(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 118354779 A
(43)申请公布日 2024.07.16

(21)申请号 202280077528.1
(22)申请日 2022.09.23
(30)优先权数据
63/261561 2021.09.23 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2024.05.22
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2022/076951 2022.09.23
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2023/049852 EN 2023.03.30
(71)申请人 射手生物科技公司
地址 美国加利福尼亚州
(72)发明人 K·尼亚齐 S·拉比扎德
(74)专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司 72001
专利代理师 黄登高 彭昶
(51)Int.Cl.
A61K 35/761(2006.01)
A61K 39/12(2006.01)
C07K 14/005(2006.01)
C12N 15/86(2006.01)

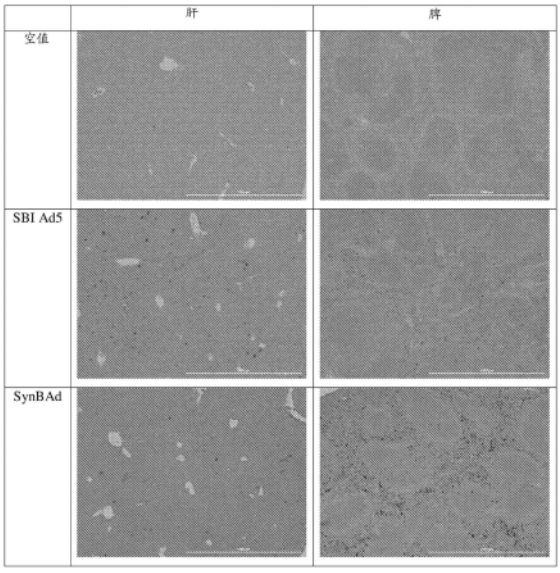
权利要求书6页 说明书27页
序列表（电子公布） 附图6页

(54)发明名称

腺病毒和使用腺病毒的方法

(57)摘要

本文提供的实施方案涉及重组腺病毒,其中该腺病毒的衣壳六邻体多肽已被修饰。此类修饰可包括用来自腺病毒株Ad57的至少一个衣壳六邻体高变区多肽修饰腺病毒株Ad5。这些实施方案还涉及经修饰的衣壳六邻体多肽、编码经修饰的衣壳六邻体多肽的核酸以及使用它们的方法。



CN 118354779 A

1.一种重组腺病毒(Ad),其中Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽包含来自Ad株Ad57的至少一个衣壳六邻体高变区(HVR)多肽。

2.根据权利要求1所述的重组Ad,其中所述Ad株Ad5的所述衣壳六邻体多肽包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的多肽的变体,其中所述变体包含:

i)SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的氨基酸序列,或它们的任何组合;

ii)以下的一个或多个插入:

在SEQ ID NO:1的位置156和157之间的EQ(Glu-Gln)的多肽的插入,

在SEQ ID NO:1的位置187和188之间的包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的多肽的插入,

在SEQ ID NO:1的位置438和439之间的TT(Thr-Thr)的多肽的插入,或

在SEQ ID NO:1的位置438和439之间的GATT(Gly-Ala-Thr-Thr;SEQ ID NO:6)的多肽的插入;

iii)以下的一个或多个缺失:

SEQ ID NO:1的K252的缺失,

SEQ ID NO:1的多肽Q435E436的缺失,或

SEQ ID NO:1的E445的缺失;或者

上述的替换、插入和缺失的任何组合。

3.根据权利要求1或2所述的重组Ad,其中在包含AATALEINLE的氨基酸序列(SEQ ID NO:3)的Ad株Ad5的所述六邻体多肽中,SEQ ID NO:3被DDTQVQVAAE的氨基酸序列(SEQ ID NO:4)替换。

4.根据权利要求1至3中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的所述六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置156处的残基E(Glu)和位置157处的残基V(Val)之间的EQ的多肽。

5.根据权利要求1至4中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的所述六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置166处的残基T(Thr)和位置169处的残基F(Phe)之处或之间的插入、缺失或取代。

6.根据权利要求1至5中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的所述六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置187处的残基G(Gly)和位置188处的残基V(Val)之间的包含TNGAA的氨基酸序列(SEQID NO:5)的多肽的插入。

7.根据权利要求1至6中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的所述六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置218处的残基H(His)和位置220处的残基A(Ala)之处或之间的插入、缺失或取代。

8.根据权利要求1至7中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的所述六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置252处的残基K(Lys)的缺失。

9.根据权利要求1至8中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的所述六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置267处的残基F(Phe)和位置268处的残基S(Ser)之处或之间的插入、缺失或取代。

10.根据权利要求1至9中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的所述六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置434处的残基G(Gly)和位置435处的残基Q(Gln)之处或之间的插入、缺失或取代。

11.根据权利要求1至10中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的所述六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置435和436处的残基QE的缺失。

12.根据权利要求1至11中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的所述六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置438处的残基G和位置439处的残基W(Trp)之间的包含TT的序列的多肽的插入。

13.根据权利要求1至12中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的所述六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置438处的残基G和位置439处的残基W之间的包含GATT的氨基酸序列(SEQ ID NO:6)的多肽的插入。

14.根据权利要求1至12中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的所述六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置445处的残基E的缺失。

15.根据权利要求1至14中任一项所述的重组Ad,其中在包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的Ad株Ad5的所述六邻体多肽中,SEQ ID NO:7的所述氨基酸序列被SEQ ID NO:8的氨基酸序列替换。

16.根据权利要求1至15中任一项所述的重组Ad,其中在包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的Ad株Ad5的所述六邻体多肽中,SEQ ID NO:9的所述氨基酸序列被SEQ ID NO:10的氨基酸序列替换。

17.根据权利要求1至16中任一项所述的重组Ad,其中在包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的Ad株Ad5的所述六邻体多肽中,SEQ ID NO:11的所述氨基酸序列被SEQ ID NO:12的氨基酸序列替换。

18.根据权利要求1至17中任一项所述的重组Ad,其中在包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的Ad株Ad5的所述六邻体多肽中,SEQ ID NO:13的所述氨基酸序列被SEQ ID NO:14的氨基酸序列替换。

19.根据权利要求1至18中任一项所述的重组Ad,其中在包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的Ad株Ad5的所述六邻体多肽中,SEQ ID NO:15的所述氨基酸序列被SEQ ID NO:16的氨基酸序列替换。

20.根据权利要求1至19中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的所述六邻体多肽包含SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:18的氨基酸序列的变体,其中与SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:18相比,所述变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

21.根据权利要求1所述的重组Ad,其中所述六邻体多肽包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

22.根据权利要求1至20中任一项所述的重组Ad,其中所述六邻体多肽包含含有SEQ ID NO:18的所述氨基酸序列的多肽的变体。

23.根据权利要求22所述的重组Ad,其中变体六邻体多肽包含与SEQID NO:18的所述氨基酸序列至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、98%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

