



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117580954 A

(43) 申请公布日 2024. 02. 20

(21) 申请号 202280046020.5

(22) 申请日 2022.05.04

(30) 优先权数据

63/183,945 2021.05.04 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.12.27

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2022/027684 2022.05.04

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/235810 EN 2022.11.10

(71) 申请人 阿利维德有限责任公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 D·图克

(74) 专利代理机构 北京思益华伦专利代理事务所(普通合伙) 11418

专利代理师 赵飞 李敬

(51) Int.Cl.

C12N 15/86 (2006.01)

权利要求书1页 说明书6页

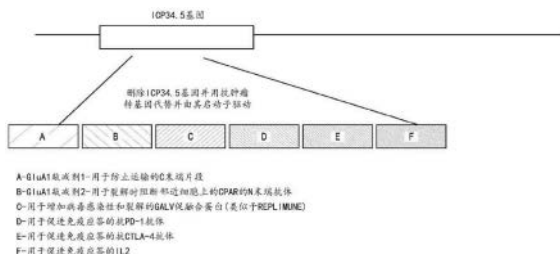
序列表1页 附图17页

(54) 发明名称

用于治疗脑癌的生物实体

(57) 摘要

公开了一种用于治疗脑癌、特别是胶质瘤的生物实体,以及一种包含所述生物实体的载体。所述生物实体是至少包含由至少一种GluA敲减剂、优选至少两种GluA敲减剂构成的抗肿瘤转基因的构建体,并且优选地进一步包含促融合蛋白,以及抗PD-1抗体、抗CTLA-4抗体和IL12的免疫应答促进剂。所述载体包含野生型HSV-1病毒,其中所述生物实体替换所述野生HSV-1病毒的ICP 34.5基因。在单独培养的神经元细胞和胶质母细胞瘤细胞中以及在神经元细胞与胶质母细胞瘤细胞的共同培养物中,包含用所述生物实体修饰的野生型HSV-1病毒的所述载体均显示出对神经元的较少负面影响,同时显示出对人胶质母细胞瘤细胞的积极影响。



1. 一种有效杀伤人胶质母细胞瘤细胞的生物实体,其包含至少一种抗肿瘤转基因,该抗肿瘤转基因由至少一种AMPA受体干扰剂或GluA敲减剂构成。
2. 根据权利要求1所述的生物实体,其中至少一种抗肿瘤转基因包含两种GluA敲减剂。
3. 根据权利要求2所述的生物实体,其中所述两种GluA敲减剂靶向包括GluR1和GluR2在内的AMPA受体亚基。
4. 根据权利要求1所述的生物实体,其中所述生物实体进一步包含促融合蛋白,呈抗PD-1抗体、抗CTLA-4抗体和IL12构建体形式的免疫应答促进剂。
5. 一种有效杀伤人胶质母细胞瘤细胞的载体,其包含野生型HSV-1病毒和至少一种抗肿瘤转基因,该抗肿瘤转基因由至少一种GluA敲减剂构成。
6. 根据权利要求5所述的载体,其中所述至少一种抗肿瘤转基因包含两种GluA敲减剂。
7. 根据权利要求6所述的载体,其中所述两种GluA敲减剂靶向包括GluR1和GluR2在内的AMPA受体亚基。
8. 根据权利要求5所述的载体,其中所述抗肿瘤转基因进一步包含促融合蛋白,抗PD-1抗体、抗CTLA-4抗体和IL2的免疫应答促进剂。
9. 根据权利要求4所述的载体,其中所述载体替换所述野生HSV-1病毒的ICP 34.5基因。

## 用于治疗脑癌的生物实体

### 背景技术

#### 1. 技术领域

[0001] 本公开涉及一种用于治疗脑癌、特别是胶质瘤的新型生物实体。

#### [0002] 2. 背景技术讨论

#### [0003] 针对胶质瘤的现有治疗

[0004] 胶质瘤是最常见的恶性脑癌形式,并且其最恶性的形式—胶质母细胞瘤 (GBM) 属于最致命的癌症。GBM患者的平均存活期为确诊后一年多一些。与单独放射相比,目前一线胶质母细胞瘤的标准护理—特莫达 (Temodar) 将总存活期从12.1个月增加到14.6个月,如FDA关于特莫达的完整处方信息 (FDA Full Prescribing Information for Temodar) 中所述。(参见图1)。

[0005] 在过去20年中,已经存在一系列研究胶质瘤中的溶瘤病毒的小型试验。在他们的最初构想中,溶瘤病毒 (OV) 是经工程改造以感染肿瘤细胞而非正常组织的病毒,主要通过删除1型单纯疱疹 (HSV-1) 的ICP34.5基因来进行,HSV-1需要该基因来抵御由非肿瘤细胞生成的免疫应答 (参见Mineta, T等人“Attenuated multi-mutated herpes simplex virus-1 for the treatment of malignant gliomas.”, Nature Medicine 1, 第9期(1995年9月): 938-943)。由于需要在肿瘤部位施用OV,因此首个使用OV的重大制药尝试是针对皮肤癌。Biovex/Amgen的Imlygic是一种经工程改造的HSV-1病毒,于2015年获批用于皮肤癌。还已经工程改造了其他病毒用于抗癌目的,包括腺病毒、牛痘病毒、脊髓灰质炎、柯萨奇病毒等。但迄今为止,只有基于HSV-1的病毒已经展示出此类治疗概念的明确临床证据。

[0006] 在胶质瘤中,尚未进行过随机溶瘤病毒试验。然而,肿瘤缩小和抗肿瘤免疫应答的证据使临床界备受鼓舞,该肿瘤缩小和抗肿瘤免疫应答似乎是由OV在一些患者体内的传播所驱动的。定性来看,与其他肿瘤相比,在胶质瘤中进行的OV研究在所有研究中所占的百分比更高。这可能有以下几个原因:i) 血脑屏障给传统药剂的全身递送带来了挑战,ii) 评估程序的侵袭性使得瘤内施用更容易接受;以及iii) 预后的可怕性产生了一种允许脑内施用实验病毒的风险/效益计算。

[0007] 2021年4月,The New England Journal of Medicine发表了一项早期试验。阿拉巴马大学伯明翰分校 (University of Alabama Birmingham) 的研究人员用1995年创建的OV构建体来治疗患者。(参见Friedman等人“Oncolytic HSV-1 G207 Immunotherapy for Pediatric High-Grade Gliomas”, N Engl. J Med 2021;384:1613-1622) (参见图2)。

[0008] 一家名为DNAtrix的公司正在基于少数在其早期试验中有应答的患者将腺病毒OV用于3期胶质母细胞瘤。(参见Lang等人“Phase I Study of DNX-2401 (Delta-24-RGD) Oncolytic Adenovirus: Replication and Immunotherapeutic Effects in Recurrent Malignant Glioma.”, Journal of Clinical Oncology 36, 第14期, 1419-1427 (2018年5月)) (参见图3)。并且,在2021年6月,日本卫生当局批准了由Todo和Daiichi Sankyo销售的溶瘤病毒Tespaturev (G47 Δ) 用于治疗恶性胶质瘤。

[0009] 2020年11月,由Imlytic的发明者创办的公司Replimune发布了其新一代OV即RP2的概念验证临床数据,为OV领域带来了突破。他们的第一代候选物RP1与免疫检查点抑制剂的联合似乎已展示出针对皮肤癌的疗效,但尚未展示出单一药剂活性。RP2在其构建体内包括针对PD-1和CTLA-4的检查点抑制剂抗体。因此,RP2的效力比RP1似乎有所提高,是“经负载的OV”——一种将该病毒用作抗癌剂的递送剂,同时本身仍是抗癌剂的OV(参见Aroldi,F.等人“Initial results of a phase 1 trial of RP2,a first in class,enhanced potency,anti-CTLA-4 antibody expressing,oncolytic HSV as single agent and combined with nivolumab in patients with solid tumors”,2020年癌症免疫治疗学会年会海报)(参见图4)。图5示出了Replimune (REPL) RP-1的示意图(参见Thomas,S.等人“Development of a new fusion-enhanced oncolytic immunotherapy platform based on herpes simplex virus type 1”,Journal for ImmunoTherapy of Cancer 7,第1期,6-17(2019年12月))。

[0010] 上市公司Oncorus目前正在测试含有5种免疫刺激转基因的OV,名为ONCR-177(参见图6)。据说ONCR-177有效载荷被设计成刺激从头的富有成效的抗肿瘤应答(参见Kennedy,E.M.等人,“Design of ONCR-177base vector,a next generation oncolytic herpes simplex virus type-1,optimized for robust oncolysis,transgene expression and tumor-selective replication.”,2019年美国癌症研究协会年会海报)。

#### [0011] 钙渗透性AMPA受体 (CPAR)

[0012] 2019年,Venkataramani等人在Nature上发表了钙渗透性AMPA受体 (CPAR) 有助于肿瘤细胞的维持并且通过其在神经元突触处的信号传导扩散到胶质瘤肿瘤细胞上(Venkataramani,V.等人,“Glutamatergic synaptic input to glioma cells drives brain tumour progression.”,Nature 573,532-538(2019)) (图7)。CPAR是AMPA型谷氨酸受体的一种亚型,在过去10-15年间成为大脑变化过程的重要驱动因素。CPAR通常与学习和记忆过程有关,它们在这些过程中是信息存储在海马中的物理表现的一部分,也是奖励驱动行为所必需的。

[0013] 本发明人帮助阐明了CPAR从神经元胞浆向突触运输的细胞内机制(参见Tukey,D.S.等人,“Sucrose ingestion induces rapid AMPA receptor trafficking.”,Journal of Neuroscience 33,第14期,6123-6132(2013年4月)) (图8),并且证明了CPAR本身一旦并入突触,就可成为变化的驱动因素(参见Tukey,D.S.和Ziff,E.B.,“Ca<sup>2+</sup>-permeable AMPA ( $\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid) receptors and dopamine D1 receptors regulate GluA1trafficking in striatal neurons”,Journal of Biological Chemistry 288,第49期,35297-35306(2013年12月)) (图9)。重要的是,CPAR也是神经元和胶质细胞之间突触变化不可或缺的(参见Ge,WP等人,“Long-term potentiation of neuron-glia synapses mediated by A2<sup>+</sup>-permeable AMPA receptors.”,Science 312,第5779期,1533-1537(2006年6月))。胶质细胞是神经元的支持细胞,其基因失调导致胶质瘤。

