9840
gattaagcgt gccacaaggc ttcgtgatgc aatttcatgg tttgtgtctc ccgactctaa	9900
cttggcctca actatcctta agaacataaa tgcattaaca ggagaagaat ggtcaaagaa	9960
gcagcatgga tttaaaagga cgggatcggc gttacacagg ttctccacat ccaggatgag	10020
tcatggtggt tttgcttctc agagtacggc tgccttgact agattgatgg caactactga	10080
cactatgaga gatctgggag aacagaacta tgatttctg tttcaggcga cattattgta	10140
tgctcaaata accacaactg tagtcaggaa tggatcattt catagctgca cggaccatta	10200
ccatataacc tgcaaatctt gtctgagggc cattgatgag attaccttgg attcagcgat	10260



ggaatatagc cctccagatg tatcatcagt tttacaatct tggaggaatg gagaaggctc	10320
ttggggacat gaagtgaac aaatataccc agttgaaggt gactggaggg gactatctcc	10380
tgttgaacaa tcttatcaag tcggacgctg tatcggggtt ctgttcggtg atctggcgta	10440
tagaaaatca tcccatgcag atgatagctc catgtttccg ttatctatac aaaacaaagt	10500
cagaggaaga ggctttttaa aagggtttat ggatgggtta atgagagcca gttgttgcca	10560
ggtgatccat cgctgaagct tagcccatct gaagagaccg gctaattgcag tctatggagg	10620
gctgatttat ttgatagaca aattgagtgc atctgcccct tttctttcac tgacgagaca	10680
tggaccttta agggagaagt tagaaactgt tccacataag ataccgactt cttatcctac	10740
gagcaaccga gatatggggg tgatagttcg taattatttt aaatatcagt gcagactggt	10800
agaaaaagt cggtacaaga cacattatcc tcaattgtgg cttttctcag atgtgctgtc	10860
cattgatttc ttaggacccc tgtctatatc ttcaactcta ttgggtattc tgtataaaca	10920
gacgttatct tctcgagaca aaaatgagtt gagagaactc gctaacttgt cttcattgtt	10980
gagatcagga gaaggatggg aagatatcca tgtcaaattc ttctctaagg acactttact	11040
ctgccctgaa gagatccgac atgcgtgcaa atttgggatt gctaaggaaat ccgctgtttt	11100
aagctattat cctccttggg ctcaagagtc ttatggaggc atcacctcga tccccgtata	11160
tttttcgacc aggaagtatc ccaaaatttt agatgtccct cctcgggttc aaaaccatt	11220
ggtctcgggt ctacgattgg ggcaactccc tactggagca cattataaga ttaggagcat	11280
tgtaaagaac aagaaccttc gttatagaga tttccttagt tgtggggatg gatctggggg	11340
gatgaccgag gactatttga gagaaaacag acaaagtagg ggaatcttca acagcctgtt	11400
agagttagcc ggatctctta tgagaggagc atctccagag cctccaagtg cactggagac	11460
gctcgggcaa gaacgatcta ggtgtgtgaa tggaagcaca tgttgggagt actcatctga	11520
cctaagccaa aaagagacat gggattactt cttagattg aagagaggcc tgggtttgac	11580
cgtggactta atcaccatgg acatggaggt cagagaccct aatacaagtt tgatgataga	11640
aaagaacctc aaagtttatc tgcatcagat attagaacca actggtgtct taatatataa	11700
aacatacggg acccatattg cgacacaaac agataatatc ctgacgataa tcggtccttt	11760
ctttgagacg gttgacctag tccagtccga atacagcagc tcacaaacgt ccgaggtcta	11820
ttttgtagga cgaggcttgc gctctcatgt tgacgaacct tgggtggact ggccatcctt	11880
aatggacaat tggagatcca tttatgcttt tcatgatcct actacagaat ttatcagagc	11940
aaaaaaagtc tgtgaaattg acagtcttat aggcattccg gctcaattca ttccagacct	12000
atgtgtaaat ctcgagacca tgctacagat agttggtgtt ccaacaggag tttcgcatgc	12060
cgcagctcta ttatcatcac aatatccaaa tcaattggtc acaacgtcaa tattttatat	12120
gacactcgtg tcttattata atgtaaacca tattcgaaga agccccaagc ctttctctcc	12180
tccgtctgat ggagtctcac agaacattgg ttcagccata gtcggactaa gtttttgggt	12240
gagtttgatg gagaatgac tcggattata caaacaggct ctagggtcaa taaagacgct	12300

attccctatt agatggctct ctgtccagac caaggatggg ttacacaaag aatggagaac 12360  
 taaaggaaac ggaattccta aagattgtcg tctctcagac tctttggctc agataggaaa 12420  
 ctggatcaga gcgatggaat tggttaggaa caaacgagg caatcaggat tttctgaaac 12480  
 cctatttgat caattctgcg gacttgacaga ccatcacctc aaatggcgga agttgggaaa 12540  
 cagaacagga attattgatt ggctaaataa tagaatttca tccattgaca aatccatctt 12600  
 ggtgaccaa agtgatctgc atgacgagaa ctcatggagg gagtgaagat gtattcttcc 12660  
 acctctcatt gggtgatacc catatatgaa aaaaactata agtactttaa actctctttg 12720  
 ttttttaatg tatatctggt tttgtgtgtt ccgt 12754

<210> 10  
 <211> 341  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 10

Met Glu Ser Arg Lys Asp Ile Thr Asn Gln Glu Glu Leu Trp Lys Met  
 1 5 10 15

Lys Pro Arg Arg Asn Leu Glu Glu Asp Asp Tyr Leu His Lys Asp Thr  
 20 25 30

Gly Glu Thr Ser Met Leu Lys Arg Pro Val Leu Leu His Leu His Gln  
 35 40 45

Thr Ala His Ala Asp Glu Phe Asp Cys Pro Ser Glu Leu Gln His Thr  
 50 55 60

Gln Glu Leu Phe Pro Gln Trp His Leu Pro Ile Lys Ile Ala Ala Ile  
 65 70 75 80

Ile Ala Ser Leu Thr Phe Leu Tyr Thr Leu Leu Arg Glu Val Ile His  
 85 90 95

Pro Leu Ala Thr Ser His Gln Gln Tyr Phe Tyr Lys Ile Pro Ile Leu  
 100 105 110

Val Ile Asn Lys Val Leu Pro Met Val Ser Ile Thr Leu Leu Ala Leu  
 115 120 125

Val Tyr Leu Pro Gly Val Ile Ala Ala Ile Val Gln Leu His Asn Gly  
 130 135 140

Thr Lys Tyr Lys Lys Phe Pro His Trp Leu Asp Lys Trp Met Leu Thr  
 145 150 155 160

Arg Lys Gln Phe Gly Leu Leu Ser Phe Phe Phe Ala Val Leu His Ala  
 165 170 175

Ile Tyr Ser Leu Ser Tyr Pro Met Arg Arg Ser Tyr Arg Tyr Lys Leu  
180 185 190

Leu Asn Trp Ala Tyr Gln Gln Val Gln Gln Asn Lys Glu Asp Ala Trp  
195 200 205

Ile Glu His Asp Val Trp Arg Met Glu Ile Tyr Val Ser Leu Gly Ile  
210 215 220

Val Gly Leu Ala Ile Leu Ala Leu Leu Ala Val Thr Ser Ile Pro Ser  
225 230 235 240

Val Ser Asp Ser Leu Thr Trp Arg Glu Phe His Tyr Ile Gln Ser Lys  
245 250 255

Leu Gly Ile Val Ser Leu Leu Leu Gly Thr Ile His Ala Leu Ile Phe  
260 265 270

Ala Trp Asn Lys Trp Ile Asp Ile Lys Gln Phe Val Trp Tyr Thr Pro  
275 280 285

Pro Thr Phe Met Ile Ala Val Phe Leu Pro Ile Val Val Leu Ile Phe  
290 295 300

Lys Ser Ile Leu Phe Leu Pro Cys Leu Arg Lys Lys Ile Leu Lys Ile  
305 310 315 320

Arg His Gly Trp Glu Asp Val Thr Lys Ile Asn Lys Thr Glu Ile Cys  
325 330 335

Ser Gln Leu Lys Leu  
340

<210> 11  
<211> 1026  
<212> ДНК  
<213> Homo sapiens

<400> 11  
atggaatcac ggaaggacat cactaatcag gaggaactgt ggaaaatgaa gccaagaagg 60  
aatctggaag aggacgacta tctgcacaag gacaccggcg aaacaagtat gctgaaacga 120  
ccagtgtctg tgcacctgca tcagactgct cacgcagacg agtttgattg cccctctgaa 180  
ctgcagcaca cccaggagct gttcccacag tggcatctgc ccatcaagat tgccgctatc 240  
attgcttcac tgacatttct gtacactctg ctgagagaag tgatccaccc cctggccacc 300  
agccatcagc agtacttcta taagatccct atcctggtca tcaacaaggt cctgccaatg 360  
gtgagcatca cactgctggc cctggtctac ctgcctggag tgatcgcagc cattgtccag 420  
ctgcacaatg ggacaaagta taagaaattt ccacattggc tggataagtg gatgctgact 480  
aggaaacagt tcggactgct gtccttcttt ttcgccgtgc tgcacgctat ctacgcctg 540

tcctatccca tgaggaggag ctaccggtat aagctgctga actgggctta ccagcaggtg	600
cagcagaaca aggaggacgc atggattgaa catgacgtgt ggcgcatgga aatctacgtg	660
agcctgggca ttgtcggact ggccatcctg gctctgctgg cagtgaccag tatcccttct	720
gtcagtgact cactgacatg gagagagttt cactacattc agagcaagct ggggatcgtg	780
tccctgctgc tgggcaccat ccatgcaactg atttttgcct ggaacaagtg gatcgatata	840
aagcagttcg tgtgtgtatc tccccctacc tttatgattg ccgtcttcct gcccatcgtg	900
gtcctgatct tcaagtccat cctgttcctg ccttgtctgc ggaagaaaat cctgaaaatt	960
cggcacggat gggaggatgt caccaaaatc aataagactg aaatctgtag ccagctgaag	1020
ctttaa	1026