24.根据权利要求22所述的重组Ad,其中所述变体六邻体多肽包含与

SEQ ID NO:18的所述氨基酸序列至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列,前提条件是所述变体包含:

SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14和SEQ ID

NO:16的所述氨基酸序列;或者

所述变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

25.根据权利要求22所述的重组Ad,其中与SEQ ID NO:18的所述氨基酸序列相比,所述变体六邻体多肽包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个突变(例如,取代、插入或缺失),前提条件是所述变体包含:

SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:16的所述氨基酸序列;或者

所述变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

26.根据权利要求22至25中任一项所述的重组Ad,其中与肝相比,所述变体六邻体多肽在脾中的转导增加。

27.根据权利要求22至25中任一项所述的重组Ad,其中与所述肝相比,与包含具有SEQ ID NO:1的所述氨基酸序列的所述六邻体多肽的重组Ad相比,所述变体六邻体多肽在所述脾中的转导增加。

28.根据权利要求22至25中任一项所述的重组Ad,其中与包含具有SEQ ID NO:1的所述氨基酸序列的所述六邻体多肽的重组Ad相比,当施用于受试者时,所述变体六邻体多肽不增加肝酶。

29.根据权利要求1至28中任一项所述的重组Ad,所述重组Ad还包含编码异源蛋白的多核苷酸。

30.根据权利要求29所述的重组Ad,其中所述异源蛋白是细胞因子、免疫球蛋白、免疫调节蛋白、病毒蛋白、患者特异性新表位或它们的任何组合。

31.根据权利要求30所述的重组Ad,其中所述病毒蛋白来自HBV、HPV、EBV、CMV、HTLV、多瘤病毒或它们的任何组合。

32.根据权利要求30或31所述的重组Ad,其中所述免疫调节蛋白来自B7家族。

33.根据权利要求32所述的重组Ad,其中所述免疫调节蛋白为B7.1或B7.2。

34.根据权利要求32和33所述的重组Ad,其中来自所述B7家族的所述免疫调节蛋白与来自免疫球蛋白的结构域融合。

35.根据权利要求30至34所述的重组Ad,其中所述患者特异性新表位是来源于患者的体细胞肿瘤突变的肿瘤特异性抗原。

36.根据权利要求1至35中任一项所述的重组Ad,所述重组Ad还包含靶向部分。

37.根据权利要求36所述的重组Ad,其中所述靶向部分是将所述Ad靶向碳水化合物、细胞膜和细胞的部分,所述细胞选自肌细胞、肿瘤、癌细胞、肾细胞、肝细胞或粘膜细胞。

38.根据权利要求1至37中任一项所述的重组Ad,其中所述腺病毒有复制能力或是条件复制型腺病毒(CRAd),所述CRAd包含编码E1A多肽的修饰的E1A基因,其中相对于Ad株的野生型E1A多肽,所述CRAd在E1A多肽中表现出氨基酸取代。

39.一种核酸分子,所述核酸分子编码包含来自Ad株Ad57的至少一个衣壳六邻体HVR多肽的Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽。

40.根据权利要求39所述的核酸分子,其中所述Ad株Ad5的所述衣壳六邻体多肽包含含有SEQ ID NO:1的所述氨基酸序列的多肽的变体,其中所述变体包含:

i)SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14或SEQ ID

NO:16的氨基酸序列或它们的任何组合;

ii)以下的一个或多个插入:

在SEQ ID NO:1的位置156和157之间的EQ(Glu-Gln)的多肽的插入,

在SEQ ID NO:1的位置187和188之间的包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的多肽的插入,

在SEQ ID NO:1的位置438和439之间的TT(Thr-Thr)的多肽的插入,或

在SEQ ID NO:1的位置438和439之间的GATT(Gly-Ala-Thr-Thr;SEQ ID NO:6)的多肽的插入;

iii)以下的一个或多个缺失:

SEQ ID NO:1的K252的缺失,

SEQ ID NO:1的多肽Q435E436的缺失,或

SEQ ID NO:1的E445的缺失;或者

上述的替换、插入和缺失的任何组合。

41.根据权利要求39或40所述的核酸分子,其中所述核酸分子包含SEQ ID NO:17的序列。

42.根据权利要求39至41中任一项所述的核酸分子,其中所述核酸分子编码包含SEQ ID NO:18的所述氨基酸序列的六邻体多肽的变体。

43.根据权利要求42所述的核酸分子,其中变体六邻体多肽包含与SEQID NO:18的所述氨基酸序列至少75%、80%、85%、90%、91%、

92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

44.根据权利要求42所述的核酸分子,其中所述变体六邻体多肽包含与

SEQ ID NO:18的所述氨基酸序列至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列,前提条件是所述变体包含:

SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:16的所述氨基酸序列;或者

所述变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

45.根据权利要求42所述的核酸分子,其中与SEQ ID NO:18的所述氨基酸序列相比,所述变体六邻体多肽包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个突变(例如,取代、插入或缺失),前提条件是所述变体包含:

SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:16的所述氨基酸序列;或者

所述变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

46.根据权利要求42至45中任一项所述的核酸分子,其中与所述肝相比,所述变体六邻体多肽在所述脾中的转导增加。

47.根据权利要求42至45中任一项所述的核酸分子,其中与所述肝相比,与包含具有SEQ ID NO:1的所述氨基酸序列的所述六邻体多肽的重组Ad相比,所述变体六邻体多肽在所述脾中的转导增加。

48.根据权利要求42至45中任一项所述的核酸分子,其中与包含具有SEQ ID NO:1的所述氨基酸序列的所述六邻体多肽的重组Ad相比,当施用于受试者时,所述变体六邻体多肽不增加肝酶。

49.一种载体,所述载体包含根据权利要求39至49中任一项中任一项所述的核酸分子。

50.根据权利要求49所述的载体,其中所述载体是包含编码例如异源多肽的转基因的Ad载体。

51.根据权利要求50所述的载体,其中所述Ad载体还包含E1缺失和E3缺失中的至少一者。

52.一种重组细胞,所述重组细胞包含根据权利要求49至51中任一项所述的载体。

53.一种产生载体的方法,所述方法包括:(a)在产生所述载体的条件下,培养根据权利要求52所述的重组细胞;以及(b)从所述重组细胞中分离所述载体。

54.一种免疫原性组合物,所述免疫原性组合物包含根据权利要求49至51中任一项所述的载体。

55.一种诱导有需要的受试者的免疫应答的方法,所述方法包括向所述受试者施用根据权利要求54所述的免疫原性组合物。

56.根据权利要求55所述的方法,其中在不显著增加所述受试者中的肝酶的情况下诱导所述免疫应答。

57.根据权利要求56所述的方法,其中与包含具有SEQ ID NO:1的所述氨基酸序列的六邻体多肽的载体相比,在不显著增加所述受试者中的肝酶的情况下诱导所述免疫应答。