#### 发明内容

[0014] 本公开是一种治疗脑癌、即胶质瘤的新型生物实体。本公开利用新溶瘤病毒(OV)

应用神经元突触生物学。

[0015] 本公开提供了一种新OV,其是单纯疱疹病毒1 (HSV-1),经工程改造以在肿瘤细胞中选择性地感染和复制,同时表达刺激抗肿瘤免疫应答的转基因以通过阻断神经元-肿瘤突触来防止或至少减轻脑癌的扩散。新OV是删除了其ICP 34.5基因并且用可能包含抗肿瘤转基因并且由ICP47基因启动子驱动的构建体替换的HSV-1。

[0016] 新OV通过瘤内注射施用以实现与目前的标准护理/治疗相比更好的总体应答率以及因此可能更好的总体存活率。目前的标准护理是单独的替莫唑胺以及上文讨论的目前正在开发用于胶质瘤的其他OV。减缓脑癌扩散的总体应答率的改进给患者生命带来了不可估量的益处。

[0017] 新OV优选地至少含有对胶质瘤细胞中的AMPA受体(包括CPAR)的主要亚基GluA1和GluA2蛋白的基因干扰,以通过干扰AMPA受体的运输并且因此干扰胶质瘤细胞-神经元突触来减缓肿瘤细胞的增殖。新OV被设计成以实现局部突触GluA1和GluA2敲减的有效方式递送GluA1和GluA2敲减剂,从而增强胶质瘤中负载的溶瘤构建体的功效。

## 附图说明

[0018] 本公开的更多细节、特征和优点将从以下对图中所示的示例性实施方案的描述中产生。

[0019] 图1示出了单独的放射疗法相对于放射疗法加特莫达的总体存活率的Kaplan-Meier曲线。

[0020] 图2示出了使用1995年创建的OV构建体G207治疗的患者的总体存活率的Kaplan-Meier曲线。

[0021] 图3示出了对DNAtrix开发的腺病毒溶瘤剂有应答的患者A、B、C的脑部扫描图,附图示出了肿瘤大小随时间推移的变化%。

[0022] 图4示出了实体瘤患者中作为单一药剂和与纳武单抗联合的RP2溶瘤HSV的抗肿瘤活性和应答动力学。

[0023] 图5示出了RP-1构建体的示意图。

[0024] 图6示出了ONCR-177基载体的设计,是在其构建体内含有5种免疫刺激转基因的HSV-1。

[0025] 图7a示出了GB细胞(绿色)和脑微血管(红色)在对照条件下(箭头,4只小鼠的5次独立实验)相对于高剂量异氟烷(4只小鼠的4次独立实验)的代表性时间序列;图7b示出了GB细胞的侵袭速度(在4只S24 PDX小鼠中,n=254个对照细胞相对于n=143个异氟烷细胞);图7c和7d分别示出了无应答和有应答的S24 PDX细胞的代表性时间序列(神经元ChR2刺激(红线);6只小鼠的9次独立实验)。在0小时(红色箭头)和5小时(绿色箭头)时测量细胞;图7e示出了S24PDX GB细胞的侵袭速度(无应答(NR),在5只小鼠中,n=164个细胞;有应答(R),n=53只小鼠);图7f示出了显示表达Glu-2A-DN-GFP和tdTomato的细胞(箭头)与仅表达tdTomato的胶质瘤细胞相比的胶质瘤侵袭的代表性时间序列;图7g示出了在恶性胶质瘤动物模型中,显性阴性GluR2亚基显著减缓肿瘤侵袭速度;图7h示出了其中GB细胞表达Glu-2A-DN-GFP和tdTomato(箭头)或仅表达tdTomato的S24异种移植物在0天和14天时的代表图像;图7i示出了14天内的细胞密度变化(在5只小鼠中,n=13个区域);图7j示出了在第0天

和第14天在对照条件下以及用AMPA拮抗剂吡仑帕奈治疗后的胶质瘤区域;图7k示出了在第14天与第0天在对照与吡仑帕奈(PER)下两种不同细胞系S24和BG5的细胞密度。图7f和g是据信与本公开目的相关的现有技术。

[0026] 图8示出了电子显微镜,其显示蔗糖摄入诱导了多步GluA1运输,从而证明防止细胞内GluA1运输来防止突触的强化。在图8a中,GluA1被PEG标记,并且颗粒被分为5个突触后区域:(1)棘内;(2)突触外膜或(3)PSD(间隙、PSD处、PSD附近);图8b示出了由水、蔗糖/水或蔗糖动物(每个测试组3只动物)制备的电子显微照片;图8c-f示出了反复蔗糖摄入会使棘内和PSD GluA1升高,而急性蔗糖摄入可诱导GluA1快速运输到突触外膜。注:图8c-e中的数据表示为每个棘的颗粒数的平均值。

[0027] 图9示出了通过对运输的基因阻断证实AMPA诱导的GluA1运输,这表明具有CPAR的突触具有诱导前馈突触强化的机制。

[0028] 图10示出了表达人GluR1/2的病毒的构建和验证。通过驱动由ICP47HSV-1启动子的转基因表达来构建表达人gluR1-P2A-gluR2的溶瘤HSV-1。为了构建表达hGluR1/2的HSV-1,使用亲本 $\gamma$ 35.5双缺失病毒的感染性病毒DNA。将用感染性病毒DNA和质粒DNA(具有UL26/27侧翼序列以及表达gluR1/2和eGFP的转基因序列)共同转染的U20S细胞的溶解产物于4天后收获用于感染新鲜的单层细胞,并且用eGFP表达来可视化重组斑块。来自10x斑块纯化病毒斑块的纯化病毒基因组DNA的PCR(A)示出了528bp的正确条带。免疫印迹(B)示出了在感染的SF-295胶质母细胞瘤细胞中表达的gluR2蛋白。

[0029] 图11示出了载体的示意图,该载体包含用根据本发明的优选生物实体修饰的野生型HSV-1病毒,其中该生物实体替换了野生型HSV-1病毒的ICP 34.5基因。

[0030] 图12示出了图11所示生物实体的每个元素的组分和描述,包括优选实施方案和可选方案二者。

[0031] 图13示出了本发明的基因图谱,其包括用下文实验1中使用的生物实体修饰的野生型HSV-1病毒。

[0032] 图14形象化地示出了下文实验1中使用的表达人gluR1/2的HSV-1的细胞病变效应。用1感染复数(MOI)的野生型HSV-1或本发明的表达gluR1/2的HSV-1感染的SF-295胶质母细胞瘤细胞。表达hgluR1/2的HSV-1在SF-295细胞中引起广泛的细胞病变效应

[0033] 图15以条形图的形式示出了图14所示的视觉结果,具体是使用CellTiter-glo试剂盒(Promega)评估的细胞活力(新陈代谢)的量度,并且计算相对于未处理对照细胞的变化倍数。数值为三次独立实验的平均标准偏差。\*\*\* $p < 0.0005$ ,\*\*\* $p < 0.00005$ 。

## 具体实施方式

[0034] 如上所述,图1-9例示说明了利用各种模型和生物实体治疗胶质瘤的现有技术尝试,描述了与本发明相关的AMPA受体运输。由于本领域技术人员可能了解这些现有技术尝试的细节和分析,因此在此不对其中任一项进行详细描述。可能不了解这些现有技术尝试的细节的本领域技术人员可以通过查阅上文背景技术中指出的文献来轻松回顾附图中描述的工作。

[0035] 图10示出了本发明的组合物,其中删除了HSV-1ICP34.5基因,并且用由GluR1和GluR2 AMPA受体亚基的C末端构成的生物实体替换。图10a示出了生物实体在病毒中是完整

的。图10b和10c示出了本发明的病毒特异性表达AMPA受体亚基GluR2的C末端。

[0036] 图11示出了载体的示意图,该载体包含用根据本发明的生物实体修饰的野生型HSV-1病毒,其中该生物实体替换了野生HSV-1病毒的ICP 34.5基因。野生型HSV-1病毒的ICP 34.5基因被删除,并且用图11所示的构建体替换,该构建体包含由野生HSV-1病毒的ICP 34.5促进剂驱动的抗肿瘤转基因。抗肿瘤转基因包含两种AMPA受体亚基干扰剂或GluA敲减剂。抗肿瘤转基因优选地进一步包含促融合蛋白、抗PD-1抗体、抗CTLA-4抗体和IL12构建体。第一种AMPA受体亚基干扰剂包括GluA1的C末端片段,并且被设计成防止GluA1向神经元突触和/或突触外膜的运输。第二种GluA敲减剂可包括GluA2的C末端片段,其被设计成防止GluA2向神经元突触和/或突触外膜的运输,或者其可包括可在肿瘤细胞裂解后阻断CPAR在邻近细胞上的突触传递的GluA1的N末端抗体。

[0037] 图12示出了本发明的优选生物实体的每种组分及其一般和详细描述。图12还示出了每种组分的变化和可选方案,包括优选可选方案。一般来说,HSV-1病毒是优选的,因为对它的了解更多,并且Replimune的RP1-3产品正在使用它的株系。RP1-3产品中使用的株系将是优选使用的病毒。如上所述,新OV至少含有蛋白GluA1和GluA2的基因敲减。第一种GluA敲减剂包括GluA1的C末端片段,并且被设计成防止GluA1向神经元突触和/或突触外膜的运输。第二种GluA敲减剂包括GluA2的C末端片段,并且被设计成防止GluA2向神经元突触和/或突触外膜的运输。对于神经元保护,设计缺失两个ICP34.5基因拷贝以防止病毒在如神经元的终末分化细胞中复制。对于感染性,HSV-1已经显示出针对神经细胞(包括与GBM细胞最相似的少突胶质细胞及其前体)的显著趋向性。加入GALV促融合蛋白将提高感染性。优选提供两种检查点抑制剂,即抗PD-1抗体,优选为编码PD-1阻断剂的序列,类似于OncoCorus;和抗CTLA-4抗体,优选为编码CTLA-4阻断剂的序列,类似于Replimune。最后,优选并入免疫刺激剂IL12,并入编码IL12细胞因子的序列。