<210> 12  
 <211> 12196  
 <212> ДНК  
 <213> Maraba virus

<400> 12	
acgaagacaa acaaaccatt gatagaatta agaggctcat gaaaatcctt aacagcgttc	60
aaaatgtctg ttacagtcaa gagagtcatt gatgattcac tcatcacccc caaattgcct	120
gcgaatgagg accctgtgga gtaccctgct gattatttca aaaagtcccg tgatattccg	180
gtgtacataa acacgaccaa aagtttgtct gatttgcggg gctatgttta tcaaggccta	240
aagtcaggca acatctctat aattcatgtc aacagttatc tgtatgcagc attaaaagag	300
atcagaggaa aattggacag agattggatc acctttggta tccaaatcgg aaaaacagga	360
gatagcgtgg ggatattcga tttactgacc ctaaaacctc tagatggtgt tttaccagat	420
ggggtgtctg atgctactcg aactagctca gacgatgcat ggcttccact gtatctattg	480
gggttataca gagttggctg aacacagatg ccagaataca ggaagaagct gatggatggt	540
ctgattaatc aatgtaagat gatcaatgag cagtttgaac cactgttgcc agaaggaaga	600
gatgtctttg atgtctgggg aaatgacagc aattacacaa agattgtggc cgctgtagat	660
atgttcttcc atatgttcaa aaagcatgag aaggcctctt tcaggtagtg cacaatagtg	720
tcaagattta aggattgtgc agcattggct acatttggct atctgtgtaa gatcactggt	780
atgtccactg aagatgtgac aacttggatt ctaaacaggg aggtggctga tgagatgggt	840
caaatgatgt acccaggaca ggagatagat aaggctgatt cttacatgcc ttatctaata	900
gacttaggtc tgcctcaaaa atctccatat tcatcagtta aaaatccagc tttccatttt	960
tgggggtcaat tgaccgcatt gttactgaga tcaaccagag ccagaaatgc acgtcagccg	1020
gatgacatcg agtatacatc cctgaccact gctgggctgt tgtatgcata tgccgttggt	1080
tcgtctgcag acctggctca acaattctac gttggggaca acaagtatgt gccagaaact	1140
ggagatggag gattaaccac caatgcaccg ccacaagggc gagatgtggt cgagtggctt	1200
agttgggttg aagatcaaaa cagaaaacct accccagaca tgctcatgta tgctaagaga	1260
gctgtcagtg ctttacaagg attgaggagg aagacgattg gcaagtacgc caagtcagag	1320

tttgacaaat gacaactcac tcaccatatg tattactacc tttgcttcat atgaaaaaaa	1380
ctaacagcga tcatggatca gctatcaaag gtcaaggaat tccttaagac ttacgcgcag	1440
ttggatcaag cagtacaaga gatggatgac attgagtctc agagagagga aaagactaat	1500
tttgatttgt ttcaggaaga aggattggag attaaggaga agccttccta ttatcgggca	1560
gatgaagaag agattgattc agatgaagac agcgtggatg atgcacaaga cttagggata	1620
cgtacatcaa caagtcccat cgaggggtat gtggatgagg agcaggatga ttatgaggat	1680
gaggaagtga acgtggtgtt tacatcggac tggaaacagc ctgagctgga atccgacggg	1740
gatgggaaaa ctctccgatt gacgatacca gatggattga ctggggagca gaagtcgcaa	1800
tggcttgcca cgattaaggc agttgttcag agtgctaaat attggaacat ctcagaatgt	1860
tcatttgaga gttatgagca aggggttttg attagagaga gacaaatgac tcctgatgtc	1920
tacaaagtca ctctgtttt aaatgctcca ccggttcaaa tgacagctaa tcaagatgtt	1980
tggctcttca gcagcactcc atttacattt ttgcccaaga aacaagggtg gactccattg	2040
accatgtcct tagaagaact cttcaacacc cgaggtgaat tcatatctct gggaggaaac	2100
gggaaaaatga gtcaccggga ggccatcatt ctagggttga gacacaagaa gctctataat	2160
caagccagac taaagtataa cttagcttga atatgaaaaa aactaacaga tatcaaaaga	2220
tatctctaac tcagtcatt gtgttcagtt caatcatgag ctctctcaag aaaattttgg	2280
gtattaaagg gaaagggaag aaatctaaga aattaggtat ggctcccca ccctatgaag	2340
aagagactcc aatggaatat tctccaagtg caccttatga taagtcattg tttggagtcg	2400
aagatatgga tttccatgat caacgtcaac tccgatatga gaaatttcac ttctcattga	2460
agatgactgt gagatcaaac aaaccatttc gaaattatga tgacgttgca gcagcgtgt	2520
ccaattggga tcatatgtac atcggcatgg caggaaaacg tcctttttat aagatattag	2580
cattcatggg ttctactcta ttgaaggcta caccagccgt ctgggctgac caaggacagc	2640
cagaatatca tgctactgt gagggacgag cttacttgcc gcatcggtta gggccgaccc	2700
ctccgatgtt gaatgtccct gaacattttc gccgtccatt taacatcgga ttattcagag	2760
ggacaatcga cataaccctg gtacttttcg atgatgaatc tgtagattct gccccggtca	2820
tatgggatca ttttaatgca tccagattga gcagcttcag agaaaaggct ttgttgtttg	2880
gtttgattct agaaaagaaa gccactggga attgggtatt ggactctatt agtcatttca	2940
agtaattatc acaagtgttg aggtgatggg cagactatga aaaaaactaa cagggttcaa	3000
acactcttga tcgaggtagc cagttatatt tgttacaaca atgttgagac tttttctctt	3060
ttgtttcttg gccttaggag cccactccaa atttactata gtattccctc atcatcaaaa	3120
aggggaattgg aagaatgtgc cttccacata tcattattgc ccttctagtt ctgaccagaa	3180
ttggcataat gatttgactg gagttagtct tcatgtgaaa attcccaaaa gtcacaaagc	3240
tatacaagca gatggctgga tgtgccacgc tgctaaatgg gtgactactt gtgacttcag	3300
atggtacgga cccaaatata tcacgcattc catacactct atgtcaccca ccctagaaca	3360

gtgcaagacc agtattgagc agacaaagca aggagtttgg attaatccag gctttccccc	3420
tcaaagctgc ggatatgcta cagtgcgga tgcagaggtg gttgtgttac aagcaacacc	3480
tcacatgtg ttggttgatg agtacacagg agaattggatt gactcacaat tgggtggggg	3540
caaatgttcc aaggaggttt gtcaaacggt tcacaactcg accgtgtggc atgctgatta	3600
caagattaca gggctgtgag agtcaaatct ggcacagtg gatcacct tcttctctga	3660
ggatgggtcaa aagacgtctt tgggaaaacc gaacactgga ttcaggagta atcactttgc	3720
ttacgaaagt ggagagaagg catgccgtat gcagtactgc acacgatggg gaatccgact	3780
accttctgga gtatggtttg aattagtga caaagatctc ttccaggcgg caaaattgcc	3840
tgaatgtcct agaggatcca gtatctcagc tccttctcag acttctgtgg atgttagttt	3900
gatacaagac gtagagagga tcttagatta ctctctatgc caggagacgt ggagtaagat	3960
acgagccaag cttctgtat ctccagtaga tctgagttat ctgccccaa aaaatccagg	4020
gagcggaccg gccttcacta tcattaatgg cactttgaaa tatttcgaaa caagatacat	4080
cagagttgac ataagtaatc ccatcatccc tcacatggtg ggaacaatga gtggaaccac	4140
gactgagcgt gaattgtgga atgattggta tccatatgaa gacgtagaga ttggtccaaa	4200
tggggtgttg aaaactccca ctggtttcaa gtttccgctg tacatgattg ggcacggaat	4260
gttggtatcc gatctccaca aatcctccca ggctcaagtc ttcgaacatc cacacgcaa	4320
ggacgtgca tcacagcttc ctgatgatga gactttatct tttggtgaca caggactatc	4380
aaaaaaccca gtagagttag tagaaggctg gttcagtagc tggaagagca cattggcatc	4440
gttctttctg attataggct tgggggttgc attaatcttc atcattcgaa ttattgttgc	4500
gattcgctat aaatacaagg ggaggaagac ccaaaaaatt tacaatgatg tcgagatgag	4560
tcgattggga aataaataac agatgacgca tgagggtcag atcagattta cagcgtaat	4620
gtgatattta ggattataaa ggttccttaa ttttaatttg ttacgcgttg tatgaaaaaa	4680
actcatcaac agccatcatg gaatcacgga aggacatcac taatcaggag gaactgtgga	4740
aaatgaagcc aagaaggaaat ctggaagagg acgactatct gcacaaggac accggcgaaa	4800
caagtatgct gaaacgacca gtgctgctgc acctgcatca gactgctcac gcagacgagt	4860
ttgattgccc ctctgaactg cagcacaccc aggagctgtt cccacagtgg catctgcca	4920
tcaagattgc cgctatcatt gcttcactga catttctgta cactctgctg agagaagtga	4980
tccaccccct ggccaccagc catcagcagt acttctataa gatccctatc ctggtcatca	5040
acaaggtcct gccaatggtg agcatcacac tgctggccct ggtctacctg cctggagtga	5100
tcgcagccat tgtccagctg cacaatggga caaagtataa gaaatttcca cattggctgg	5160
ataagtggat gctgactagg aaacagttcg gactgctgtc cttctttttc gccgtgctgc	5220
acgctatcta cagcctgtcc tatcccatga ggaggagcta ccggtataag ctgctgaact	5280
gggcttacca gcaggtgcag cagaacaagg aggacgatg gattgaacat gacgtgtggc	5340
gcatggaaat ctacgtgagc ctgggcattg tcggactggc catcctggct ctgctggcag	5400