58.根据权利要求55至57中任一项所述的方法,其中所述组合物经皮下或静脉内施用。

59.一种重组Ad株Ad5六邻体多肽,所述重组Ad株Ad5六邻体多肽包含来自Ad株Ad57的至少一个衣壳六邻体高变区(HVR)多肽。

60.根据权利要求59所述的重组六邻体多肽,其中所述Ad株Ad5的所述衣壳六邻体多肽包含含有SEQ ID NO:1的所述氨基酸序列的多肽的变体,其中所述变体包含:

i)SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的氨基酸序列或它们的任何组合;

ii)以下的一个或多个插入:

在SEQ ID NO:1的位置156和157之间的EQ(Glu-Gln)的多肽的插入,

在SEQ ID NO:1的位置187和188之间的包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的多肽的插入,

在SEQ ID NO:1的位置438和439之间的TT(Thr-Thr)的多肽的插入,或

在SEQ ID NO:1的位置438和439之间的GATT(Gly-Ala-Thr-Thr;SEQ ID NO:6)的多肽的插入;

iii)以下的一个或多个缺失:

SEQ ID NO:1的K252的缺失,

SEQ ID NO:1的多肽Q435E436的缺失,或

SEQ ID NO:1的E445的缺失;或者

上述的替换、插入和缺失的任何组合。

61.根据权利要求59所述的重组六邻体多肽,其中所述六邻体多肽包含

SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

62.根据权利要求59至61中任一项所述的重组六邻体多肽,其中所述六邻体多肽包含含有SEQ ID NO:18的所述氨基酸序列的六邻体多肽的变体。

63.根据权利要求62所述的重组六邻体多肽,其中所述变体六邻体多肽包含与SEQ ID

NO:18的所述氨基酸序列至少75％、80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、95％、96％、98％或99％相同的氨基酸序列。

64.根据权利要求62所述的重组六邻体多肽,其中所述变体六邻体多肽包含含有与SEQ ID NO:18的所述氨基酸序列至少75％、80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％相同的氨基酸序列的多肽的变体,前提条件是所述变体包含:

SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:16的所述氨基酸序列;或者

所述变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

65.根据权利要求62所述的重组六邻体多肽,其中与SEQ ID NO:18的所述氨基酸序列相比,所述变体六邻体多肽包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个突变(例如,取代、插入或缺失),前提条件是所述变体包含:

SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:16的所述氨基酸序列;或者

所述变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

66.一种病毒颗粒,所述病毒颗粒包含根据权利要求59至61中任一项所述的六邻体多肽。

腺病毒和使用腺病毒的方法

[0001] 优先权

[0002] 本申请要求2021年9月23日提交的美国临时申请第63/261,561号的优先权,该临时申请据此全文以引用方式并入。

[0003] 序列表

[0004] 本申请包含采用XML格式以电子方式提交的序列表,其据此全文以引用方式并入本文。2022年9月19日创建的序列表被称为“260034.000102序列表XML”,大小为23,241字节。

技术领域

[0005] 本发明的实施方案涉及重组腺病毒,其中该腺病毒的衣壳六邻体多肽已被修饰。此类修饰包括用来自腺病毒株Ad57的至少一个衣壳六邻体高变区多肽修饰腺病毒株Ad5。

背景技术

[0006] 腺病毒在本领域中广泛用于将宽范围的化合物、多核苷酸和多肽递送至特定细胞靶标。腺病毒表面二十面体的相当大部分由重复模式的六邻体蛋白组成。对六邻体的修饰可影响腺病毒靶向、中和、容量和其他因素。尽管使用腺病毒作为治疗剂已经取得显著的进展,但是仍然需要具有影响特异性、载货容量以及其他特性的修饰的改进的腺病毒。本文提供的实施方案满足这些需要以及其他需要。

发明内容

[0007] 在一些实施方案中,提供了重组腺病毒(Ad)。在一些实施方案中,Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽包含来自Ad株Ad57的至少一个衣壳六邻体高变区(HVR)多肽。在一些实施方案中,Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽包含来自本文提供的Ad株Ad57的一个或多个衣壳六邻体HVR多肽替换、插入和/或缺失。

[0008] 在一些实施方案中,在包含AATALEINLE的序列(SEQ ID NO:3)的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:3被DDTQVQVAAE的序列(SEQ ID NO:4)替换。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置156处的残基E和位置157处的残基V之间的EQ的残基。在一些实施方案中,其中Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置166处的残基T和位置169处的残基F之处或之间的插入、缺失或取代。在一些实施方案中,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置187处的残基G和位置188处的残基V之间的包含TNGAA的序列(SEQ ID NO:5)的多肽的插入。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置218处的残基H和位置220处的残基A之处或之间的插入、缺失或取代。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽包含SEQ ID NO:1的位置252处的残基K的缺失。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置267处的残基F和位置268处的残基S之处或之间的插入、缺失或取代。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置434处的残基G和位置435处的残基Q之处或之间的插

入、缺失或取代。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置435和436处的残基QE的缺失。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置438处的残基G和位置439处的残基W之间的包含TT的序列的多肽的插入。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置438处的残基G和位置439处的残基W之间的包含GATT的序列(SEQ ID NO:6)的多肽的插入。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽包含SEQ ID NO:1的位置445处的残基E的缺失。在一些实施方案中,在包含SEQ ID NO:7的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:7被SEQ ID NO:8替换。在一些实施方案中,在包含SEQ ID NO:9的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:9被SEQ ID NO:10替换。在一些实施方案中,在包含SEQ ID NO:11的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:11被SEQ ID NO:12替换。在一些实施方案中,在包含SEQ ID NO:13的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:13被SEQ ID NO:14替换。在一些实施方案中,在包含SEQ ID NO:15的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:15被SEQ ID NO:16替换。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽包含SEQ ID NO:2或18。

[0009] 在一些实施方案中,提供了包含编码异源蛋白的多核苷酸的重组Ad。在一些实施方案中,异源蛋白是细胞因子、免疫球蛋白、免疫调节蛋白、病毒蛋白、患者特异性新表位或它们的任何组合。在一些实施方案中,病毒蛋白来自HBV、HPV、EBV、CMV、HTLV、多瘤病毒或它们的任何组合。在一些实施方案中,免疫调节蛋白来自B7家族。在一些实施方案中,该患者特异性新表位是来源于患者的体细胞肿瘤突变的肿瘤特异性抗原。