[0038] 图14形象化地示出了用载体对照、野生型HSV-1或含有本发明生物实体的HSV-1载体处理铺板的SF-295人胶质母细胞瘤细胞的效果。

[0039] 图15以条形图的形式示出了图14的结果。在图15中,“+”和“-”指示存在或不存在所示病毒。

#### [0040] 实施例

[0041] 如下进行用于实验的表达人GluR1/2的病毒的构建和验证。通过驱动来自ICP47 HSV-1启动子的转基因的表达来构建表达人gluR1-P2A-gluR2的溶瘤HSV-1。(参见图13)。为了构建表达GluR1/2的HSV-1,使用亲本 $\gamma$  34.5双缺失病毒的感染性病毒DNA。将用感染性病毒DNA和质粒DNA(具有UL26/27侧翼序列以及表达gluR1/2和eGFP的转基因序列)共同转染的U20S细胞的溶解产物于4天后收获用于感染新鲜的单层细胞,并且用eGFP表达来可视化重组斑块。来自10x斑块纯化的病毒斑块的纯化病毒基因组DNA的PCR示出了528bp的正确条带。免疫印迹示出了在感染的SF-295胶质母细胞瘤细胞中表达的gluR2蛋白。整个GluR-P2A-GluR2生物实体的核酸序列为:

[0042] ATGttaaTcGagttctgctacaaatcccgtagTgaatccaagcggatgaagggtttttgtttgatccacagcaatccatcaacgaagccatacggacatcgaccctccccgcaacagcggggcaggagccagcagcggcggcagtggagagaatggTcgggtggtcagccatgacttccccaaagTccatgcaatcgattccttgcagccacagttcagggatgcccttgggagccacgggattggccacaaacttctctctgctaaagcaagcaggtgatgttgaagaaaa

ccccggccctagcaacgttgctggagattctacatccttgctcggggcccttggtttggcaatgctggtggctttg  
attgagttctgtttacaagtcaagggccgaggcgaaacgaatgaaggtggcaaagaatgcacagaatattaacccat  
cttcctcgcagaattcacagaattttgcaacttataaggaaggttacaacgtatatggcatcgaaagtgttaa  
ttag

[0043] 实验1

[0044] 使用含10% FBS的高葡萄糖DMEM作为支持培养基来铺板SF-295人胶质母细胞瘤细胞。该实验的持续时间为2天。实验结束时, SF-295细胞在未感染的铺板细胞和感染野生型HSV-1病毒的细胞中均大量增殖, 在视觉上表明两者之间的细胞代谢几乎没有差异(参见图13)。另一方面, 感染含有本发明生物实体的HSV-1载体的铺板细胞显示出与其他两种铺板细胞相比大大降低的细胞代谢。通过计算含有ICP 34.5基因的野生型HSV-1、或本发明的含有替代野生型HSV-1的ICP 34.5基因的GluR1/2的HSV-1的效果并以条形图的形式呈现这些结果来证实这些视觉结果(参见图15)。

[0045] 实验2

[0046] 使用适当的培养基将人类神经元铺板在两个板上。向一个板添加野生型HSV-1病毒以感染它们, 同时向另一个板添加含有本发明生物实体的HSV-1载体。在第0、3、10和21天进行观察。在21天结束时, 在铺板于任一板上的人类神经元的生存力之间不存在视觉差异。这表明本发明的生物实体对人类神经元没有视觉可检测的负面影响。

[0047] 实验3

[0048] 使出生后第1天的大鼠神经元在适当的培养基中生长7天。在第7天, 用适当的培养基按1:1、1:2、1:5和1:10(胶质母细胞瘤细胞:大鼠神经元)的比例将SF-295人胶质母细胞瘤细胞铺板在神经元上方。在添加SF-295细胞后7天, 用载体对照、野生型HSV-1病毒或含有本发明生物实体的HSV-1病毒处理共培养物。感染后两天, 与用野生型病毒处理的共培养物相比, 用含有本发明生物实体的病毒处理的共培养物中的SF-295侵袭速度和细胞代谢显著下降, 并且如通过共聚焦显微镜所测量的, 与野生型病毒相比, 用本发明的病毒处理的共培养物中树突棘的数目和大小显著下降。

## Sequence Listing Information:

DTD Version: V1\_3

File Name: 用于治疗脑癌的生物实体.xml

Software Name: WIPO Sequence

Software Version: 2.3.0

Production Date: 2023-12-27

## General Information:

Current application / IP Office: US

Current application / Application number: PCT/US2022/027684

Current application / Filing date: 2022-05-04

Earliest priority application / IP Office: US

Earliest priority application / Application number: 63/183,945

Earliest priority application / Filing date: 2021-05-04

Applicant name: ALIVID LLC

Applicant name / Language: en

Inventor name: TUKEY, David

Inventor name / Language: en

Invention title: 用于治疗脑癌的生物实体 ( zh )

Sequence Total Quantity: 1

## Sequences:

Sequence Number (ID): 1

Length: 528

Molecule Type: DNA

## Features Location/Qualifiers:

- source, 1..528

&gt; mol\_type, other DNA

&gt; organism, synthetic construct

## Residues:

```
atgttaatcg agttctgcta caaatcccg agtgaatcca agcggatgaa gggttttgt 60
ttgatccac agcaatccat caacgaagcc atacggacat cgaccctccc cgcacacagc 120
ggggcaggag ccagcagcgg cggcagtgga gagaatggtc gggtggtcag ccatgacttc 180
cccaagtcca tgcaatcgat tccttgcgat agccacagtt cagggatgcc cttgggagcc 240
acgggattgg ccacaaactt ctctctgcta aagcaagcag gtgatgttga agaaaacccc 300
ggccctagca acgttctgag agtattctac atccttctcg ggggccttgg tttggcaatg 360
ctggtggctt tgattgagtt ctgttacaag tcaagggccg aggcgaaacg aatgaaggtg 420
gcaagaatg cacagaatat taacctctt tctctgcaga attcacagaa ttttgcaact 480
tataaggaag gttacaacgt atatggcatc gaaagtgtta aaatttag 528
END
```

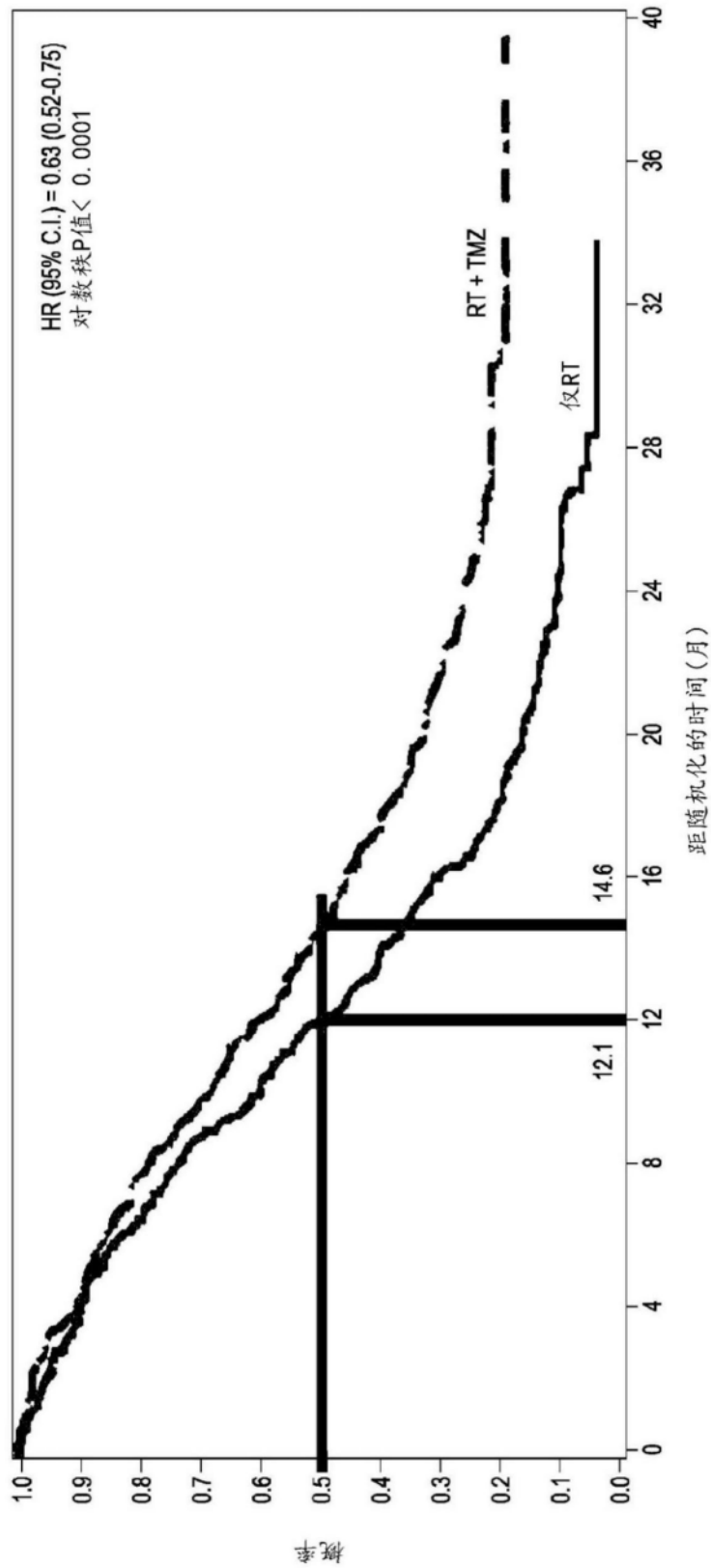


图1 (现有技术)