tgaccagtat ccccttctgtc agtgactcac tgacatggag agagtttcac tacattcaga	5460
gcaagctggg gatcgtgtcc ctgctgctgg gcacatcca tgactgatt tttgcctgga	5520
acaagtggat cgatatcaag cagttcgtgt ggtatactcc ccctaccttt atgattgccg	5580
tcttcctgcc catcgtgggc ctgatcttca agtccatcct gttcctgcct tgtctgcgga	5640
agaaaatcct gaaaattcgg cacggatggg aggatgtcac caaaatcaat aagactgaaa	5700
tctgtagcca gctgaagctt taacgtacgt gtatgaaaaa aactcatcaa cagccatcat	5760
ggatgttaac gatcttgagt tgcagtagga ctttgcattg tctgaagatg actttgtcac	5820
ttcagaattt ctcaatccgg aagaccaaat gacatactg aatcatgccg attataattt	5880
gaattctccc ttaatcagcg atgatattga tttcctgatc aagaaatata atcatgagca	5940
aattccgaaa atgtgggatg tcaagaattg ggagggagtg ttagagatgt tgacagcctg	6000
tcaagccagt ccaattttat ctagcactat gcataagtgg gtgggaaagt ggctcatgtc	6060
tgatgatcat gacgcaagcc aaggcttcag ttttcttcat gaagtggaca aagaagctga	6120
tctgacgttt gaggtggtgg agacattcat tagaggatgg ggaggtcgag aattgcagta	6180
caagaggaaa gacacatttc cggactcctt tagagttgca gcctcattgt gtcaaaaatt	6240
ccttgatttg cacaaactca ctctgataat gaattcagtc tctgaagtcg aacttaccaa	6300
cctagcaag aattttaaag gaaaaacag gaaagcaaaa agcggaaatc tgataaccag	6360
attgagggtt cccagtttag gtcctgcttt tgtgactcag ggatgggtgt acatgaagaa	6420
gttgaaatg attatggatc ggaatttttt gttgatgttg aaagacgtta tcatcgggag	6480
gatgcagacg atcctgtcca tgatctcaag agatgataat ctcttctccg agtctgatat	6540
ctttactgta ttaaagatat accggatagg ggataagata ttagaaaggc aagggacaaa	6600
gggttacgac ttgatcaaaa tgattgagcc tatttgtaac ttaaagatga tgaatctggc	6660
acgtaaatat cgtcctctca tccctacatt tcctcatttt gaaaaacata ttgctgactc	6720
tgtaagga ggcgcgaaaa tagacaaagg gattgagttt atatatgatc acattatgtc	6780
aatccctggt gtggacttga ccttagttat ttacggatca tttcggcact ggggtcatcc	6840
ttttatcaac tactatgagg gcttagagaa gctacacaag caggttacaa tgcccaagac	6900
tattgacaga gaatatgcag aatgtcttgc tagtgatctg gcaagaatcg ttcttcagca	6960
acaattcaat gaacataaga aatggtttgt tgatgtagat aaagtccac aatcccatcc	7020
tttcaaaagc catatgaaag agaatacttg gcctactgca gcccaagttc aggattacgg	7080
cgatcgctgg catcagctcc cactcatcaa atgcttcgaa atcccagatt tgtagatcc	7140
atcgatcatc tactcagaca aaagtcattc catgaaccgg tctgaagtac tacgacatgt	7200
aagacttaca cctcatgtgc ccattccaag caggaaagta ttgcagacaa tgttgagac	7260
taaggcaaca gactggaaaag agtttttaaa gaaaattgac gaagaggggt tagaggatga	7320
tgatcttgtc ataggactca aagggaaga gagagaatta aaaattgcgg gaagattctt	7380
ttctttgatg tcctggaagc tcagagagta ttttgtcatc actgagtatt tgattaagac	7440

gcactttgtc ccgatgttta aagggttgac catggcggat gacttgacag cggtgataaa	7500
gaagatgatg gacacatctt caggacaagg cttagataat tatgaatcca tttgtatagc	7560
caaccatatt gactatgaga agtggaaaca tcatcaaaga aaagagtcga acgggcccgt	7620
gttcaagggtg atgggtcaat tcttgggata tccacgtctg attgagagaa ctcatgaatt	7680
ttttgagaag agtctgatat attacaatgg acgaccagat ctgatgcggg ttcgaggaaa	7740
ttctctagtc aacgcctcat ctttaaatgt ctgctgggag ggtcaagctg ggggattaga	7800
aggactgcga cagaagggat ggagtattct aaatttgctt gtcattcaga gagaagcaaa	7860
aataaggaaac accgccgtga aagtctagc tcaagggtgac aatcagggtga tatgtactca	7920
gtataaaacg aagaaatccc ggaatgatat tgagcttaag gcagctctaa cacagatggt	7980
atctaataat gagatgatta tgtctcgat taaatcaggc accgagaaac tgggtctttt	8040
gattaatgat gatgagacaa tgcaatctgc tgattacctc aattacggga aggttcccat	8100
tttcagagga gtaatcagag gccttgagac aaaaagatgg tctcgagtga cctgtgtgac	8160
aaatgatcag attccaacgt gtgcgaacat tatgagctct gtgtcaacta atgcattaac	8220
tgtagcccat ttgcccga atccagtcga tgccatcatt cagtataact actttggaac	8280
atttgcaagg ctactgctga tgatgcatga ccccgctctg aggatctctc tgtatgaagt	8340
ccaatcaaaa attccaggac ttcacagttt gacatttaaa tattctatgt tgtatctgga	8400
tccttcgata ggaggagtct ccggaatgtc actctcgaga ttctcataa gatcatttcc	8460
agatccagtg acagaaagtt tggcgttctg gaaatttatc cactctcatg caagaagcga	8520
ttcattaaag gagatatgtg cagtttttgg aaatcctgaa attgcaagat ttcggctaac	8580
tcatgtcgat aaattgggtg aagacccaac ctcatgaac atagctatgg gaatgagtc	8640
tgctaatacta ttaaagacag aggtaaaaaa atgtctactg gaatcaaggc agagcatcaa	8700
gaaccagatt gtaagagatg ctactattta cctacacat gaggaagaca aacttcgtag	8760
ttctttatgg tccataacac cactgttccc tcggttcttg agtgaattca aatctgggac	8820
attcatcgga gtagcagatg gcctgatcag cttatttcag aactctagga ctattcgaaa	8880
ttcttttaaa aagcgttatc acagggaact tgatgattta ataatacaaga gcgaagtctc	8940
ctcacttatg catttgggtg agctacattt gaggcgaggc tcagttcgta tgtggacttg	9000
ctcttctact caggctgatc ttctccgatt ccggtcatgg ggaagatctg ttataggaac	9060
cacagtccct catcccttag agatgttagg acaacatttt aaaaaggaga ctccttgacg	9120
tgcttgcaac atatccggat tagactatgt atctgtccac tgtccgaatg ggattcatga	9180
cgtttttgaa tcacgtggtc cactccctgc atatttgggt tctaaaacat ccgaatcaac	9240
ttcgatcttg cagccgtggg agagagagag taaagtaccg ttgattaagc gtgccacaag	9300
gcttcgtgat gcaatttcat ggtttgtgtc tcccactct aacttggcct caactatcct	9360
taagaacata aatgcattaa caggagaaga atgggtcaaag aagcagcatg gatttaaaag	9420
gacgggatcg gcgttacaca ggttctccac atccaggatg agtcatggtg gttttgcttc	9480



tcagagtacg gctgccttga ctagattgat ggcaactact gacactatga gagatctggg	9540
agaacagaac tatgatttcc tgtttcaggc gacattattg tatgctcaaa taaccacaac	9600
tgtagtcagg aatggatcat ttcatactg caccgaccat taccatataa cctgcaaadc	9660
ttgtctgagg gccattgatg agattacctt ggattcagcg atggaatata gccctccaga	9720
tgtatcatca gttttacaat cttggaggaa tggagaaggc tcttggggac atgaagtga	9780
acaaatatac ccagttgaag gtgactggag gggactatct cctgttgaac aatcttatca	9840
agtcggacgc tgtatcgggt ttctgttcgg tgatctggcg tatagaaaat catcccatgc	9900
agatgatagc tccatgtttc cgttatctat acaaaacaaa gtcagaggaa gaggcctttt	9960
aaaagggtt atggatgggt taatgagagc cagtgtgtgc caggatgatcc atcgtcgaag	10020
cttagcccat ctgaagagac cggctaagtc agtctatgga gggctgattt atttgataga	10080
caaataggat gcatctgccc cttttctttc actgacgaga catggacctt taagggaaga	10140
attagaaact gttccacata agataccgac ttcttatcct acgagcaacc gagatatggg	10200
ggtgatagtt cgtaattatt ttaaataatca gtgcagactg gtagaaaaag gtcggtacaa	10260
gacacattat cctcaattgt ggcttttctc agatgtgctg tccattgatt tcttaggacc	10320
cctgtctata tcttcaactc tattgggtat tctgtataaa cagacgttat cttctcgaga	10380
caaaaatgag ttgagagaac tcgctaactt gtcttcattg ttgagatcag gagaaggatg	10440
ggaagatata catgtcaaat tcttctctaa ggacacttta ccttgccctg aagagatccg	10500
acatgcgtgc aaatttgga ttgctaagga atccgctgtt ttaagctatt atcctccttg	10560
gtctcaagag tcttatggag gcatcacctc gatccccgta tatttttcga ccaggaagta	10620
tcccaaat ttagatgtcc ctctcgggt tcaaaaccca ttggtctcgg gtctacgatt	10680
ggggcaactc cctactggag cacattataa gattaggagc attgtaaaga acaagaacct	10740
tcgttataga gatttcctta gttgtgggga tggatctggg gggatgaccg cggcactatt	10800
gagagaaaac agacaaagta ggggaatctt caacagcctg ttagagttag ccggtatctt	10860
tatgagagga gcatctccag agcctccaag tgactggag acgctcgggc aagaacgac	10920
taggtgtgtg aatggaagca catgttgga gtactcatct gacctagcc aaaaagagac	10980
atgggattac ttcttaagat tgaagagagg cctgggtttg accgtggact taatcaccat	11040
ggacatggag gtcagagacc ctaatacaag ttgatgata gaaaagaacc tcaaagtta	11100
tctgcatcag atattagaac caactggtgt cttaatatat aaaacatacg ggacccatat	11160
tgcgacacaa acagataata tcctgacgat aatcgtcctt ttctttgaga cggttgacct	11220
agtccagtcc gaatacagca gctcacaac gtccgaggtc tattttgtag gacgaggctt	11280
gcgctctcat gttgacgaac cctgggtgga ctggccatcc ttaatggaca attggagatc	11340
catttatgct tttcatgac ctactacaga atttatcaga gcaaaaaaag tctgtgaaat	11400
tgacagtctt ataggcattc cggctcaatt cattccagac ccatttgtaa atctcgagac	11460
catgctacag atagttggtg ttccaacagg agtttcgcat gccgcagctc tattatcatc	11520

acaatatcca aatcaattgg tcacaacgctc aatattttat atgacactcg tgtcttatta 11580  
 taatgtaaac catattcgaa gaagcccaa gcctttctct cctccgtctg atggagtctc 11640  
 acagaacatt ggttcagcca tagtcggact aagtttttgg gtgagtttga tggagaatga 11700  
 tctcggatta taaaaacagg ctctagggtgc aataaagacg tcattcccta ttagatggtc 11760  
 ctctgtccag accaaggatg ggtttacaca agaatggaga actaaaggaa acggaattcc 11820  
 taaagattgt cgtctctcag actctttggc tcagatagga aactggatca gagcgatgga 11880  
 attggttagg aacaaaacga ggcaatcagg attttctgaa accctatttg atcaattctg 11940  
 cggacttgca gaccatcacc tcaaatggcg gaagtggga aacagaacag gaattattga 12000  
 ttggctaaat aatagaattt catccattga caatccatc ttggtgacca aaagtgatct 12060  
 gcatgacgag aactcatgga gggagtgaag atgtattctt ccacctctca ttgggtgata 12120  
 cccatatatg aaaaaaacta taagtacttt aaactctctt tgttttttaa tgtatatctg 12180  
 gttttgttgt ttccgt 12196