[0010] 在一些实施方案中,提供了包含靶向部分的重组Ad。在一些实施方案中,该靶向部分是将Ad靶向碳水化合物、细胞膜和细胞部分,该细胞选自肌细胞、肿瘤、癌细胞、肾细胞、肝细胞或粘膜细胞。

[0011] 在一些实施方案中,提供了重组Ad,其中Ad是复制型或条件复制型腺病毒(CRAd)。在一些实施方案中,CRAd包含编码E1A多肽的修饰的E1A基因。在一些实施方案中,相对于Ad株的野生型E1A多肽,CRAd在E1A多肽中表现出氨基酸取代。

[0012] 在一些实施方案中,提供了核酸分子,该核酸分子编码包含来自Ad株Ad57的至少一个衣壳六邻体HVR多肽的Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽。在一些实施方案中,Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽包含来自本文提供的Ad株Ad57的一个或多个衣壳六邻体HVR多肽替换、插入和/或缺失。

[0013] 在一些实施方案中,编码六邻体多肽的核酸分子包含SEQ ID NO:17的序列。

[0014] 在一些实施方案中,提供了包含本文提供的任何核酸分子的载体。在一些实施方案中,载体是包含编码例如异源多肽的转基因的腺病毒载体。在一些实施方案中,腺病毒载体还包含E1缺失、E3缺失和E4缺失中的至少一者。

[0015] 在一些实施方案中,提供了包含本文提供的任何载体的重组细胞。

[0016] 在一些实施方案中,提供了产生载体的方法,该方法包括:(a)在产生载体的条件下,培养本文提供的任何重组细胞;以及(b)从重组细胞中分离载体。

[0017] 在一些实施方案中,提供了包含本文提供的任何载体的免疫原性组合物。

[0018] 在一些实施方案中,提供了诱导有需要的受试者的免疫应答的方法,该方法包括向受试者施用本文提供的免疫原性组合物。

[0019] 在一些实施方案中,提供了包含来自Ad株Ad57的至少一个衣壳HVR多肽的重组Ad

株Ad5六邻体多肽。在一些实施方案中,多肽包含来自本文提供的Ad株Ad57的一个或多个衣壳六邻体HVR多肽替换、插入和/或缺失。

[0020] 在一些实施方案中,提供了包含本文提供的任何多肽的病毒颗粒。在一些实施方案中,病毒颗粒是腺病毒颗粒。在一些实施方案中,病毒颗粒还包含编码转基因或异源蛋白的多核苷酸。

[0021] 在一些实施方案中,提供了包含本文提供的任何多肽或颗粒的药物组合物。

[0022] 在一些实施方案中,提供了治疗病毒感染的方法,该方法包括施用本文提供的任何重组腺病毒,其中重组腺病毒表达异源病毒蛋白。在一些实施方案中,异源病毒蛋白来自HBV、HPV、EBV、CMV、HTLV或多瘤病毒蛋白。

[0023] 在一些实施方案中,提供了治疗癌症的方法,该方法包括施用本文提供的任何重组腺病毒,其中重组腺病毒表达细胞因子和/或肿瘤抗原。

附图说明

[0024] 图1描绘了这样的数据:其示出两种不同的重组病毒成功地靶向肝和脾,轻度修饰的Ad5(SBI Ad5)和具有修饰的六邻体蛋白的Ad5(SynBAd)对脾显示出更高的效果。

[0025] 图2描绘了这样的数据:其示出SBI Ad5和SynBAd两者均显示出良好数量的来自肝和脾的IFN-γSFC/10^6个脾细胞,结果因施用方法而不同。

[0026] 图3描绘了这样的数据:其示出当与抗原一起施用时两种病毒均显示强CD8阳性百分比的数据。

[0027] 图4描绘了这样的数据:其示出与SBI Ad5相比,SynBAd病毒具有较低的ALT或AST肝酶水平。

[0028] 图5描绘了这样的数据:其示出SBI Ad5和SynBAd组均显示出和大量IFN-γSFC/10^6个脾细胞。

[0029] 图6描绘了这样的数据:其示出不存在对应的IL-4活性,表明图5中的效果是靶特异性的。

[0030] 图7描绘了这样的数据:其示出与假手术对照组和抗原加上助剂组相比,SBI Ad5组和SynBAd组均具有相似水平的多聚体阳性T细胞(MHCI)。

具体实施方式

[0031] 除非另外定义,否则本文所使用的所有技术和科学术语的含义与本领域普通技术人员通常理解的含义相同。虽然本文描述了合适的方法和材料,但是与本文描述的类似或等同的方法和材料也可用于实践或测试。在冲突的情况下,以本说明书(包括定义)为准。此外,材料、方法和示例仅是例示性的,而不旨在进行限制。通过本发明的具体实施方式和权利要求,本文提供的实施方案的其他特征和优点将显而易见。

[0032] 术语“约”或“大约”意指其所使用的数字的数值加上或减去10%。因此,约50%意指在45%55%的范围内。

[0033] 除非上下文清楚地另外指出,否则单数形式的“一个”、“一种”和“该/所述”包括复数指代。

[0034] 如本文所用,术语“包含”、“具有”和“包括”以及它们的词形变化意指“包括但不限

于”。虽然从“包括”各种组分或步骤(解释为意指“包括但不限于”)的角度描述了各种组合物、方法和装置,但是这些组合物、方法和装置也可“基本上由”或“由”各种组分和步骤组成。

[0035] 如本文所用,术语“取代”、“取代的”、“突变”或“突变的”是指改变、缺失或插入多肽或多核苷酸序列中的一个或多个氨基酸或核苷酸以生成该序列的变体。

[0036] 如本文所用,术语“变体”是指与参考多肽或参考多核苷酸相差一个或多个修饰(包括取代、插入或缺失)的多肽或多核苷酸。本文提供了基于百分比同一性或百分比同源性的分子变体(例如,核酸分子和多肽)。在一些实施方案中,变体可包含突变,诸如取代、插入或缺失,这些突变修饰此类分子的一级结构(序列)而不影响所产生或使用的多肽的活性。例如,与参考序列相比,本文提供的多肽的变体可具有1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个取代。这些取代可以是点突变(取代)、插入或缺失。为了清楚起见,两个或更多个连续的氨基酸残基的插入或缺失被认为是单一突变,两个不同且不连续的氨基酸残基的插入或缺失被认为是单独的突变。

[0037] 术语“载体”意指可用于将货物递送至靶标(诸如细胞、组织、器官等)的物质组合物。在一些实施方案中,载体能够被复制,其可被称为“复制型载体”。在一些实施方案中,载体是非复制型载体。在一些实施方案中,载体在包装细胞系中产生。在一些实施方案中,载体是病毒载体,诸如但不限于腺病毒载体。通过缺失腺病毒基因组中复制所必需的基因,可从腺病毒载体(“腺病毒”)中产生非复制型腺病毒载体。例如,可缺失单独的E1、E2、E3或E4基因,或者它们的彼此组合。为了产生腺病毒颗粒,由包装细胞系提供由这些基因产生的多肽。产生腺病毒颗粒的方法是本领域众所周知的。在一些实施方案中,载体可包含元件,诸如复制起点、多腺苷酸化信号或选择标记,功能旨在促进这些多核苷酸在生物系统中的复制或维持。