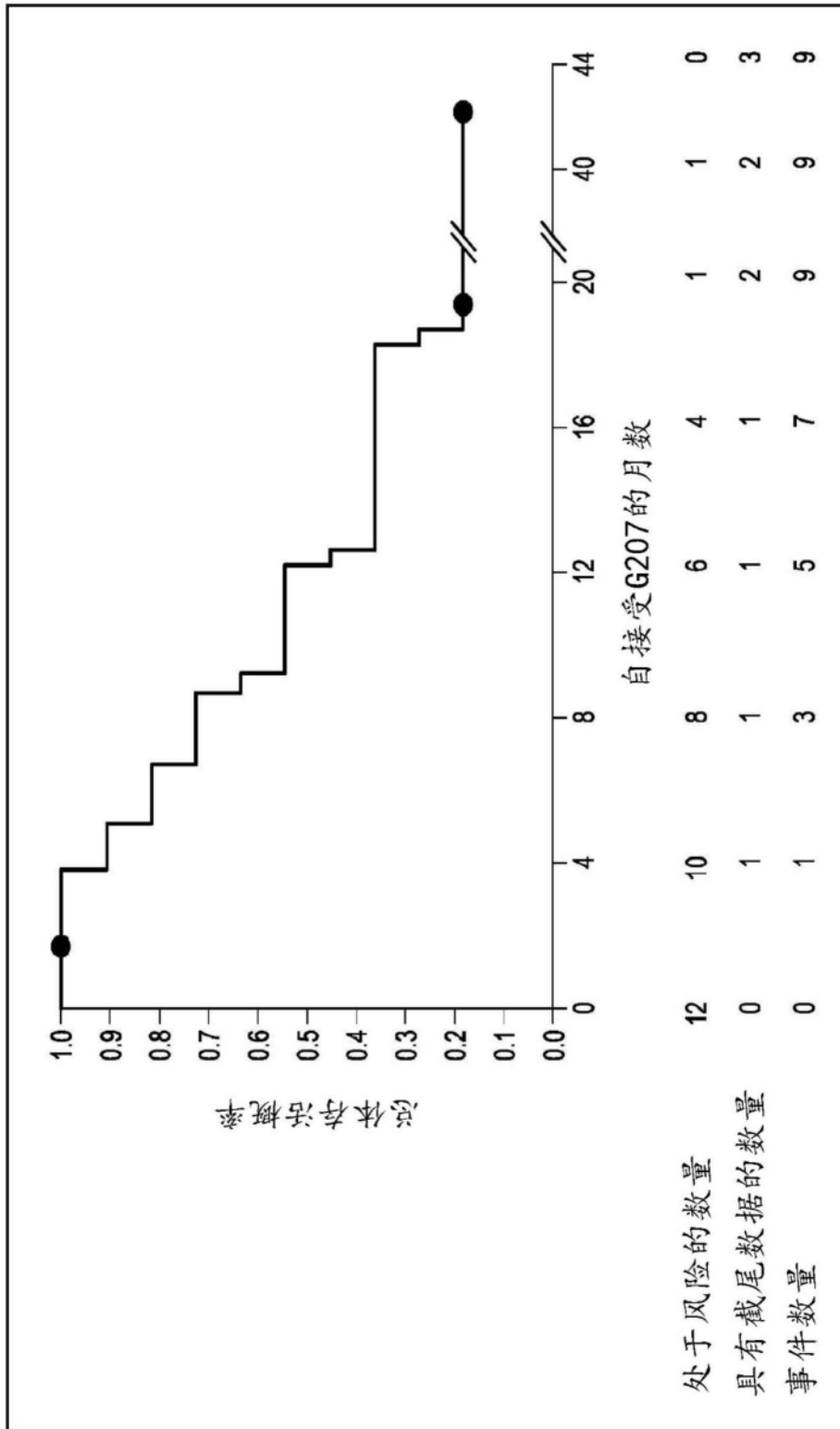


图2 (现有技术)

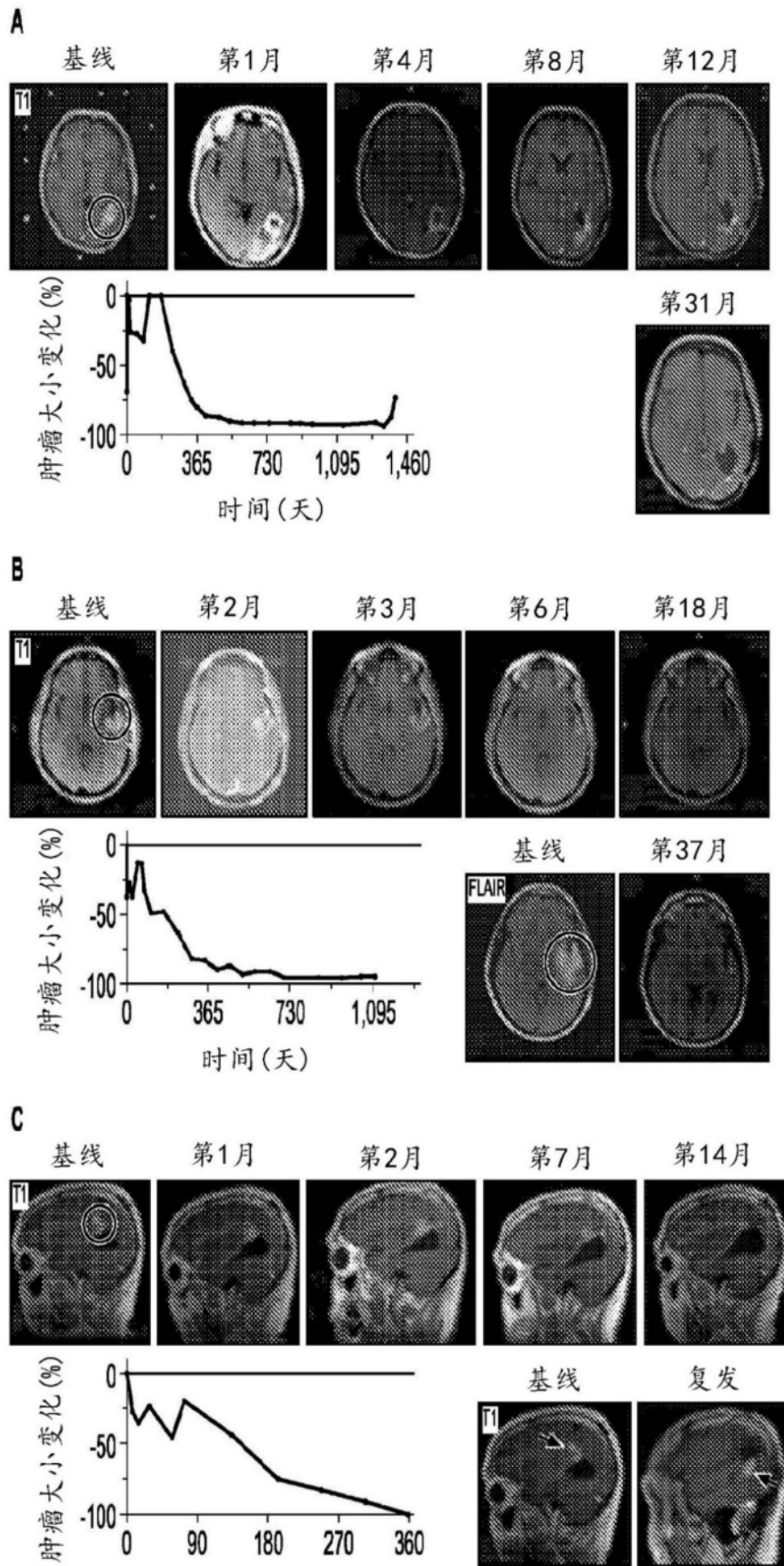
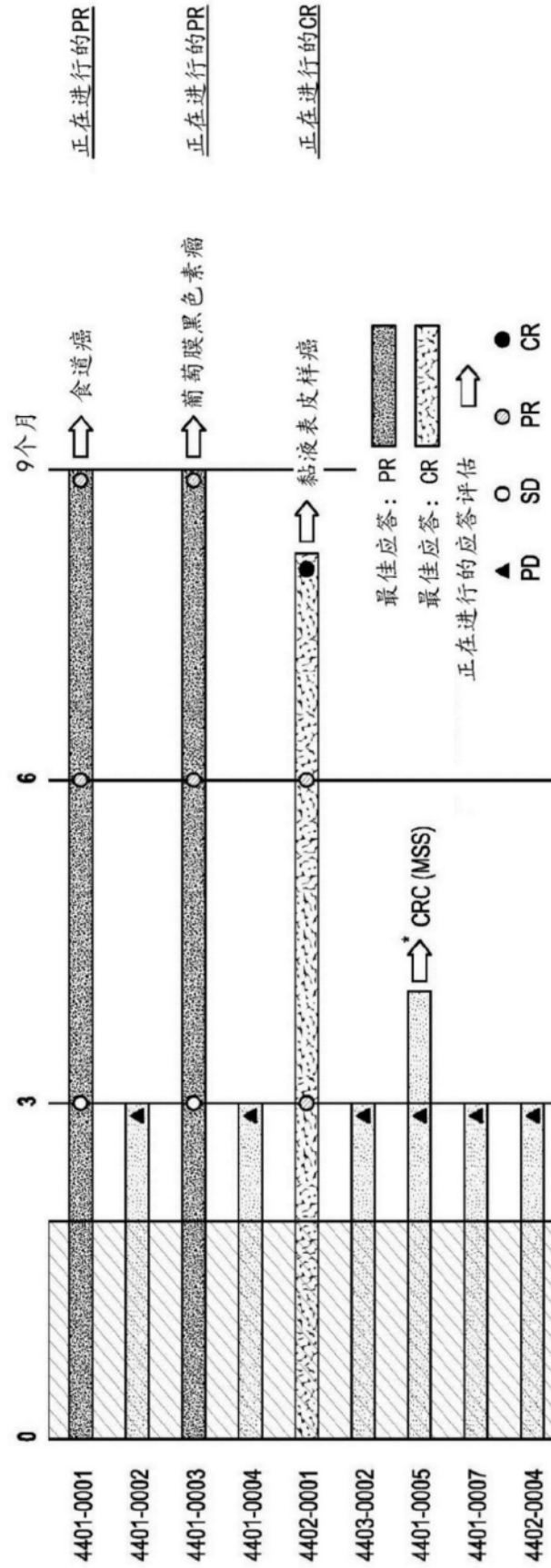