<210> 13  
 <211> 180  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 13

Met Gln Ala Glu Gly Arg Gly Thr Gly Gly Ser Thr Gly Asp Ala Asp  
 1 5 10 15  
 Gly Pro Gly Gly Pro Gly Ile Pro Asp Gly Pro Gly Gly Asn Ala Gly  
 20 25 30  
 Gly Pro Gly Glu Ala Gly Ala Thr Gly Gly Arg Gly Pro Arg Gly Ala  
 35 40 45  
 Gly Ala Ala Arg Ala Ser Gly Pro Gly Gly Gly Ala Pro Arg Gly Pro  
 50 55 60  
 His Gly Gly Ala Ala Ser Gly Leu Asn Gly Cys Cys Arg Cys Gly Ala  
 65 70 75 80  
 Arg Gly Pro Glu Ser Arg Leu Leu Glu Phe Tyr Leu Ala Met Pro Phe  
 85 90 95  
 Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala Arg Arg Ser Leu Ala Gln Asp  
 100 105 110  
 Ala Pro Pro Leu Pro Val Pro Gly Val Leu Leu Lys Glu Phe Thr Val  
 115 120 125  
 Ser Gly Asn Ile Leu Thr Ile Arg Leu Thr Ala Ala Asp His Arg Gln  
 130 135 140

30

Leu Gln Leu Ser Ile Ser Ser Cys Leu Gln Gln Leu Ser Leu Leu Met  
145 150 155 160

Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu Pro Val Phe Leu Ala Gln Pro Pro Ser  
165 170 175

Gly Gln Arg Arg  
180

<210> 14  
<211> 543  
<212> ДНК  
<213> Homo sapiens

<400> 14  
atgcaggccg agggcagagg cacaggcgga tctacaggcg acgccgatgg ccctggcggc 60  
cctggaattc ctgacggacc tggcggaat gccggcggaac ccggagaagc tggcgccaca 120  
ggcggaagag gacctagagg cgctggcgcc gctagagctt ctggaccagg cggaggcgcc 180  
cctagaggac ctcattggcg agccgcctcc ggcctgaacg gctgttgagc atgtggagcc 240  
agaggccccg agagccggct gctggaattc tacctggcca tgcccttcgc caccatg 300  
gaagccgagc tggccagacg gtcctggcc caggatgctc ctctctgcc tgtgcccggc 360  
gtgctgtcga aagaattcac cgtgtccggc aacatcctga ccattccgct gactgccgcc 420  
gaccacagac agctccagct gtctatcagc tcctgcctgc agcagctgag cctgctgatg 480  
tggatcacc agtgctttct gccgtgttc ctggctcagc ccccgagcg ccagagaaga 540  
tga 543

<210> 15  
<211> 11725  
<212> ДНК  
<213> Maraba virus

<400> 15  
acgaagacaa acaaaccatt gatagaatta agaggctcat gaaaatcctt aacagcgttc 60  
aaaatgtctg ttacagtcaa gagagtcatt gatgattcac tcatcaccac caaattgcct 120  
gcgaatgagg accctgtgga gtaccctgct gattatttca aaaagtcccg tgatattccg 180  
gtgtacataa acacgaccaa aagtttgtct gatttgcggg gctatgttta tcaaggccta 240  
aagtcaggca acatctctat aattcatgtc aacagttatc tgtatgcagc attaaaagag 300  
atcagaggaa aattggacag agattggatc acctttggta tccaaatcgg aaaaacagga 360  
gatagcgtgg ggatattcga ttactgacc ctaaaacctc tagatggtgt ttaccagat 420  
ggggtgtctg atgtactcg aactagctca gacgatgcat ggcttcact gtatctattg 480  
gggttataca gagttggtcg aacacagatg ccagaatata ggaagaagct gatggatggt 540  
ctgattaatc aatgtaagat gatcaatgag cagtttgaac cactgttgcc agaaggaaga 600  
gatgtctttg atgtctgggg aaatgacagc aattacacaa agattgtggc cgctgtgat 660

atgttcttcc	atatgttcaa	aaagcatgag	aaggcctctt	tcaggtatgg	cacaatagtg	720
tcaagattta	aggattgtgc	agcattggct	acatttggct	atctgtgtaa	gatcactgg	780
atgtccactg	aagatgtgac	aacttggatt	ctaaacaggg	aggtggctga	tgagatgggt	840
caaatgatgt	acccaggaca	ggagatagat	aaggctgatt	cttcatgcc	ttatctaattc	900
gacttaggtc	tgctctcaaa	atctccatat	tcatcagtta	aaaatccagc	tttccatttt	960
tggggccaat	tgaccgcatt	gttactgaga	tcaaccagag	ccagaaatgc	acgtcagccg	1020
gatgacatcg	agtatacatc	cctgaccact	gctgggctgt	tgtatgcata	tgccgttgg	1080
tcgtctcgag	acctggctca	acaattctac	gttggggaca	acaagtatgt	gccagaaact	1140
ggagatggag	gattaaccac	caatgcaccg	ccacaagggc	gagatgtgg	cgagtggctt	1200
agttggttt	aagatcaaaa	cagaaaacct	acccagaca	tgctcatgta	tgctaagaga	1260
gctgtcagtg	ctttacaagg	attgagggag	aagacgattg	gcaagtacgc	caagtcagag	1320
tttgacaaat	gacaactcac	tcaccatatg	tattactacc	tttgcttcat	atgaaaaaaa	1380
ctaacagcga	tcatggatca	gctatcaaag	gtcaaggaat	tccttaagac	ttacgcgcag	1440
ttggatcaag	cagtacaaga	gatggatgac	attgagtctc	agagagagga	aaagactaat	1500
tttgatttgt	ttcaggaaga	aggattggag	attaaggaga	agccttccta	ttatcgggca	1560
gatgaagaag	agattgattc	agatgaagac	agcgtggatg	atgcacaaga	cttagggata	1620
cgtacatcaa	caagtcccat	cgaggggtat	gtggatgagg	agcaggatga	ttatgaggat	1680
gaggaagtga	acgtggtggt	tacatcggac	tggaacagc	ctgagctgga	atccgacggg	1740
gatgggaaaa	ctctccgatt	gacgatacca	gatggattga	ctggggagca	gaagtcgcaa	1800
tggcttgcca	cgattaaggc	agttgttcag	agtgctaaat	attggaacat	ctcagaatgt	1860
tcatttgaga	gttatgagca	aggggttttg	attagagaga	gacaaatgac	tcctgatgtc	1920
tacaaagtca	ctctgtttt	aatgtctcca	ccggttcaaa	tgacagctaa	tcaagatgtt	1980
tggctctcta	gcagcactcc	atttacattt	ttgcccaga	aacaagggtg	gactccattg	2040
accatgtcct	tagaagaact	cttcaacacc	cgaggtgaat	tcatatctct	gggaggaaac	2100
gggaaaatga	gtcaccggga	ggccatcatt	ctaggggtga	gacacaagaa	gctctataat	2160
caagccagac	taaagtataa	cttagcttga	atatgaaaaa	aactaacaga	tatcaaaaga	2220
tatctctaac	tcagtccatt	gtgttcagtt	caatcatgag	ctctctcaag	aaaattttgg	2280
gtattaaagg	gaaaggggaag	aatcttaaga	aattaggtat	ggctcccca	ccctatgaag	2340
aagagactcc	aatggaatat	tctccaagt	caccttatga	taagtcattg	tttgagtcg	2400
aagatatgga	tttccatgat	caacgtcaac	tccgatatga	gaaatttcac	ttctcattga	2460
agatgactgt	gagatcaaac	aaaccatttc	gaaattatga	tgacgttgca	gcagcgggtg	2520
ccaattggga	tcatatgtac	atcggcatgg	caggaaaacg	tcctttttat	aagatattag	2580
cattcatggg	ttctactcta	ttgaaggcta	caccagccgt	ctgggctgac	caaggacagc	2640
cagaatatca	tgctcactgt	gagggacgag	cttacttgcc	gcatcgggta	gggccgaccc	2700

ctccgatgtt gaatgtccct gaacattttc gccgtccatt taacatcgga ttattcagag	2760
ggacaatcga cataaccctg gtacttttcg atgatgaatc ttagatttct gccccggtca	2820
tatgggatca ttttaatgca tccagattga gcagcttcag agaaaaggct ttgttgtttg	2880
gtttgattct agaaaagaaa gccactggga attgggtatt ggactctatt agtcatttca	2940
agtaattatc acaagtgttg aggtgatggg cagactatga aaaaaactaa caggggtcaa	3000
acactcttga tcgaggtacc cagttatatt tgttacaaca atgttgagac tttttctctt	3060
ttgtttcttg gccttaggag cccactccaa atttactata gtattccctc atcatcaaaa	3120
aggggaattg aagaatgtgc cttccacata tcattattgc ctttctagtt ctgaccagaa	3180
ttggcataat gatttgactg gagttagtct tcatgtgaaa attcccaaaa gtcacaaagc	3240
tatacaagca gatggctgga tgtgccacgc tgctaaatgg gtgactactt gtgacttcag	3300
atggtacgga cccaaatata tcacgcattc catacactct atgtcaccca ccctagaaca	3360
gtgcaagacc agtattgagc agacaaagca aggagtttgg attaataccag gctttccccc	3420
tcaaagctgc ggatatgcta cagtgcgga tgcagagggt gttgtgttac aagcaacacc	3480
tcacatgtg ttggttgatg agtacacagg agaattggatt gactcacaat tgggtggggg	3540
caaatgttcc aaggaggttt gtcaaacggt tcacaactcg accgtgtggc atgctgatta	3600
caagattaca gggctgtgag agtcaaatct ggcacagtg gatcacct tcttctctga	3660
ggatgggtcaa aagacgtctt tgggaaaacc gaacactgga ttcaggagta atcactttgc	3720
ttacgaaagt ggagagaagg catgccgtat gcagtactgc acacgatggg gaatccgact	3780
accttctgga gtatggtttg aattagtgga caaagatctc ttccaggcgg caaaattgcc	3840
tgaatgtcct agaggatcca gtatctcagc tccttctcag acttctgtgg atgttagttt	3900
gatacaagac gtagagagga tcttagatta ctctctatgc caggagacgt ggagtaagat	3960
acgagccaag cttctgtat ctccagtaga tctgagttat ctgcgcccaa aaaatccagg	4020
gagcggaccg gccttcaacta tcattaatgg cactttgaaa tatttcgaaa caagatacat	4080
cagagttgac ataagtaatc ccatcatccc tcacatggtg ggaacaatga gtggaaccac	4140
gactgagcgt gaattgtgga atgattggtg tccatatgaa gacgtagaga ttggtccaaa	4200
tggggtgttg aaaactccca ctggtttcaa gtttccgctg tacatgattg ggcacggaat	4260
gttggtattc gatctccaca aatcctccca ggctcaagtc ttcgaacatc cacacgcaa	4320
ggacgctgca tcacagcttc ctgatgatga gactttatct tttggtgaca caggactatc	4380
aaaaaaccca gtagagttag tagaaggctg gttcagtagc tggagagca cattggcatc	4440
gttctttctg attataggct tgggggttgc attaatcttc atcattcgaa ttattgttgc	4500
gattcgtat aaatacaagg ggaggaagac caaaaaatt tacaatgatg tcgagatgag	4560
tcgattggga aataaataac agatgacgca tgagggtcag atcagattta cagcgtaagt	4620
gtgatattta ggattataaa ggttccttaa ttttaatttg ttacgcgttg tatgaaaaaa	4680
actcatcaac agccatcgcc accatgcagg ccgagggcag aggcacaggc ggatctacag	4740