[0038] 术语“表达载体”意指可用于生物系统(诸如但不限于细胞、组织或器官)或重组生物系统中以指导由表达载体中存在的多核苷酸序列编码的多肽的翻译的载体。

[0039] 术语“多核苷酸”意指包含通过糖-磷酸主链或其他等同的共价化学共价连接的核苷酸链的分子。双链和单链DNA和RNA是多核苷酸的典型示例。

[0040] 术语“多肽”或“蛋白”意指包含通过肽键连接以形成多肽的至少两个氨基酸残基的分子。在一些实施方案中,也可使用术语“肽”。

[0041] 如本文所用,“六邻体”是腺病毒蛋白。不受任何特定理论的束缚,腺病毒二十面体通常由其六邻体蛋白的240个拷贝组成。六邻体多肽在其C-末端包含保守区,在该蛋白的N-末端部分包含多个高变区(HVR)。不受任何特定理论的束缚,HVR影响腺病毒颗粒以及腺病毒颗粒将靶向的组织的抗原性。因此,腺病毒颗粒的趋向性可通过形成嵌合六邻体多肽来修饰,该嵌合六邻体多肽可用于生成腺病毒颗粒。在一些实施方案中,嵌合六邻体多肽增加了对肝的特异性。在一些实施方案中,嵌合六邻体多肽是如本文提供的嵌合体,其可以是但不限于如本文提供的Ad5/Ad57嵌合六邻体多肽。

[0042] 在一些实施方案中,提供了包含嵌合六邻体多肽的重组腺病毒(Ad)。在一些实施方案中,嵌合六邻体多肽包含来源于第一Ad的部分和来源于第二Ad的部分。在一些实施方案中,第一部分可被称为主链,第二Ad的部分接枝到该主链上。在一些实施方案中,第二Ad的六邻体多肽序列用于替换第一Ad的六邻体多肽序列的一部分。在一些实施方案中,将第

二Ad的六邻体多肽序列插入到第一六邻体多肽序列的区域中。例如,来自第一Ad(诸如Ad5)的六邻体可以用来自第二Ad(诸如Ad57)的一个或多个HVR修饰。具有修饰的或嵌合的六邻体的重组Ad的产生可影响Ad的以下方面:包括但不限于Ad的携带容量、Ad的抗体中和速率和Ad靶向。例如,Ad六邻体多肽的修饰可影响腺病毒靶向各种器官,增加或降低对器官或组织的亲和力。在一些实施方案中,Ad六邻体修饰影响对肝的靶向。在一些实施方案中,具有包含Ad5/Ad57六邻体多肽的嵌合体的嵌合六邻体多肽的腺病毒增加腺病毒在肝中的转导。

[0043] 在一些实施方案中,重组Ad可用于溶瘤抗癌活性。例如,重组Ad可来源于第一Ad并且可包含来自一个或多个不同Ad的六邻体HVR。HVR可来源于任何种类C Ad,诸如Ad1、Ad2、Ad5、Ad6和Ad57。在一些实施方案中,重组Ad可来源于第一Ad,并且可包含来自至少一种其他Ad的一个或多个六邻体HVR,其中至少一个六邻体HVR不同于第一Ad的HVR。在一些实施方案中,第一Ad株可以是人Ad5株,并且第二Ad株可以是人Ad57株。

[0044] 在一些实施方案中,本文所述的重组Ad可以是复制型Ad(RC-Ad)。例如,RC-Ad可以是包含编码E1多肽的核酸的RC-Ad(例如,E1+RC-Ad)。例如,RC-Ad可以是单周期Ad(SC-Ad),其包含编码与感染性病毒后代(例如,pIIIa和E3)的产生相关联的一种或多种多肽的一个或多个核酸的缺失。例如,RC-Ad可以是条件复制型Ad(CRAd)。包含本文提供的嵌合六邻体多肽的复制型腺病毒可以是任何复制型腺病毒。此类复制型腺病毒颗粒的示例描述于但不限于US2021/0017501、US2020/0397839、US2019/0076493、US2019/0055522、US2018/0311291、US2018/0169271、US20150231229和US20120283318中,这些专利中的每一篇据此全文以引用方式并入。这些仅仅是非限制性示例,也可使用任何复制型腺病毒。

[0045] 非天然存在于Ad中的核酸和/或多肽可来自任何合适的来源。在一些实施方案中,非天然存在于该Ad中的核酸和/或多肽可来自非病毒生物。在一些实施方案中,非天然存在于该Ad中的核酸和/或多肽可来自除Ad之外的病毒。在一些实施方案中,非天然存在于该Ad中的核酸和/或多肽可来自从不同种类获得的Ad。在一些实施方案中,非天然存在于该Ad中的核酸和/或多肽可来自Ad的不同株(例如,血清型不同株)。在一些实施方案中,非天然存在于该Ad中的核酸和/或多肽可以是合成核酸和/或合成多肽。

[0046] 在一些实施方案中,本文所述的重组Ad可包含含有一个或多个取代的Ad基因组。例如,编码多肽(或其片段)的一个或多个核酸和/或由Ad基因组编码的一个或多个病毒元件可被取代。取代可以是任何合适的取代。在一些实施方案中,编码第一Ad的基因组的衣壳多肽的一个或多个核酸可被编码第二Ad的衣壳多肽的一个或多个核酸取代以生成嵌合Ad。例如,当重组Ad包含来自第一Ad的基因组时,其中基因组中编码衣壳多肽的核酸取代编码来自第二Ad(例如,不同于Ad主链的Ad)的衣壳多肽的核酸,编码来自第二Ad的衣壳多肽的核酸可表达一种或多种衣壳多肽,并且所表达的衣壳多肽可结合到重组Ad的衣壳中。衣壳多肽的示例包括但不限于六邻体多肽、纤维多肽、五邻体基础多肽、IIIa多肽、IX多肽和pVI多肽。

[0047] 在一些实施方案中,重组Ad可包含来自第一Ad的基因组,其中基因组中编码六邻体多肽的核酸(例如,编码六邻体多肽的核酸的HVR)取代编码来自第二Ad的六邻体多肽的核酸(例如,编码六邻体多肽的核酸的HVR)。在一些实施方案中,本文所述的重组Ad可包含来自第一Ad的基因组,其中一个或多个HVR取代来自第二Ad的一个或多个HVR。在一些实施方案中,其中重组Ad包含来自第一Ad的基因组,其中基因组中编码六邻体多肽的核酸取代