图3 (现有技术)



\*TL稳定, NTL在3个月时增加,  
 NTL在4个月时减少, 下一次扫描计划于11月进行

图4 (现有技术)

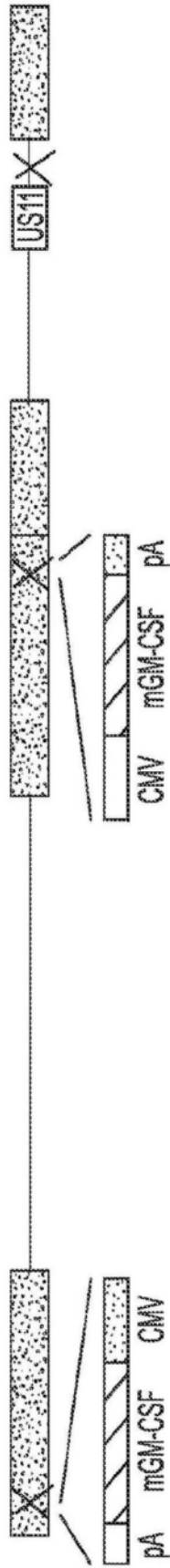


图5 (现有技术)

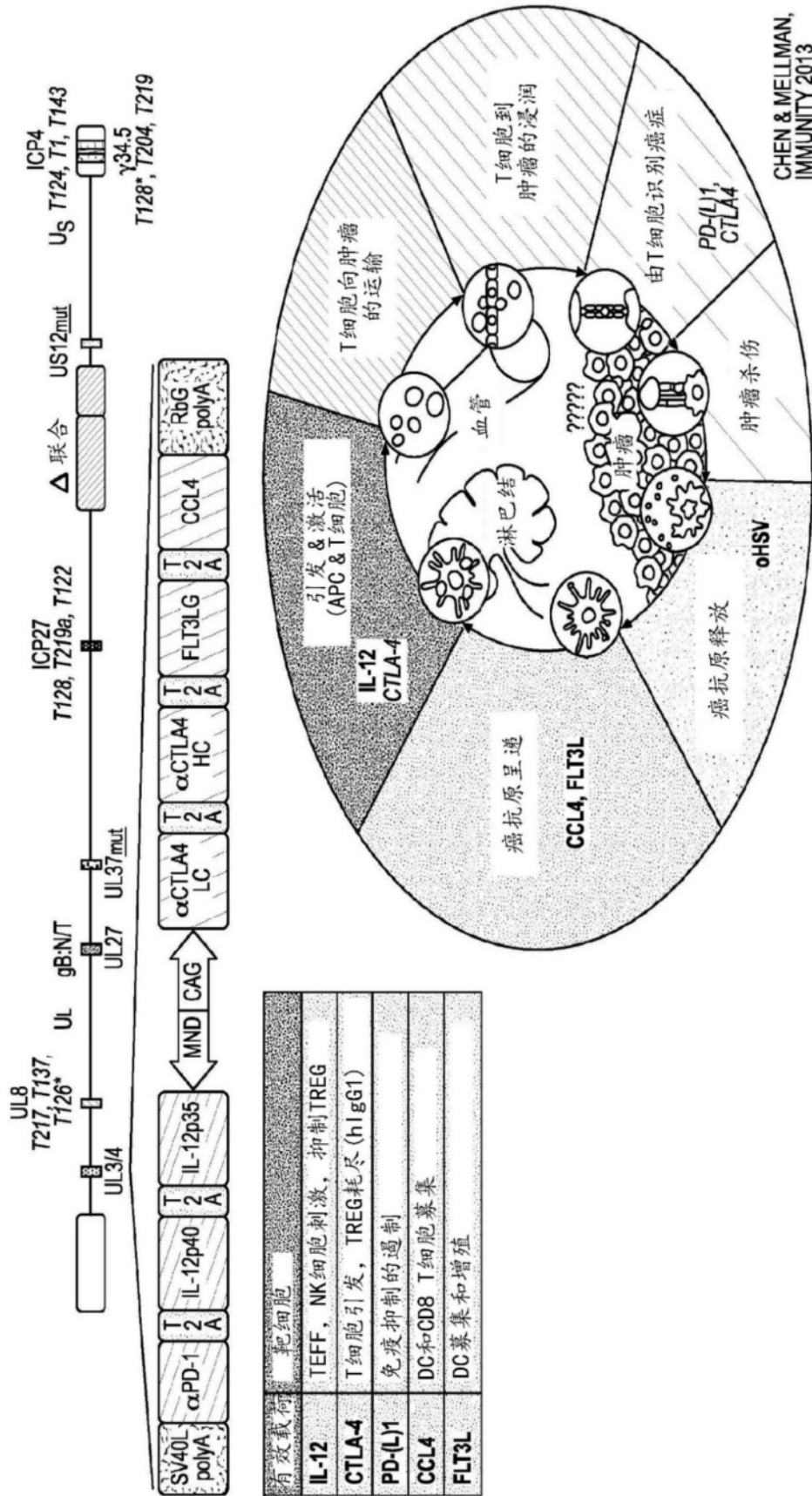


图6 (现有技术)

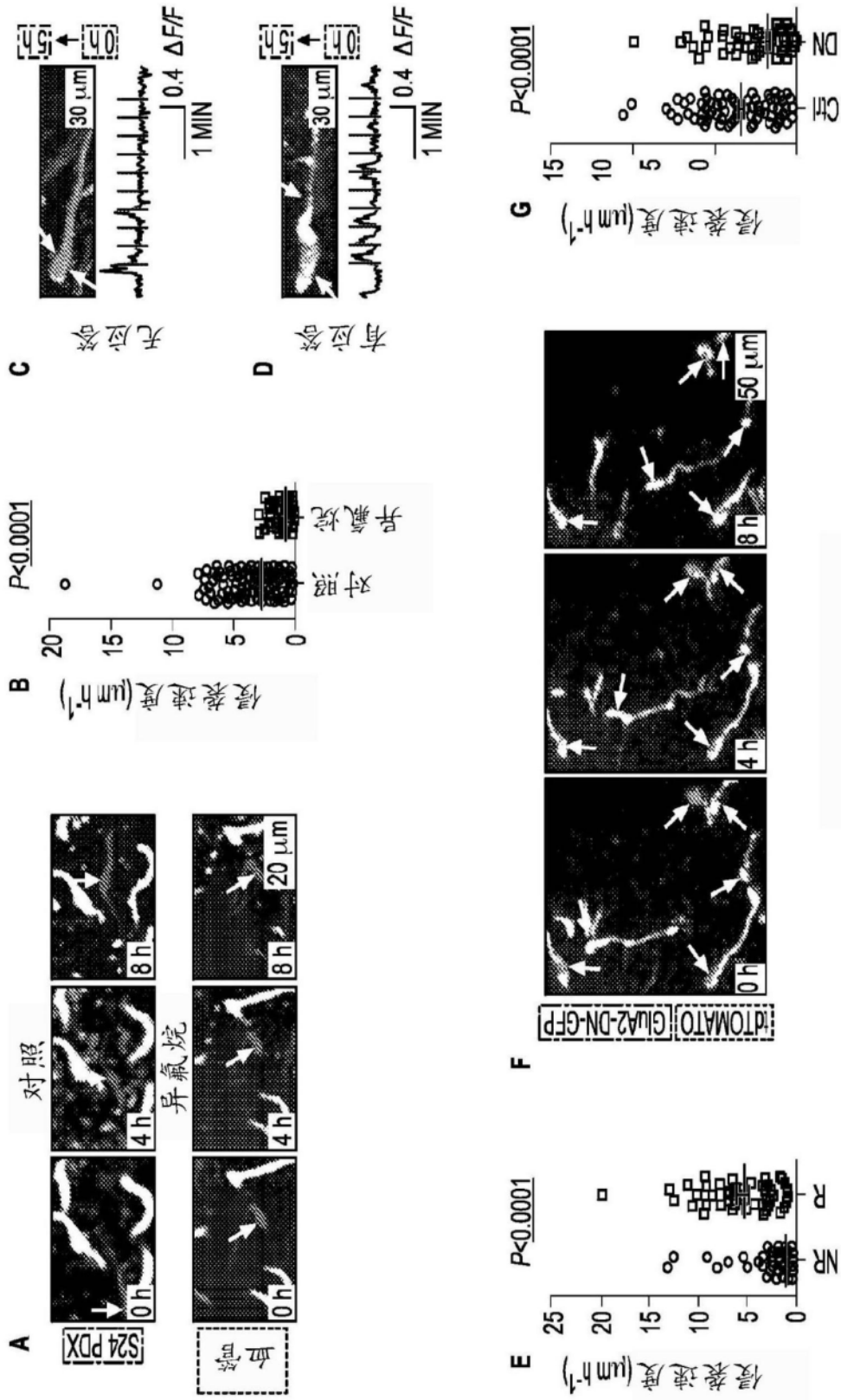


图7 (现有技术)