gcgacgccga tggccctggc ggccctggaa ttcctgacgg acctggcggc aatgccggcg 4800  
 gacccggaga agctggcgcc acaggcgga gaggacctag aggcgctggc gccgctagag 4860  
 cttctggacc aggcggaggg gccctagag gacctcatgg cggagccgcc tccggcctga 4920  
 acggctgttg cagatgtgga gccagaggcc ccgagagccg gctgctggaa ttctacctgg 4980  
 ccatgccctt cgccaccccc atggaagccg agctggccag acggctccctg gcccaggatg 5040  
 ctctctctct gcctgtgccc ggcgtgctgc tgaaagaatt caccgtgtcc ggcaacatcc 5100  
 tgaccatccg gctgactgcc gccgaccaca gacagctcca gctgtctatc agctcctgcc 5160  
 tgcagcagct gagcctgctg atgtggatca cccagtgtct tctgcccgtg ttcctggctc 5220  
 agccccccag cggccagaga agatgagtcg acacgcgttg tatgaaaaaa actcatcaac 5280  
 agccatcatg gatgttaacg attttgagtt gcatgaggac tttgcattgt ctgaagatga 5340  
 ctttgtcact tcagaatttc tcaatccgga agaccaaag acatacctga atcatgccga 5400  
 ttataatttg aattctccct taatcagcga tgatattgat ttcctgatca agaaatataa 5460  
 tcatgagcaa attccgaaaa tgtgggatgt caagaattgg gagggagtgt tagagatgtt 5520  
 gacagcctgt caagccagtc caattttatc tagcactatg cataagtggg tgggaaagtg 5580  
 gctcatgtct gatgatcatg acgcaagcca aggccttcagt tttcttcagt aagtggacaa 5640  
 agaagctgat ctgacgtttg aggtgggtga gacattcatt agaggatggg gaggtcgaga 5700  
 attgcagtac aagaggaaag acacatttcc ggactccttt agagttgcag cctcattgtg 5760  
 tcaaaaattc cttgatttgc acaaactcac tctgataatg aattcagtct ctgaagtcga 5820  
 acttaccac ctagcaaga attttaaagg aaaaaacagg aaagcaaaaa gcggaaatct 5880  
 gataaccaga ttgaggggtc ccagtttagg tcctgctttt gtgactcagg gatgggtgta 5940  
 catgaagaag ttggaatga ttatggatcg gaattttttg ttgatgttga aagacgttat 6000  
 catcgggagg atgcagacga tcctgtccat gatctcaaga gatgataatc tcttctccga 6060  
 gtctgatatc tttactgtat taaagatata ccggataggg gataagatat tagaaaggca 6120  
 agggacaaag ggttacgact tgatcaaaat gattgagcct atttgtaact taaagatgat 6180  
 gaatctggca cgtaaatatc gtcctctcat ccctacattt cctcattttg aaaaacatat 6240  
 tgctgactct gttaaggaag gatcgaaaat agacaaaggg attgagttta tatatgatca 6300  
 cattatgtca atccctggtg tggacttgac cttagttatt tacggatcat ttcggcactg 6360  
 gggtcacct tttatcaact actatgaggg cttagagaag ctacacaagc aggttacaat 6420  
 gcccagact attgacagag aatatgcaga atgtcttgct agtgatctgg caagaatcgt 6480  
 tcttcagcaa caattcaatg aacataagaa atggtttgtt gatgtagata aagtcccaca 6540  
 atcccatcct ttcaaaagcc atatgaaaga gaatacttg cctactgcag cccaagtcca 6600  
 ggattacggc gatcgtggc atcagctccc actcatcaaa tgcttcgaaa tcccagattt 6660  
 gttagatcca tcgatcatct actcagacaa aagtcattcc atgaaccggt ctgaagtact 6720  
 acgacatgta agacttacac ctcatgtgcc cattccaagc aggaaagtat tgcagacaat 6780

gttggagact aaggcaacag actggaaga gtttttaaag aaaattgacg aagaggggtt 6840  
 agaggatgat gatcttgtca taggactcaa agggaaagag agagaattaa aaattgcggg 6900  
 aagattcttt tctttgatgt cctggaagct cagagagtat tttgtcatca ctgagtattt 6960  
 gattaagacg cactttgtcc cgatgtttaa aggggtgacc atggcggatg acttgacagc 7020  
 ggtgataaag aagatgatgg acacatcttc aggacaaggc ttagataatt atgaatccat 7080  
 ttgtatagcc aaccatattg actatgagaa gtggaacaat catcaaagaa aagagtcgaa 7140  
 cgggcccgtg ttcaagggtga tgggtcaatt cttgggatat ccacgtctga ttgagagaac 7200  
 tcatgaattt ttgagaaga gtctgatata ttacaatgga cgaccagatc tgatgcgggt 7260  
 tcgaggaaat tctctagtca acgcctcatc tttaaatgtc tgctgggagg gtcaagctgg 7320  
 gggattagaa ggactgcgac agaagggatg gagtattcta aatttgcttg tcattcagag 7380  
 agaagcaaaa ataaggaaca ccgccgtgaa agtgctagct caaggtgaca atcagggtgat 7440  
 atgtactcag tataaaacga agaaatcccc gaatgatatt gagcttaagg cagctctaac 7500  
 acagatggta tctaataatg agatgattat gtctgcgatt aaatcaggca ccgagaaact 7560  
 gggctctttg attaatgatg atgagacaat gcaatctgct gattacctca attacgggaa 7620  
 ggttcccatt ttcagaggag taatcagagg ccttgagaca aaaagatggt cacgcgtgac 7680  
 ctgtgtgaca aatgatcaga ttccaacgtg tgccaacatt atgagctctg tgtcaactaa 7740  
 tgcattaact gtagcccatt ttgccgagaa tccagtcaat gccatcattc agtataacta 7800  
 ctttggaaca ttgcaaggc tactgctgat gatgcatgac cccgctctga ggatctctct 7860  
 gtatgaagtc caatcaaaaa ttccaggact tcacagtttg acatttaaat attctatgtt 7920  
 gtatctggat ccttcgatag gaggagtctc cggaatgtca ctctcgagat tcctcataag 7980  
 atcattttcca gatccagtga cagaaagttt ggcgttcttg aaatttatcc actctcatgc 8040  
 aagaagcgat tcattaaagg agatatgtgc agtttttgga aatcctgaaa ttgcaagatt 8100  
 tcggctaact catgtcgata aattggtgga agaccaacc tcattgaaca tagctatggg 8160  
 aatgagtcct gctaattctat taaagacaga ggtaaaaaaa tgtctactgg aatcaaggca 8220  
 gagcatcaag aaccagattg taagagatgc tactatttac ctacaccatg aggaagacaa 8280  
 acttcgtagt ttcttatggg ccataacacc actgttcctc cggttcttga gtgaattcaa 8340  
 atctgggaca ttcatcggag tagcagatgg cctgatcagc ttatttcaga actctaggac 8400  
 tattcgaaat tcttttaaaa agcgttatca cagggaactt gatgatttaa taatcaagag 8460  
 cgaagtttcc tcacttatgc atttgggtaa gctacatttg aggcgaggct cagttcgtat 8520  
 gtggacttgc tcttctactc aggtgatct tctccgattc cggtcatggg gaagatctgt 8580  
 tataggaacc acagtccctc atcccttaga gatgttagga caacatttta aaaaggagac 8640  
 tccttgagcgt gcttgcaaca tatccgatt agactatgta tctgtccact gtccgaatgg 8700  
 gattcatgac gtttttgaat cacgtgttcc actccctgca tatttgggtt ctaaaacatc 8760  
 cgaatcaact tcgatcttgc agccgtggga gagagagagt aaagtaccgt tgattaagcg 8820