编码来自第二Ad的六邻体多肽的核酸,重组Ad可包含来自第二Ad的约1至约720个六邻体多肽。

[0048] 在一些实施方案中,本文所述的重组Ad可包含含有一个或多个核酸缺失的Ad基因组。核酸缺失可以是任何合适的核酸缺失。核酸缺失可以是完全缺失(例如,编码多肽的核酸的缺失)或部分缺失(例如,编码多肽的核酸内的一个或多个核苷酸的缺失)。核酸缺失可减少或消除由缺失的核酸编码的多肽的转录和翻译。可缺失任何合适的核酸。在一些实施方案中,可缺失编码与感染性后代的产生相关联的多肽的核酸。在本文所述的重组Ad中,可缺失和/或修饰的核酸的示例可编码E1(例如E1A和E1B)、E2、E3、E4、pIIIA、纤维、E1B,并且包含病毒增强子和启动子。例如,本文所述的重组Ad可包含在编码E1多肽的核酸内含有一个或多个核苷酸的缺失的Ad基因组。在一些实施方案中,本文所述的重组Ad可包含在编码E1多肽的核酸中的一个或多个取代。由缺失的基因或核酸分子编码的蛋白可通过使用包装细胞系返回以形成腺病毒颗粒。使用包装细胞系来产生腺病毒颗粒是本领域众所周知的。

[0049] 在一些实施方案中,本文所述的重组Ad可包含含有一个或多个核酸插入的Ad基因组。例如,核酸插入可包括编码多肽的核酸。可将核酸插入本文所述的重组Ad的基因组内的任何合适位置。在一些实施方案中,可将编码多肽的核酸插入本文所述的重组Ad的基因组的HVR(例如,HVR 5环)中。例如,当将编码多肽的核酸插入本文所述的重组Ad的基因组的HVR中时,编码多肽的核酸可表达一种或多种多肽,并且所表达的多肽可结合到重组Ad的衣壳中。在将编码多肽的核酸插入本文所述重组Ad的基因组的HVR中的情况下,重组Ad可在其表面上呈递约1至约720个由所插入的核酸编码的多肽。插入核酸可以是编码任何合适多肽的核酸。在一些实施方案中,插入核酸可编码多肽抗原。

[0050] 本文所述的重组Ad或多肽中的任何重组Ad或多肽都可用保守氨基酸取代修饰。“保守氨基酸取代”是其中氨基酸残基被具有相似侧链的氨基酸残基替换的氨基酸取代。具有相似侧链的氨基酸残基家族已在本领域中定义。例如,这些家族包括具有碱性侧链(例如,K、R、H)、酸性侧链(例如,D、E)、不带电荷的极性侧链(例如,G、N、Q、S、T、Y、C、H)、非极性侧链(例如G、A、V、L、I、P、F、M、W)、β-支化侧链(例如,T、V、I)和芳族侧链(例如,Y、F、W、H)的氨基酸。因此,在一些实施方案中,重组Ad或多肽例如可以被来自相同侧链家族的另一个氨基酸残基替换。可接受的取代的其他示例是基于电子等排考虑(例如,正亮氨酸取代甲硫氨酸)或其他特性(例如,2-噻吩丙氨酸取代苯丙氨酸)的取代。

[0051] 本文还提供了编码本文提供的重组Ad的表达载体。表达载体可包含编码本文所述的重组Ad的核酸分子,这些核酸分子进入另一细胞中以产生重组Ad,其中可产生Ad颗粒。在一些实施方案中,也可被称为表达构建体的表达载体可以是例如具有控制一个或多个核酸分子表达的增强子/启动子区域的质粒或其他类型的载体(例如,病毒、线性DNA等)。当被引入细胞中时,表达载体可例如使用细胞机器从细胞中产生病毒。在一些实施方案中,含有本文所述的重组Ad的表达载体可以是病毒载体。例如,编码本文所述的重组Ad的表达载体可以是逆转录病毒载体。在一些实施方案中,可将编码本文所述的重组Ad的表达载体设计成允许插入一个或多个转基因(例如,在多克隆位点处)。例如,编码本文所述的重组Ad的表达载体还可包含编码任何异源基因或蛋白的核酸。此类异源基因或蛋白的示例可以是可检测标记、肿瘤特异性抗原、治疗性蛋白或任何期望或选择的异源蛋白。可检测标记的示例包括但不限于荧光团(例如,绿荧光蛋白(GFP)、mCherry和mBFP)和酶(例如,荧光素酶、重组酶、

核酸酶和转录因子)。在一些实施方案中,异源蛋白是由转基因编码的多种蛋白。例如,由腺病毒载体携带的转基因可以是一种或多种肿瘤抗原。在一些实施方案中,转基因编码广义新抗原(病毒;例如HBV多表位)、患者特异性新表位或来自另一病毒的另一不相关的靶蛋白。转基因可用于编码可由转基因核酸插入物编码的任何蛋白、RNA、miRNA、siRNA、cRNA或分子。

[0052] 在一些实施方案中,提供了使用本文所述的一种或多种重组Ad或多肽的方法和材料。在一些实施方案中,本文提供的重组Ad或多肽可用于治疗患有癌症或病毒感染或处于患有癌症或病毒感染风险中的哺乳动物。例如,用于治疗患有癌症或处于患有癌症风险中的哺乳动物的方法可包括向哺乳动物施用本文所述的一种或多种重组Ad或多肽。在一些实施方案中,用于治疗患有癌症或处于患有癌症风险中的哺乳动物的方法可包括向哺乳动物施用编码本文所述的重组Ad或多肽的一种或多种表达载体或编码本文所述的重组Ad或多肽的核酸。在一些实施方案中,可将本文所述的一种或多种重组Ad或多肽施用于哺乳动物以减少哺乳动物中癌细胞的数目(例如,抑制和/或延迟肿瘤生长)。在一些实施方案中,可将本文所述的一种或多种重组Ad或多肽施用于哺乳动物以降低受试者中感染剂的病毒滴度。

[0053] 重组腺病毒

[0054] 在一些实施方案中,本文提供了重组腺病毒。在一些实施方案中,重组腺病毒(Ad)包含Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽,该衣壳六邻体多肽包含AD57的一个或多个HVR。

[0055] 在一些实施方案中,Ad5的衣壳六邻体多肽具有以下氨基酸序列:

[0056]
MATPSMMPQWSYMHISGQDASEYLSPGLVQFARATETYFSLNN
KFRNPTVAPTHDVTTDRSQRLTLRFIPVDREDTAYSYKARFTL
AVGDNRVLDMASTYFDIRGVLDRGPTFKPYSGTAYNALAPKGA
PNPCEWDEAATALEINLEEEDDDNEDEVDEQAEQQKTHVFGQA
PYSGINITKEGIQIGVEGQTPKYADKTFQPEPQIGESQWYETE
INHAAGRVLKKTTPMKPCYGSYAKPTNENGGQGILVKQQNGKL
ESQVEMQFFSTTEATAGNGDNLTPKVVLYSEDVDIETPDTHIS
YMPTIKEGNSRELMGQQSMPNRPNYIAFRDNFIGLMYYNSTGN
MGVLAGQASQLNAVVDLQDRNTELSYQLLLDSIGDRTRYFSMW
NQAVDSYDPDVRIIENHGTEDELPNYCFPLGGVINTETLTKVK
PKTGQENGWEKDATEFSDKNEIRVGNNFAMEINLNANLWRNFL
YSNIALYLPDKLKYSPSNVKISDNPNTYDYMNKRVVAPGLVDC
YINLGARWSLDYMDNVNPFNHHRNAGLRYRSMLLGNGRYVPFH
IQVPQKFFAIKNLLLLPGSYTYEWNFRKDVNMVLQSSLGNDLR
VDGASIKFDSICLYATFFPMAHNTASTLEAMLRNDTNDQSFND
YLSAANMLYPIPANATNVPISIPSRNWAAFRGWAFTRLKTKET
PSLGSGYDPYYTYSGSIPYLDGTFYLNHTFKKVAITFDSSVSW
PGNDRLLTPNEFEIKRSVDGEGYNVAQCNMTKDWFLVQMLANY
NIGYQGFYIPESYKDRMYSFFRNFQPMSRQVVDDTKYKDYQQV
GILHQHNNSGFVGYLAPTMREGQAYPANFPYPLIGKTAVDSIT
QKKFLCDRTLWRIPFSSNFMSMGALTDLGQNLLYANSAHALDM
TFEVDPMDEPTLLYVLFEVFDVVRVHRPHRGVIETVYLRTPFS
AGNATT
(SEQ ID NO: 1)

[0057] 在一些实施方案中,Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽包含来自Ad株Ad57的至少一个衣

壳六邻体高变区(HVR)多肽。在一些实施方案中,Ad57的衣壳六邻体多肽具有以下氨基酸序列:

[0058]
MATPSMMPQWSYMHISGQDASEYLSPGLVQFARATETYFSLNN
KFRNPTVAPTHDVTTDRSQRLTLRFIPVDREDTAYSYKARFTL
AVGDNRVLDMASTYFDIRGVLDRGPTFKPYSGTAYNALAPKGA
PNSCEWDEDDTQVQVAAEDDQDDDEEEEQLPQQRNGKKTHVYA
QAPFAGEAINKNGLQIGTNGAATEGNKEIYADKTYQPEPQIGE
SQWNEAESSVAGGRVLKKTTPMKPCYGSYARPTNSNGGQGVMV
EQNGKLESQVEMQFFSTSVNAMNEANAIQPKLVLYSEDVNMET
PDTHLSYKPGKSDDNSKAMLGQQSMPNRPNYIAFRDNFIGLMY
YNSTGNMGVLAGQASQLNAVVDLQDRNTELSYQLLLDSIGDRT
RYFSMWNQAVDSYDPDVRIIENHGTEDELPNYCFPLGGIGVTD
TYQAIKATNGNGGATTWAQDNTFAERNEIGVGNNFAMEINLNA
NLWRNFLYSNIALYLPDKLKYNPTNVEISDNPNTYDYMNKRVV
APGLVDCYINLGARWSLDYMDNVNPFNHHRNAGLRYRSMLLGN
GRYVPFHIQVPQKFFAIKNLLLLPGSYTYEWNFRKDVNMVLQS
SLGNDLRVDGASIKFDSICLYATFFPMAHNTASTLEAMLRNDT

[0059]
NDQSFNDYLSAANMLYPIPANATNVPISIPSRNWAAFRGWAFT
RLKTKETPSLGSGYDPYYTYSGSIPYLDGTFYLNHTFKKVAIT
FDSSVSWPGNDRLLTPNEFEIKRSVDGEGYNVAQCNMTKDWFL
VQMLANYNIGYQGFYIPESYKDRMYSFFRNFQPMSRQVVDDTK
YKDYQQVGILHQHNNSGFVGYLAPTMREGQAYPANFPYPLIGK
TAVNSITQKKFLCDRTLWRIPFSSNFMSMGALTDLGQNLLYAN
SAHALDMTFEVDPMDEPTLLYVLFEVFDVVRVHQPHRGVIETV
YLRTPFSAGNATT
(SEQ ID NO: 2)

[0060] 在一些实施方案中,在包含AATALEINLE的序列(SEQ ID NO:3)的Ad株Ad5的该六邻体多肽中,SEQ ID NO:3被DDTQVQVAAE的序列(SEQ ID NO:4)替换。

[0061] 在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置156处的残基E和位置157处的残基V之间的EQ的残基。

[0062] 在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置166处的残基T和位置169处的残基F之处或之间的插入、缺失或取代。

[0063] 在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置187处的残基G和位置188处的残基V之间的包含TNGAA的序列(SEQ ID NO:5)的多肽的插入。

[0064] 在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置218处的残基H和位置220处的残基A之处或之间的插入、缺失或取代。

[0065] 在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽包含SEQ ID NO:1的位置252处的残基K的缺失。

[0066] 在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置267处的残基F和位置268处的残基S之处或之间的插入、缺失或取代。

[0067] 在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置434处的残基G和位置435处的残基Q之处或之间的插入、缺失或取代。

[0068] 在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置435和436处的残基QE的缺失。

[0069] 在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置438处的残基G和位置439处的残基W之间的包含TT的序列的多肽的插入。

[0070] 在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置438处的残基G和位置439处的残基W之间的包含GATT的序列(SEQ ID NO:6)的多肽的插入。

[0071] 在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽包含SEQ ID NO:1的位置445处的残基E的缺失。

[0072] 在一些实施方案中,在包含SEQ ID NO:7的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:7被SEQ ID NO:8替换。

PCEWDEAATALEINLEEEDDDNEDEVDEQAEQQKTHVFGQAPY
SGINITKEGIQIGVEGQTPKYADKTFQPEPQIGESQWYETEIN
HAAGRVLKKTTPMKPCYGSYAKPTNENGGQGILVKQ
(SEQ ID NO: 7)

[0073]

SCEWDEDDTQVQVAAEDDQDDDEEEEQLPQQRNGKKTHVYAQA
PFAGEAINKNGLQIGTNGAATEGNKEIYADKTYQPEPQIGESQ
WNEAESSVAGGRVLKKTTPMKPCYGSYARPTNSNGGQGVMVE
(SEQ ID NO: 8)