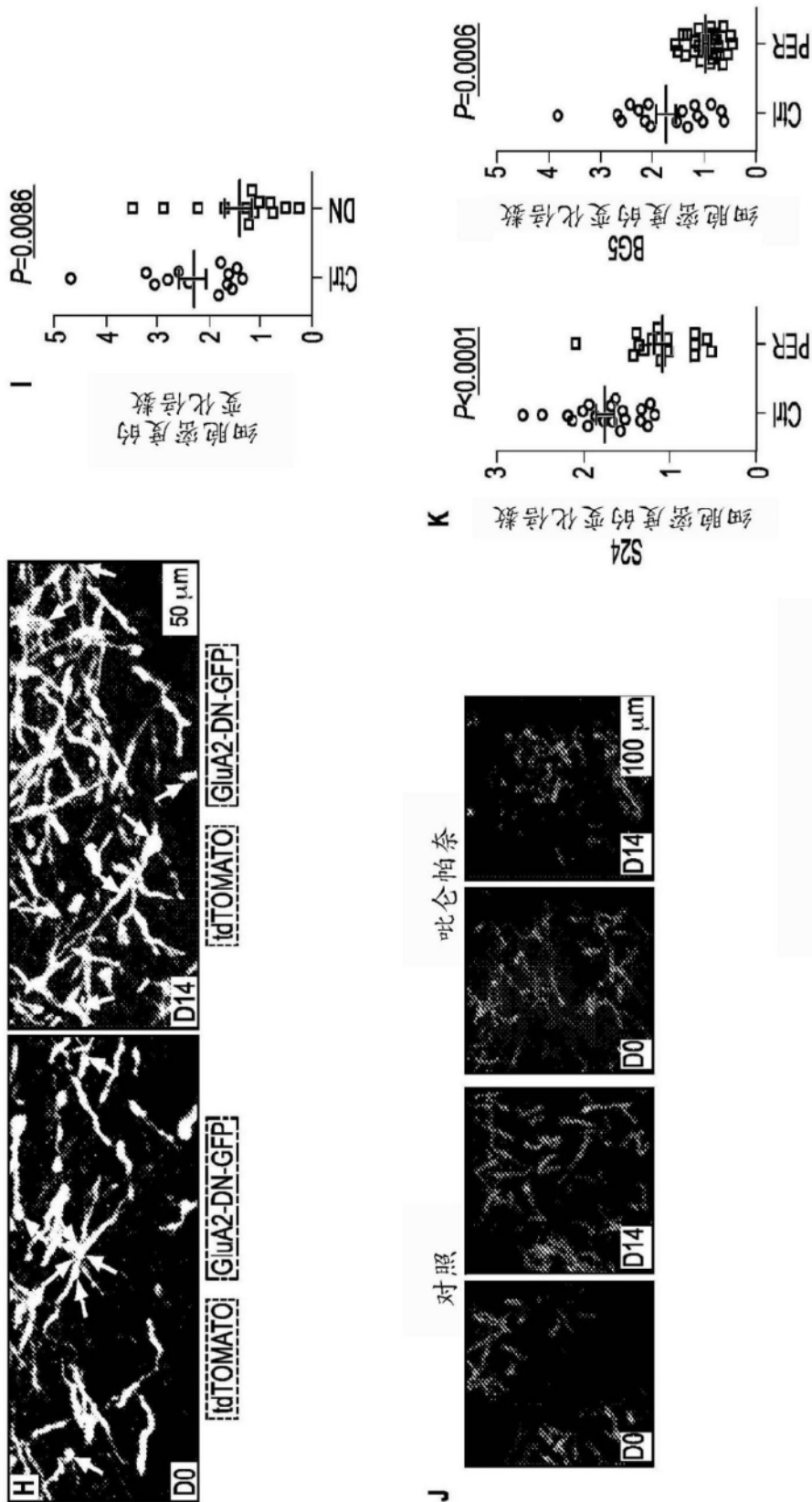


图7 (现有技术) (续)

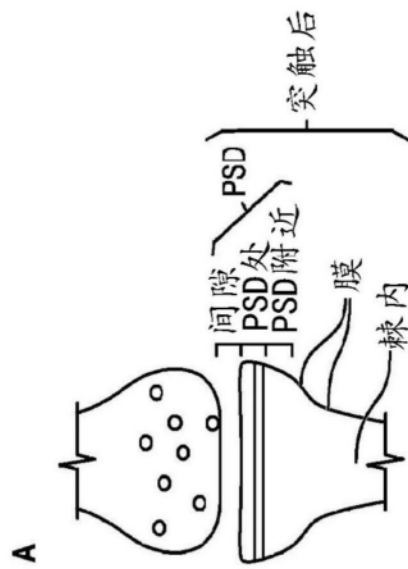
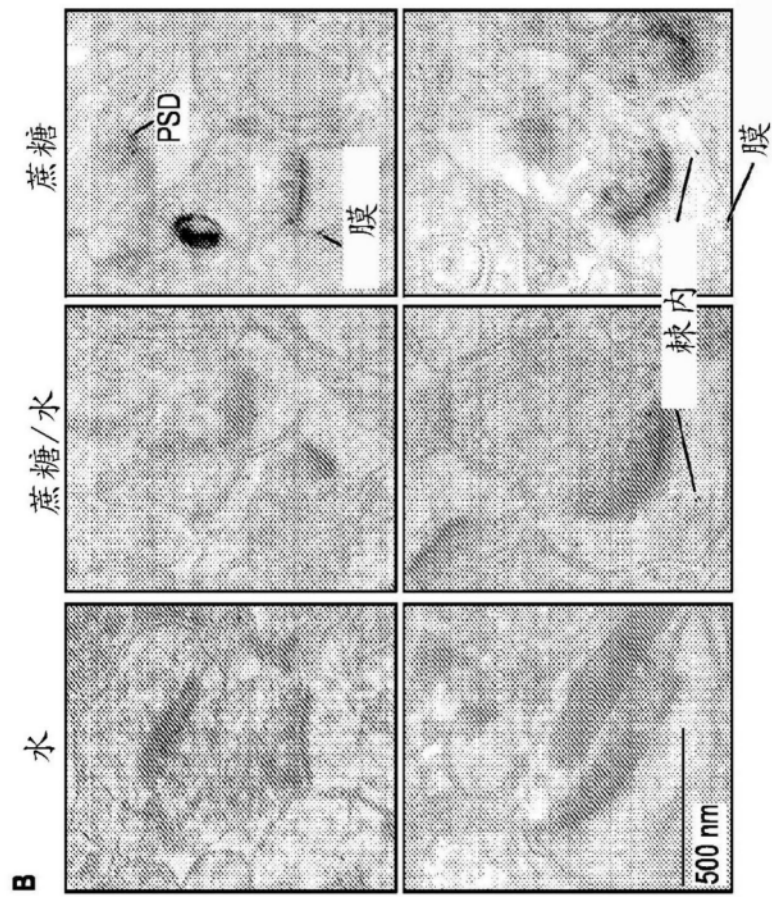


图8 (现有技术)

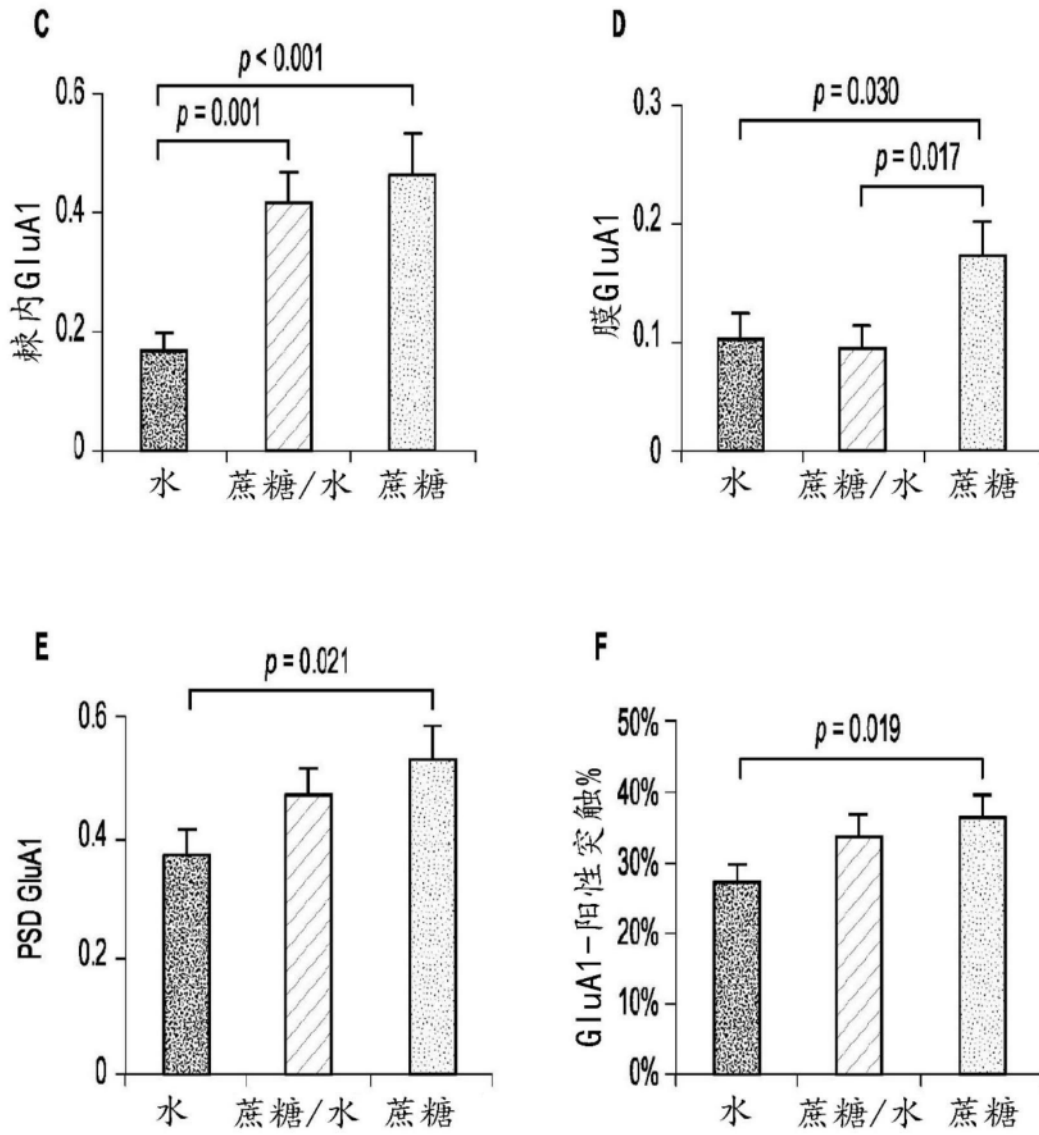


图8 (现有技术) (续)