tgccacaagg cttcgtgatg caatttcacg gtttgtgtct cccgactcta acttggcctc	8880
aactatcctt aagaacataa atgcattaac aggagaagaa tggtaaaga agcagcatgg	8940
atttaaaagg acgggatcgg cgttacacag gttctccaca tccaggatga gtcattggtg	9000
ttttgcttct cagagtacgg ctgccttgac tagattgatg gcaactactg aactatgag	9060
agatctggga gaacagaact atgatttcct gtttcaggcg acattattgt atgctcaaat	9120
aaccacaact gtagtcagga atggatcatt tcatagctgc acggaccatt accatataac	9180
ctgcaaatct tgtctgaggg ccattgatga gattaccttg gattcagcga tggaatatag	9240
ccctccagat gtatcatcag ttttacaatc ttggaggaat ggagaaggct cttggggaca	9300
tgaagtgaag caaatatacc cagttgaagg tgactggagg ggactatctc ctgttgaaca	9360
atcttatcaa gtcggacgct gtatcgggtt tctgttcggt gatctggcgt atagaaaatc	9420
atcccatgca gatgatagct ccattgttcc gttatctata caaaacaaag tcagaggaag	9480
aggcttttta aaagggctta tggatgggtt aatgagagcc agttgttgcc aggtgatcca	9540
tcgtcgaagc ttagcccatc tgaagagacc ggctaatagc gtctatggag ggctgattta	9600
tttgatagac aaattgagtg catctgcccc ttttctttca ctgacgagac atggaccttt	9660
aagggaaaga ttagaaactg ttccacataa gataccgact tcttatccta cgagcaaccg	9720
agatatgggg gtgatagttc gtaattatct taaatatcag tgcagactgg tagaaaaagg	9780
tcggtacaag acacattatc ctcaattgtg gcttttctca gatgtgctgt ccattgattt	9840
cttaggacct ctgtctatat cttcaactct attgggtatt ctgtataaac agacgttatc	9900
ttctcgagac aaaaatgagt tgagagaact cgctaacttg tcttcattgt tgagatcagg	9960
agaaggatgg gaagatatcc atgtcaaatt cttctctaag gacactttac tctgccctga	10020
agagatccga catgcgtgca aatttgggat tgctaaggaa tccgctgttt taagctatta	10080
tcctccttgg tctcaagagt cttatggagg catcacctcg atccccgtat attttctgac	10140
caggaagtat cccaaaattt tagatgtccc tcctcgggtt caaaacccat tgggtctcggg	10200
tctacgattg gggcaactcc ctactggagc acattataag attaggagca ttgtaaagaa	10260
caagaacctt cgttatagag atttccttag ttgtggggat ggatctgggg ggatgaccgc	10320
ggcactattg agagaaaaca gacaaagtag gggaatcttc aacagcctgt tagagttagc	10380
cggatctctt atgagaggag catctccaga gcctccaagt gcaactggaga cgctcgggca	10440
agaacgatct aggtgtgtga atggaagcac atgttgggag tactcatctg acctaagcca	10500
aaaagagaca tgggattact tcttaagatt gaagagaggc ctgggtttga ccgtggactt	10560
aatcaccatg gacatggagg tcagagacct taatacaagt ttgatgatag aaaagaacct	10620
caaagtttat ctgcatcaga tattagaacc aactggtgtc ttaatatata aaacatacgg	10680
gacctatatt gcgacacaaa cagataatat cctgacgata atcggtcctt tctttgagac	10740
ggttgacctt gtccagtccg aatacagcag ctcaaaacg tccgaggtct atttttagg	10800
acgaggcttg cgctctcatg ttgacgaacc ctgggtggac tggccatcct taatggacaa	10860



```

ttggagatcc atttatgctt ttcgatgcc tactacagaa tttatcagag caaaaaaagt 10920
ctgtgaaatt gacagtctta taggcattcc ggctcaattc attccagacc catttgtaaa 10980
tctcgagacc atgctacaga tagttggtgt tccaacagga gtttcgcatg ccgcagctct 11040
attatcatca caatatccaa atcaattggt cacaacgtca atattttata tgacactcgt 11100
gtcttattat aatgtaaacc atattcgaag aagccccaag cttttctctc ctccgtctga 11160
tggagtctca cagaacattg gttcagccat agtcggacta agtttttggg tgagtttgat 11220
ggagaatgat ctcgattat acaaacaggc tctaggtgca ataaagacgt cattccctat 11280
tagatgggcc tctgtccaga ccaaggatgg gtttacacaa gaatggagaa ctaaaggaaa 11340
cggaattcct aaagattgtc gtctctcaga ctctttggct cagataggaa actggatcag 11400
agcgatggaa ttggttagga acaaacagag gcaatcagga ttttctgaaa ccctatttga 11460
tcaattctgc ggacttgag accatcacct caaatggcgg aagttgggaa acagaacagg 11520
aattattgat tggctaaata atagaatttc atccattgac aaatccatct tggtagacca 11580
aagtgatctg catgacgaga actcatggag ggagtgaaga tgtattcttc cacctctcat 11640
tgggtgatac ccatatatga aaaaaactat aagtacttta aactctcttt gtttttaaat 11700
gtatatctgg ttttgtgttt tccgt 11725

```

```

<210> 16
<211> 238
<212> PRT
<213> Homo sapiens

```

```

<400> 16

```

```

Met Pro Val Gly Gln Ala Asp Tyr Phe Glu Tyr His Gln Glu Gly Gly
1      5      10      15
Pro Asp Gly Glu Pro Asp Met Pro Pro Gly Ala Ile Glu Gln Gly Pro
20     25     30
Ala Asp Asp Pro Gly Glu Gly Pro Ser Thr Gly Pro Arg Gly Gln Gly
35     40     45
Asp Gly Gly Arg Arg Lys Lys Gly Gly Trp Phe Gly Lys His Arg Gly
50     55     60
Gln Gly Gly Ser Asn Gln Lys Phe Glu Asn Ile Ala Asp Gly Leu Arg
65     70     75     80
Thr Leu Leu Ala Arg Cys His Val Glu Arg Thr Thr Asp Glu Gly Thr
85     90     95
Trp Val Ala Gly Val Phe Val Tyr Gly Gly Ser Lys Thr Ser Leu Tyr
100    105    110
Asn Leu Arg Arg Gly Ile Ser Leu Ala Ile Pro Gln Cys Arg Leu Thr
115    120    125

```

37

Pro Leu Ser Arg Leu Pro Phe Gly Met Ala Pro Gly Pro Gly Pro Gln  
130 135 140

Pro Gly Pro Leu Arg Glu Ser Ile Val Cys Tyr Phe Ile Val Phe Leu  
145 150 155 160

Gln Thr His Ile Phe Ala Glu Gly Leu Lys Asp Ala Ile Lys Asp Leu  
165 170 175

Val Met Pro Lys Pro Ala Pro Thr Cys Asn Ile Lys Ala Thr Val Cys  
180 185 190

Ser Phe Asp Asp Gly Val Asp Leu Pro Pro Trp Phe Pro Pro Met Val  
195 200 205

Glu Gly Ala Ala Ala Glu Gly Asp Asp Gly Asp Asp Gly Asp Asp Gly  
210 215 220

Asp Glu Gly Gly Asp Gly Asp Glu Gly Glu Glu Gly Gln Glu  
225 230 235

<210> 17  
<211> 717  
<212> ДНК  
<213> Homo sapiens

<400> 17  
atgccagtcg gccaggctga ttactttgaa taccaccagg aggggggacc agacggagaa 60  
ccagacatgc caccaggagc cattgaacag ggaccagcag acgacacctg agagggacca 120  
tcaactggac cccgaggaca gggggacggc ggaaggagaa agaaaggggg atggttcggg 180  
aagcaccgag gacaggagg gagcaaccag aaatttgaaa atatcgctga cggcctgcga 240  
acactgctgg caaggtgcc tgtggagaga accacagatg aaggcacatg ggtcgccgga 300  
gtgttcgtct acggcggaag caagacttcc ctgtataacc tgcggcgagg catctctctg 360  
gccattccac agtgccggct gaccctctg agtcgcctgc cattcgggat ggctcctgga 420  
ccaggaccac agcctggacc actgaggag tccatcgtgt gctacttcat tgtctttctg 480  
cagacacaca tctttgccga aggcctgaag gacgccatca aggacctggt catgccaag 540  
cctgcaccaa cttgcaatat caaggccacc gtgtgcagtt tcgacgatgg cgtggacctg 600  
cccccttggt ttccacctat ggtggaggga gccgctgcag aaggggacga tggcgatgac 660  
ggggacgatg gggatgaagg cggggacggc gatgaggag aagaggggca ggaataa 717

<210> 18  
<211> 30  
<212> ДНК  
<213> Искусственная последовательность

<220>  
<223> primer

<400> 18 actggaattc atgcatcaga agcgaactgc	30
<210> 19 <211> 29 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность	
<220> <223> Праймер	
<400> 19 actgggatcc tcactgctgg gaggcacac	29
<210> 20 <211> 29 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность	
<220> <223> Праймер	
<400> 20 actgggatcc atgcaggccg agggcacag	29
<210> 21 <211> 30 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность	
<220> <223> Праймер	
<400> 21 actgggatcc tcattctctc tggccgctgg	30
<210> 22 <211> 31 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность	
<220> <223> Праймер	
<400> 22 actggaattc atggaatcac ggaaggacat c	31
<210> 23 <211> 32 <212> ДНК <213> Искусственная последовательность	
<220> <223> Праймер	
<400> 23 actgggatcc ttaaagcttc agctggctac ag	32
<210> 24 <211> 29 <212> ДНК	

<213> Искусственная последовательность

<220>

<223> Праймер

<400> 24

actggaattc atgccagtcg gccaggctg

29

<210> 25

<211> 31

<212> ДНК

<213> Искусственная последовательность

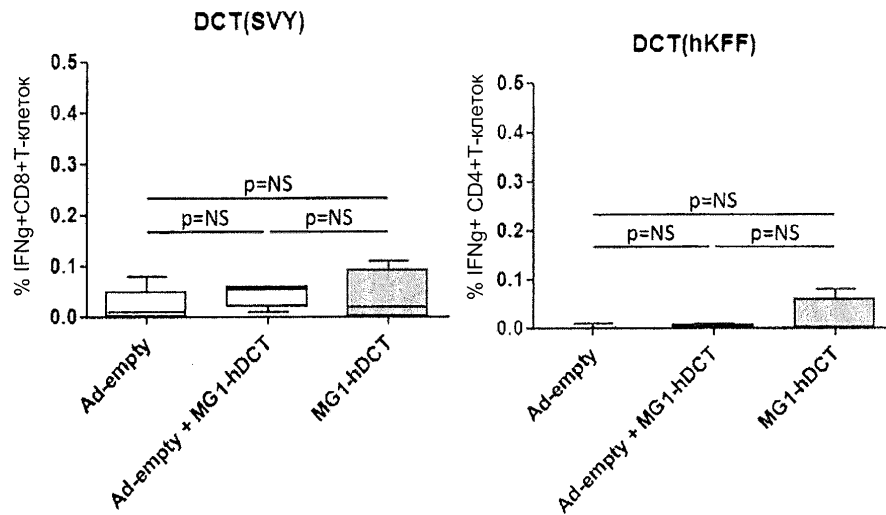
<220>

<223> Праймер

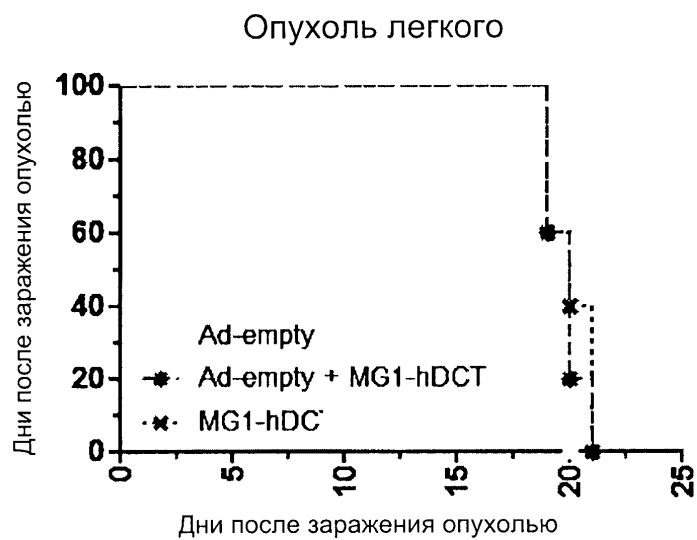
<400> 25

actgggatcc ttattcctgc ccctcttctc c

31

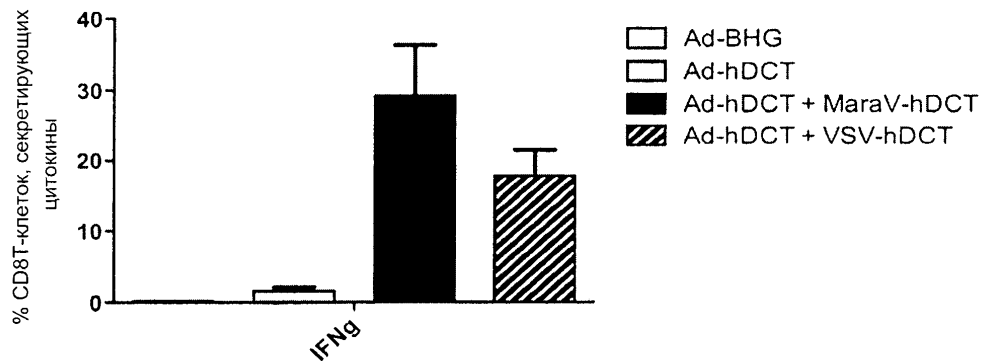


Фигура 1А

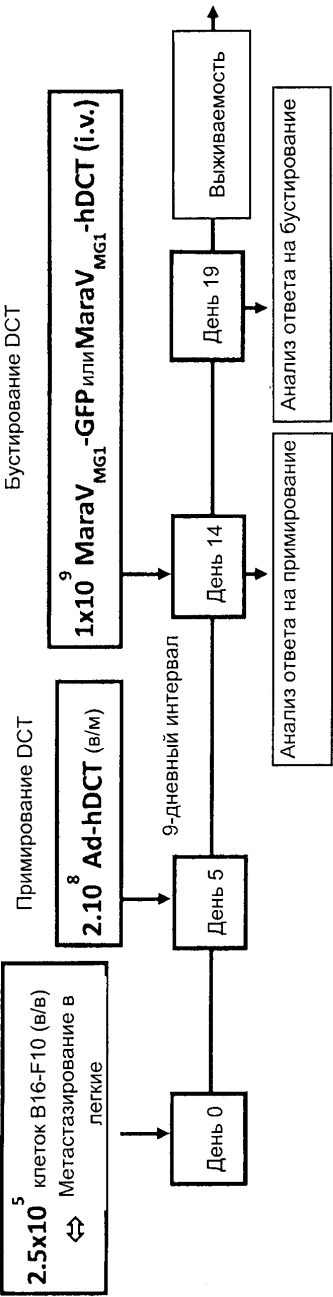


Фигура 1В

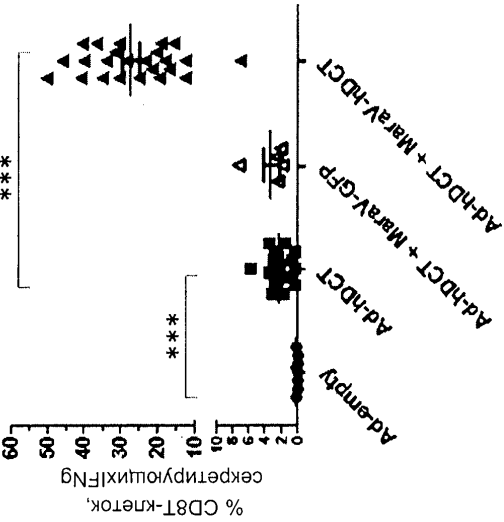
Бустирование – частота – ответ CD8Т-клеток на DCT (SVY)