GluA1的AMPA受体和多巴胺D1受体调节

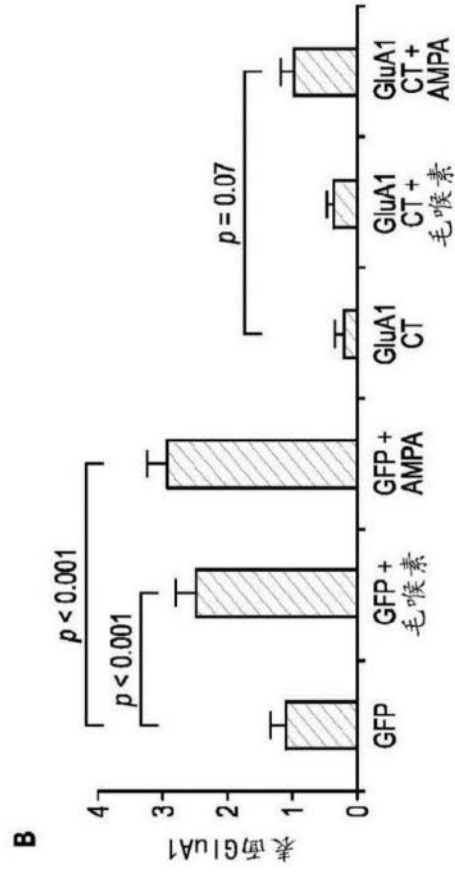
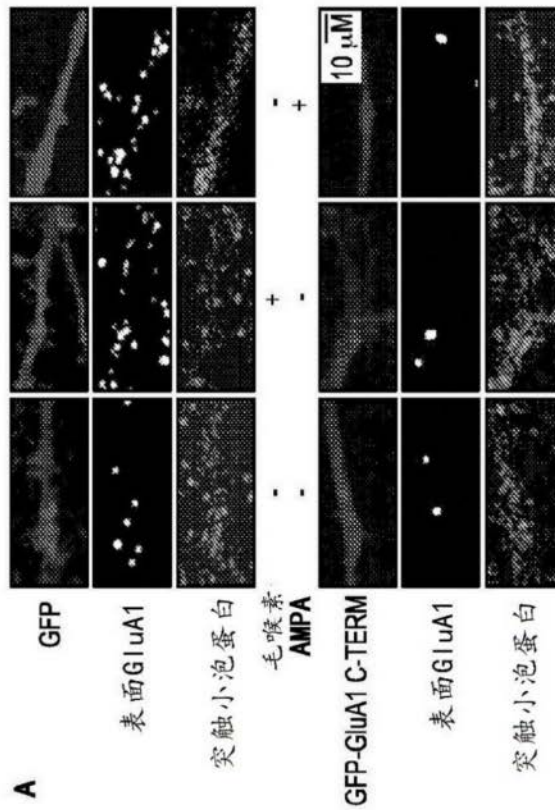


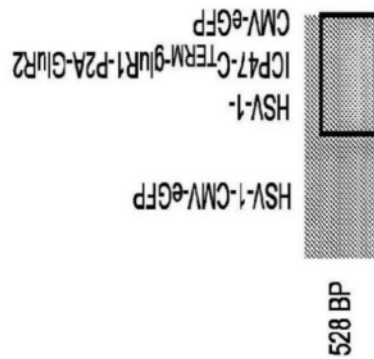
图9 (现有技术)



A

B

GluR2 C 末端抗体



C

抗肌动蛋白抗体

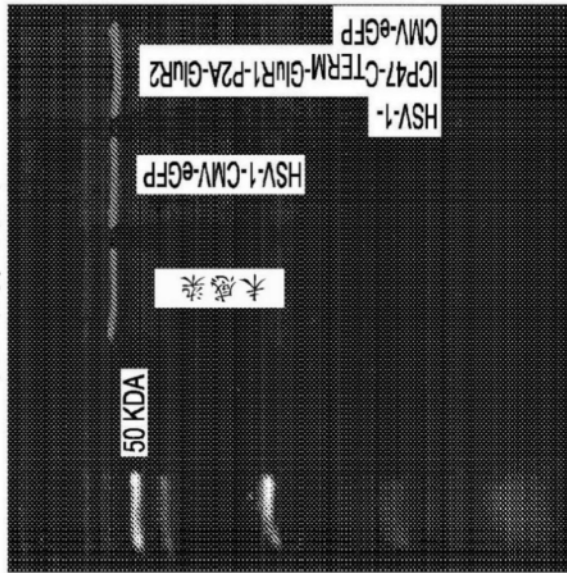


图10

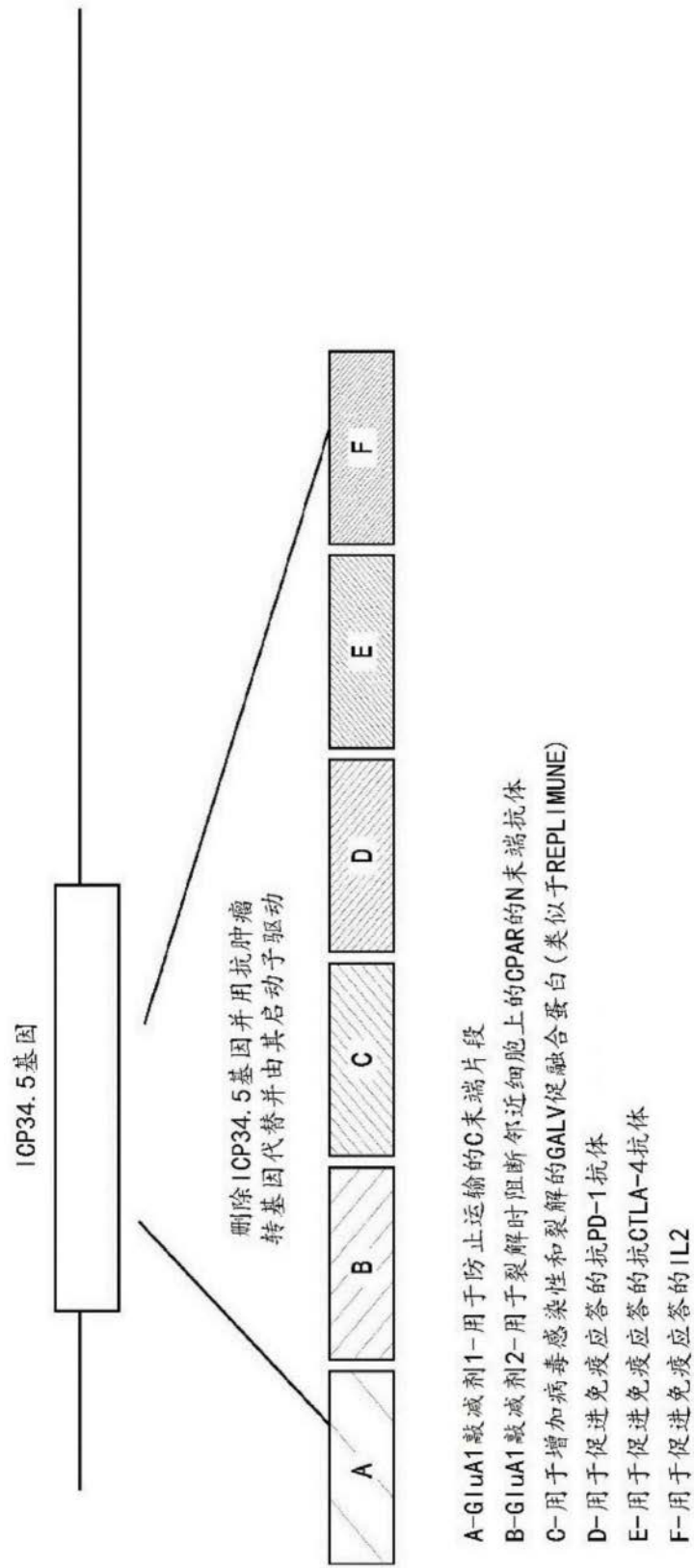


图11

组分	描述	备注
病毒	HSV-1	<p>鉴于对HSV-1的了解较多，且其感染性和裂解能力已在人体中显示出最好的概念验证，因此HSV-1与牛痘病毒、腺病毒和其他病毒相比是优选的。IMLYGIC是唯一获得FDA批准的溶瘤病毒，以HSV为基础。如果可能的话，林系应该是REPLIMUNE的RP1-3产物中使用的株系。</p>
突触传递	GluA1敲除剂1	<p>编码GluA1蛋白C末端片段的序列防止GluA1向突触的运输，从而减少Ca<sup>2+</sup>渗透性AMPA受体驱动的肿瘤扩散。</p>
突触传递	GluA1敲除剂	<p>编码GluA1的N末端阻断抗体的序列，当突触后肿瘤细胞被OV裂解时，该序列将被释放到突触外空间。</p>
神经保护	两个ICP34.5拷贝的缺失 UL37的突变	<p>ICP34.5缺失将防止病毒在诸如神经元的终末分化细胞中复制。像ONCORUS所做的那样，UL37突变将防止轴突逆向运输，从而最大限度地减少外周神经系统中的病毒库。</p>
感染性	GALV促融合蛋白	<p>HSV已经显示出对神经细胞(包括少突胶质细胞及其前体，它们与胶质母细胞瘤细胞最为相似)的显著趋向性。如REPLIMUNE出版物所示，加入GALV促融合蛋白会增加感染性。</p>
检查点	抗PD-1抗体	<p>并入编码PD-1阻断剂的序列，与ONCORUS类似。</p>
检查点	抗CTLA-4抗体	<p>并入编码CTLA-4阻断剂的序列，与REPLIMUNE类似。</p>
免疫刺激剂	IL12	<p>并入编码1112细胞因子的序列。</p>

图12

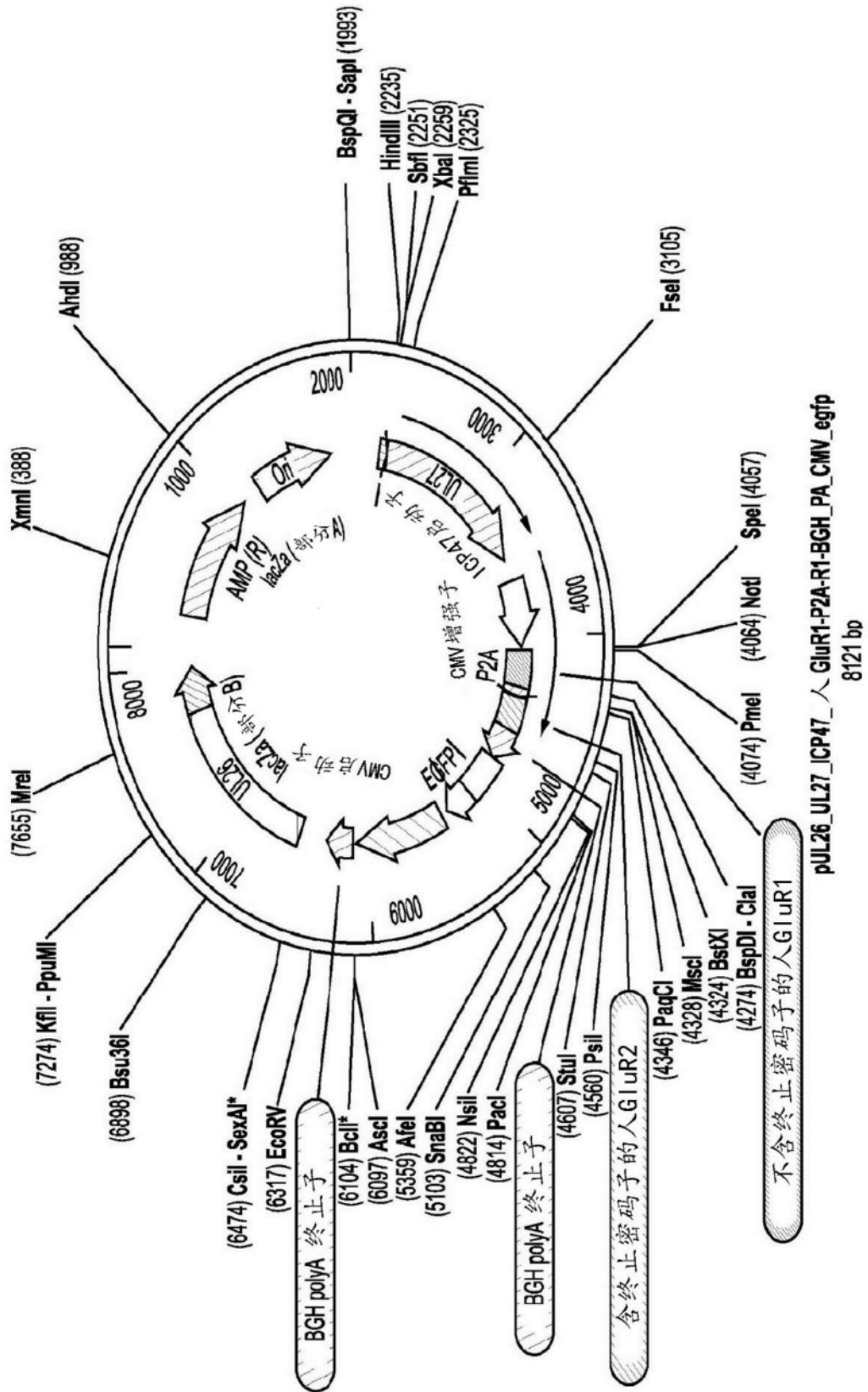


图13

SF-295人胶质母细胞瘤细胞

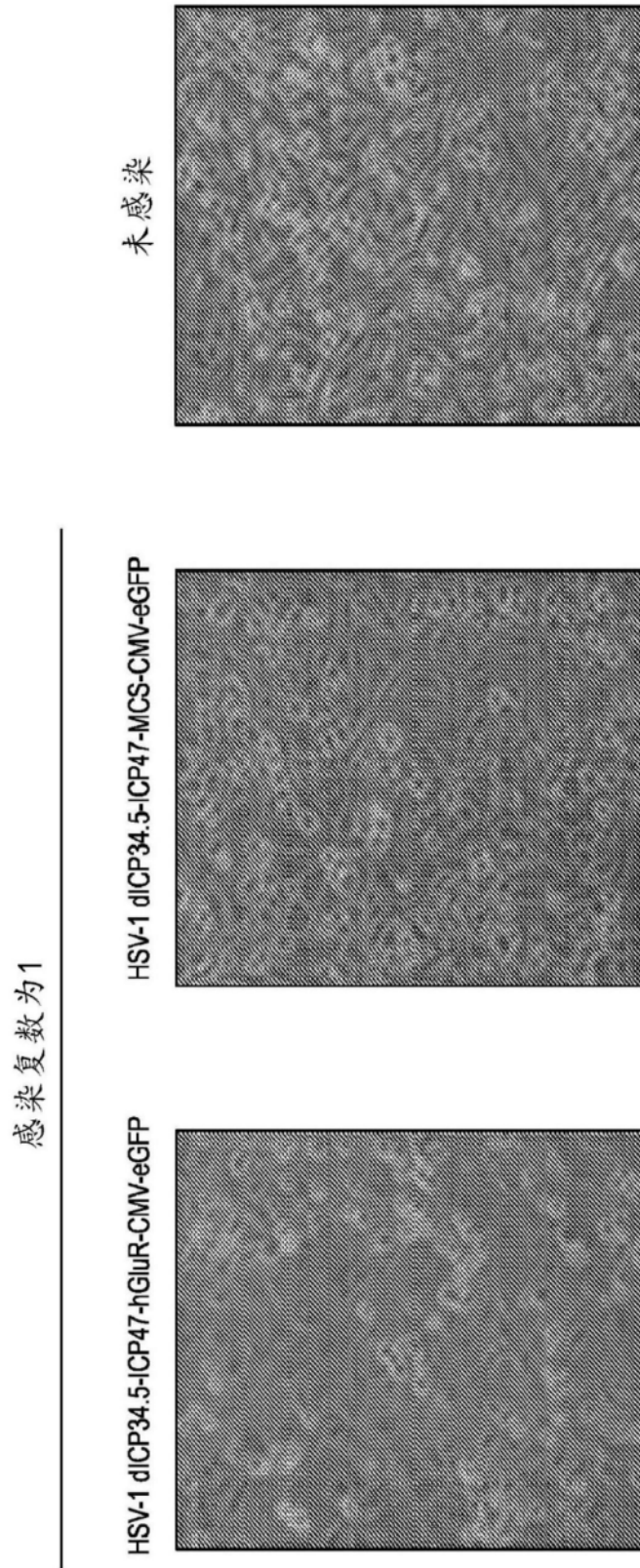


图14

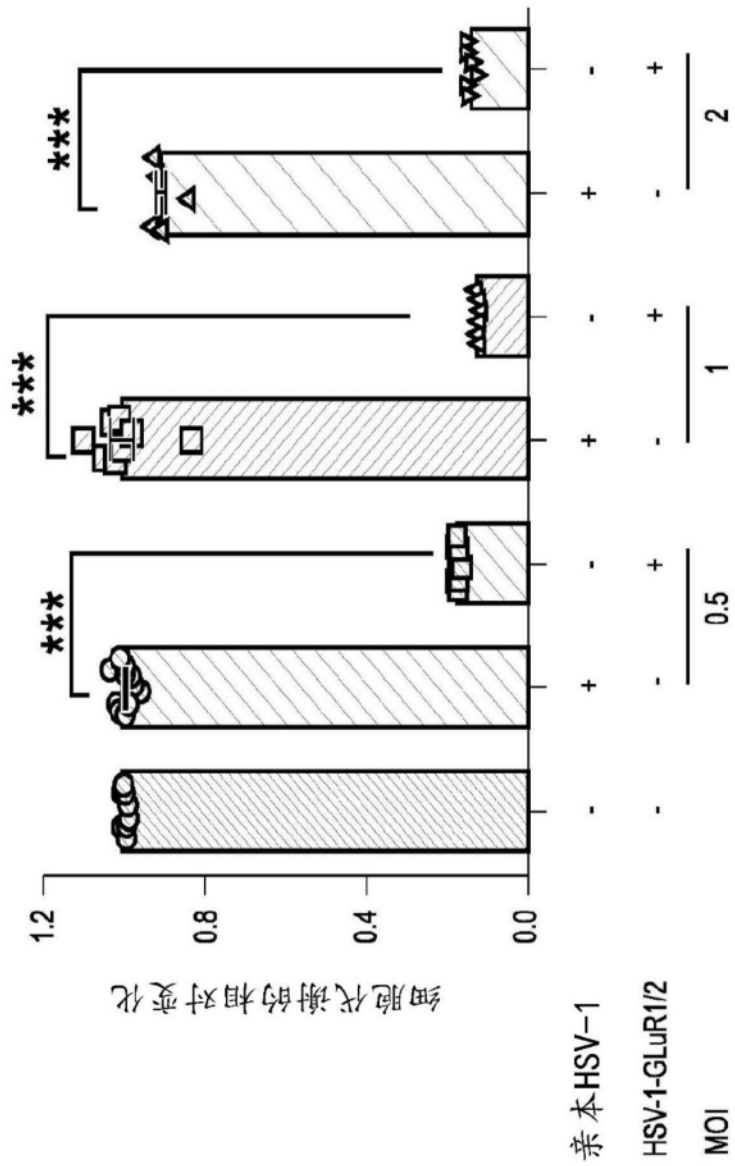


图15