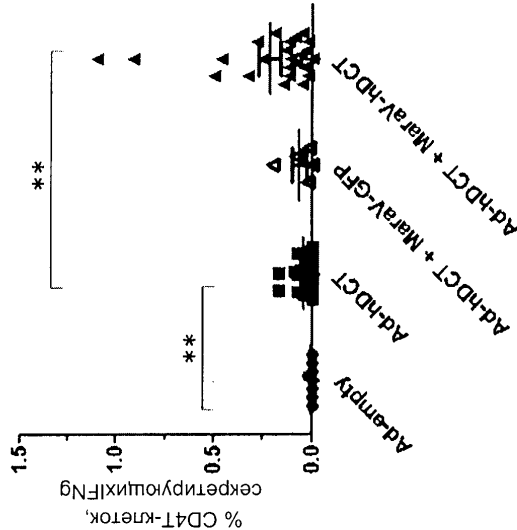
Фигура 2



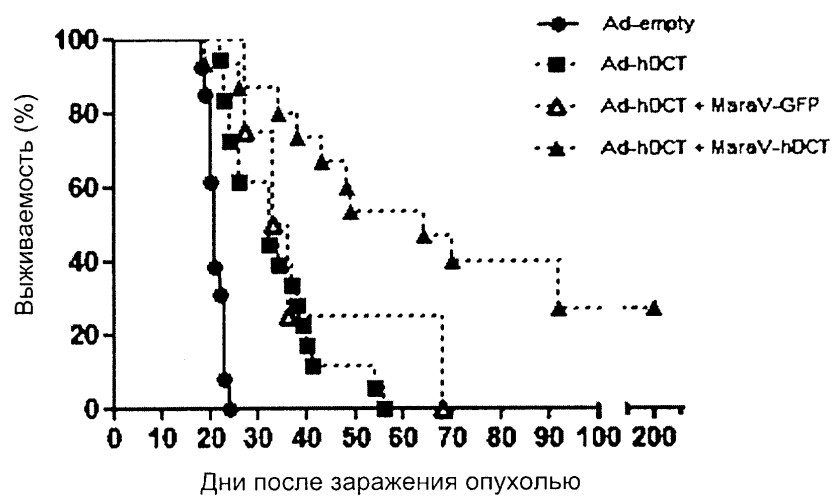
hDCT-специфический ответ CD8 T-клеток



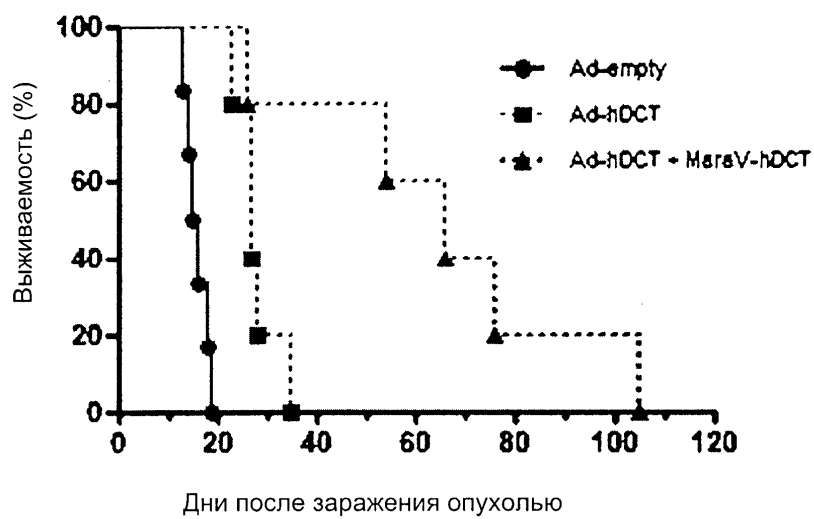
hDCT-специфический ответ CD4T-клеток



Фигура 3

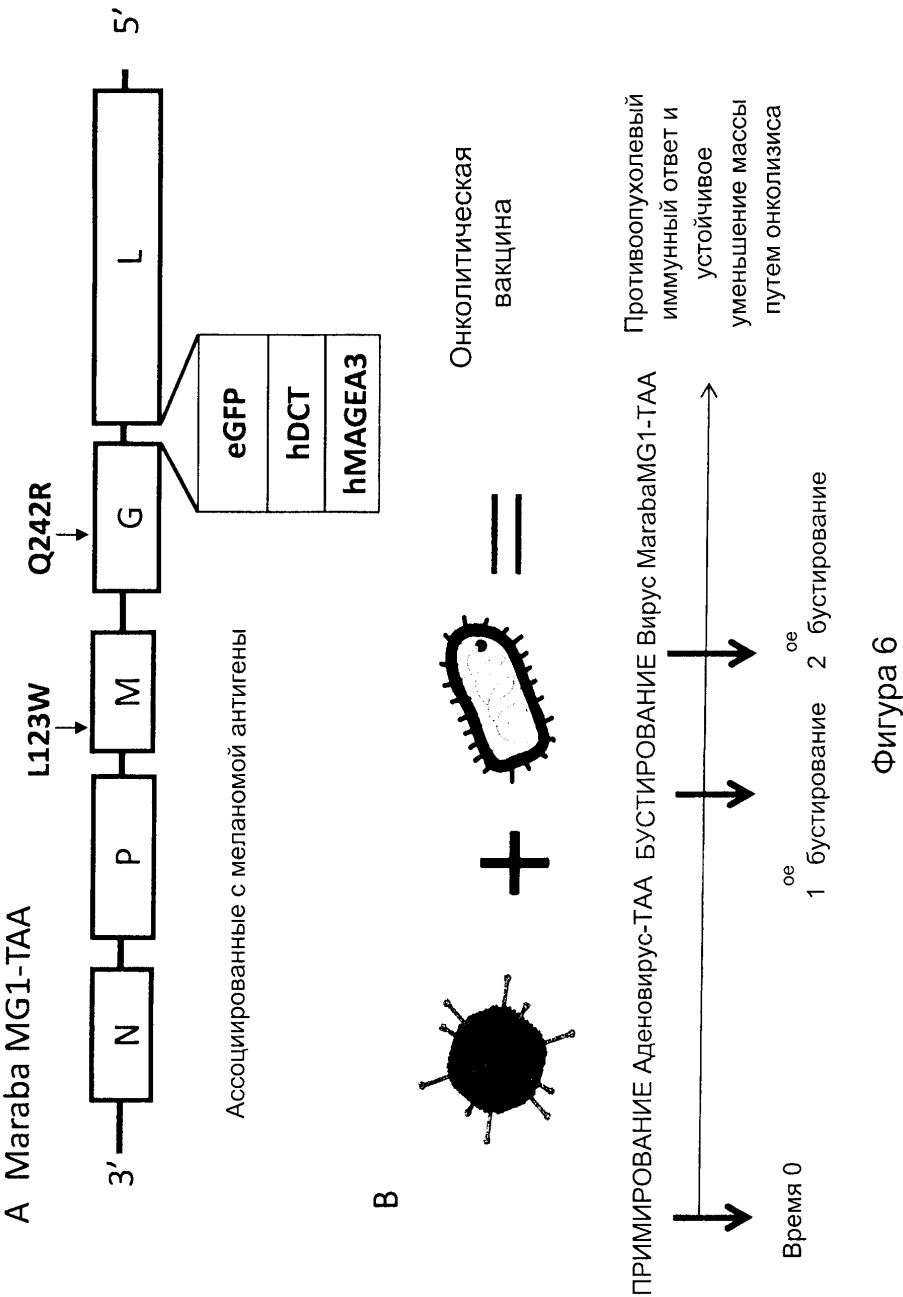


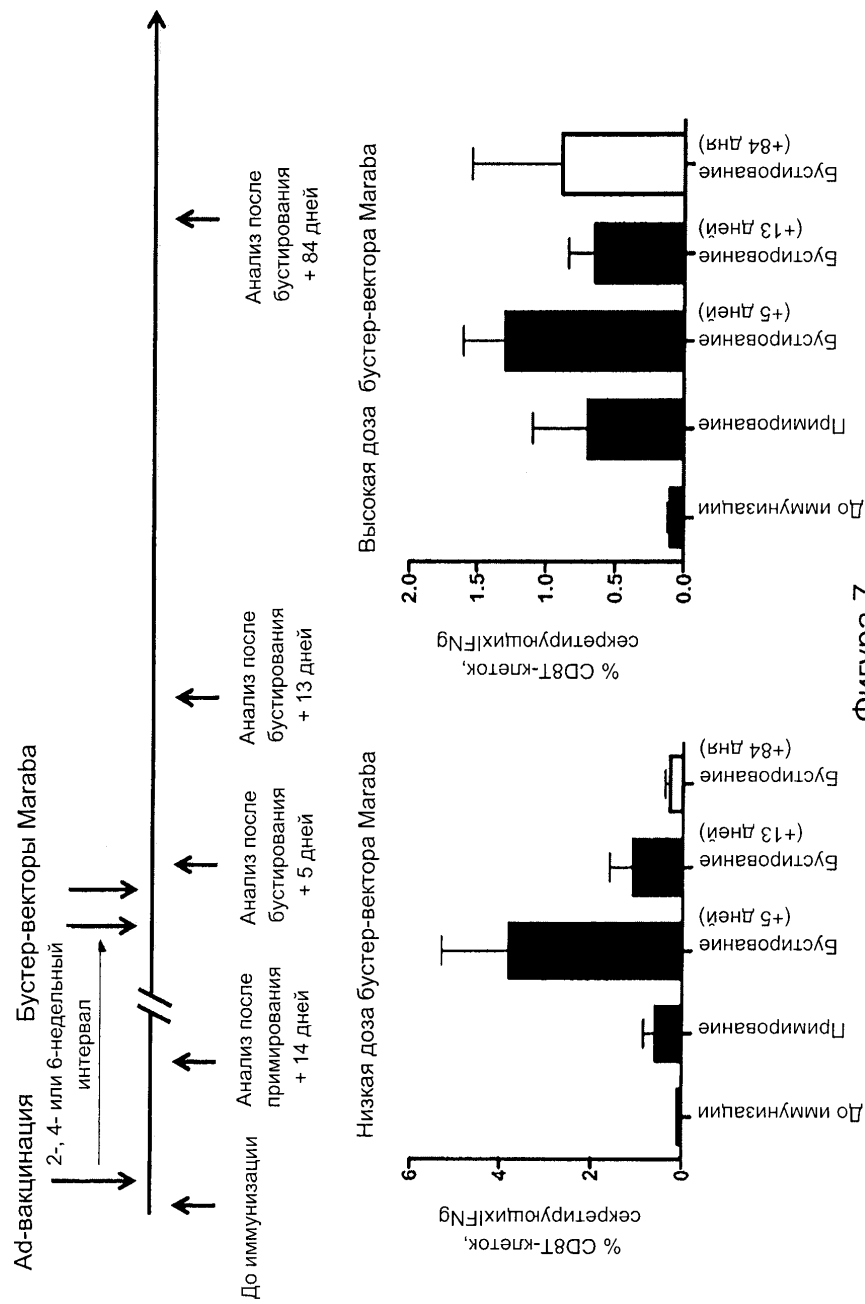
Фигура 4



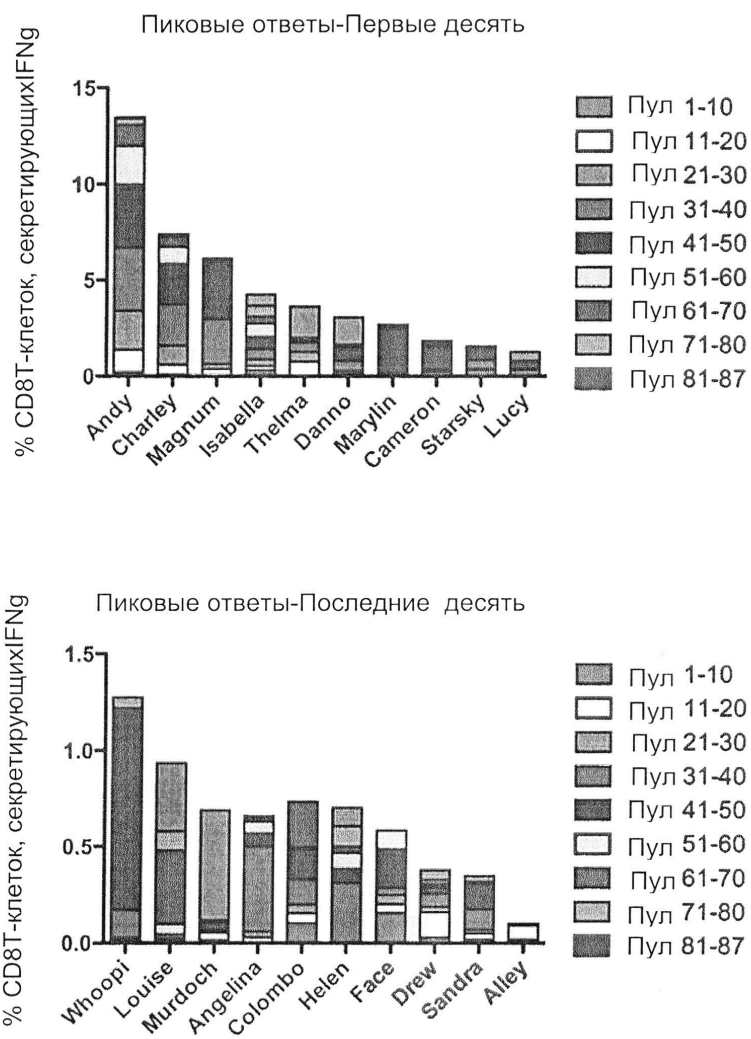
Фигура 5



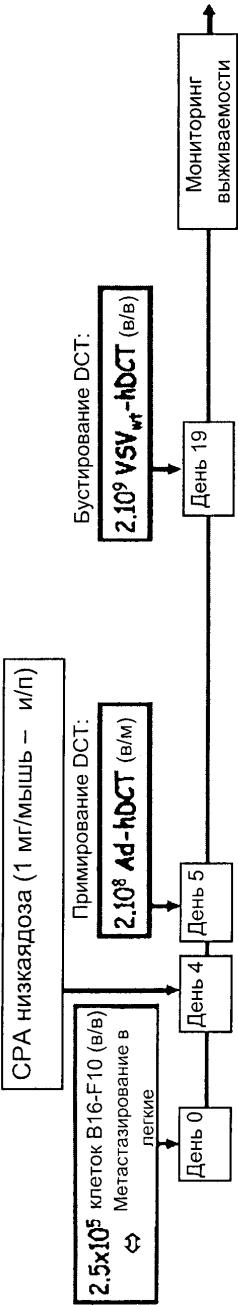




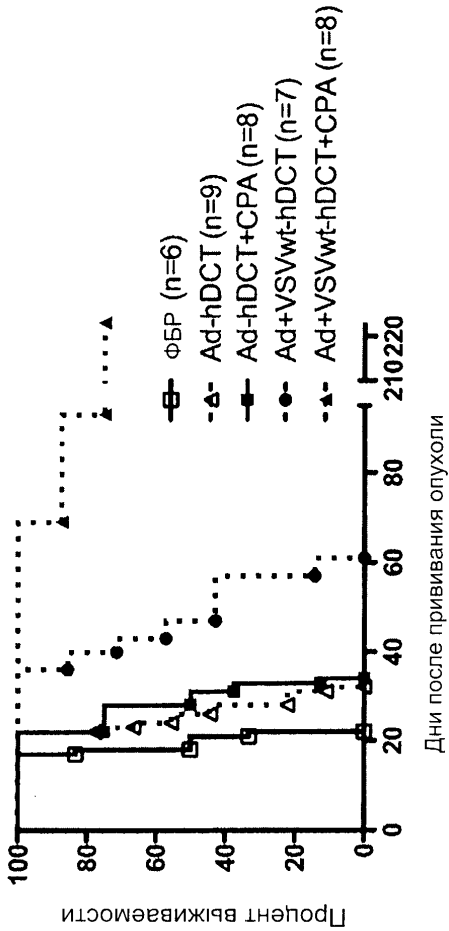
Фигура 7



Фигура 8



Выживаемость: модель метастазов в легких B16-F10



Фигура 9