[0074] 在一些实施方案中,在包含SEQ ID NO:9的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:9被SEQ ID NO:10替换。

TEATAGNGDNLTPKVVLYSEDVDIETPDTHISYMPTIKEGNSR
ELM
(SEQ ID NO: 9)

[0075]

SVNAMNEANAIQPKLVLYSEDVNMETPDTHLSYKPGKSDDNSK
AML
(SEQ ID NO: 10)

[0076] 在一些实施方案中,在包含SEQ ID NO:11的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:11被SEQ ID NO:12替换。

[0077] VINTETLTKVKPKTGQENGWEKDATEFSDKNEIR
(SEQ ID NO: 11)

[0078] IGVTDTYQAIKATNGNGGATTWAQDNTFAERNEIG
(SEQ ID NO: 12)

[0079] 在一些实施方案中,在包含SEQ ID NO:13的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:13被SEQ ID NO:14替换。

SPSNVK (SEQ ID NO: 13)

[0080]

NPTNVE (SEQ ID NO: 14)

[0081] 在一些实施方案中,在包含SEQ ID NO:15的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:15被SEQ ID NO:16替换。

PCEWDEAATALEINLEEEDDDNEDEVDEQAEQQKTHVFGQAPY
SGINITKEGIQIGVEGQTPKYADKTFQPEPQIGESQWYETEIN
HAAGRVLKKTTPMKPCYGSYAKPTNENGGQGILVKQQNGKLES
QVEMQFFSTTEATAGNGDNLTPKVVLYSEDVDIETPDTHISYM
PTIKEGNSRELMGQQSMPNRPNYIAFRDNFIGLMYYNSTGNMG
VLAGQASQLNAVVDLQDRNTELSYQLLLDSIGDRTRYFSMWNQ
AVDSYDPDVRIIENHGTEDELPNYCFPLGGVINTETLTKVKPK
TGQENGWEKDATEFSDKNEIRVGNNFAMEINLNANLWRNFLYS
NIALYLPDKLKYSPSNVKISDNPNT
(SEQ ID NO: 15)

[0082]

SCEWDEDDTQVQVAAEDDQDDDEEEEQLPQQRNGKKTHVYAQA
PFAGEAINKNGLQIGTNGAATEGNKEIYADKTYQPEPQIGESQ
WNEAESSVAGGRVLKKTTPMKPCYGSYARPTNSNGGQGVMVEQ
NGKLESQVEMQFFSTSVNAMNEANAIQPKLVLYSEDVNMETPD
THLSYKPGKSDDNSKAMLGQQSMPNRPNYIAFRDNFIGLMYYN
STGNMGVLAGQASQLNAVVDLQDRNTELSYQLLLDSIGDRTRY
FSMWNQAVDSYDPDVRIIENHGTEDELPNYCFPLGGIGVTDTY
QAIKATNGNGGATTWAQDNTFAERNEIGVGNNFAMEINLNANL
WRNFLYSNIALYLPDKLKYNPTNVEISDNPNTY
(SEQ ID NO: 16)

[0083] 在一些实施方案中,Ad株Ad5的嵌合六邻体多肽包含SEQ ID NO:2,不同的是与SEQ ID NO:2相比,位置864处的残基是D并且/或者位置937处的残基是R。在一些实施方案中,Ad株Ad5的嵌合六邻体多肽包含SEQ ID NO:2,不同的是与SEQ ID NO:2相比,位置864处的残基是D并且位置937处的残基是R。

[0084] 在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽包含SEQ ID NO:18。

[0085]
MATPSMMPQWSYMHISGQDASEYLSPGLVQFARATETYFSLNN
KFRNPTVAPTHDVTTDRSQRLTLRFIPVDREDTAYSYKARFTL
AVGDNRVLDMASTYFDIRGVLDRGPTFKPYSGTAYNALAPKGA
PNSCEWDEDDTQVQVAAEDDQDDDEEEEQLPQQRNGKKTHVYA
QAPFAGEAINKNGLQIGTNGAATEGNKEIYADKTYQPEPQIGE
SQWNEAESSVAGGRVLKKTTPMKPCYGSYARPTNSNGGQGVMV
EQNGKLESQVEMQFFSTSVNAMNEANAIQPKLVLYSEDVNMET
PDTHLSYKPGKSDDNSKAMLGQQSMPNRPNYIAFRDNFIGLMY
YNSTGNMGVLAGQASQLNAVVDLQDRNTELSYQLLLDSIGDRT
RYFSMWNQAVDSYDPDVRIIENHGTEDELPNYCFPLGGIGVTD
TYQAIKATNGNGGATTWAQDNTFAERNEIGVGNNFAMEINLNA
NLWRNFLYSNIALYLPDKLKYNPTNVEISDNPNTYDYMNKRVV
APGLVDCYINLGARWSLDYMDNVNPFNHHRNAGLRYRSMLLGN
GRYVPFHIQVPQKFFAIKNLLLLPGSYTYEWNFRKDVNMVLQS
SLGNDLRVDGASIKFDSICLYATFFPMAHNTASTLEAMLRNDT
NDQSFNDYLSAANMLYPIPANATNVPISIPSRNWAAFRGWAFT
RLKTKETPSLGSGYDPYYTYSGSIPYLDGTFYLNHTFKKVAIT
FDSSVSWPGNDRLLTPNEFEIKRSVDGEGYNVAQCNMTKDWFL
VQMLANYNIGYQGFYIPESYKDRMYSFFRNFQPMSRQVVDDTK
YKDYQQVGILHQHNNSGFVGYLAPTMREGQAYPANFPYPLIGK
TAVDSITQKKFLCDRTLWRIPFSSNFMSMGALTDLGQNLLYAN
SAHALDMTFEVDPMDEPTLLYVLFEVFDVVRVHRPHRGVIETV
YLRTPFSAGNATT
(SEQ ID NO: 18)

[0086] 在一些实施方案中,腺病毒包含SEQ ID NO:18的六邻体多肽。在一些实施方案中,腺病毒包含SEQ ID NO:2的六邻体多肽,不同的是与SEQ ID NO:2相比,位置864处的残基是D并且/或者位置937处的残基是R。在一些实施方案中,腺病毒包含SEQ ID NO:2的六邻体多肽,不同的是与SEQ ID NO:2相比,位置864处的残基是D并且位置937处的残基是R。

[0087] 在一些实施方案中,Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽包含来自本文提供的Ad株Ad57的一个或多个衣壳六邻体HVR多肽。在一些实施方案中,Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽包含来自Ad株Ad57的一个或多个衣壳六邻体HVR多肽或者本文提供的插入或缺失中的任一者。在一些实施方案中,SEQ ID NO:1或本领域已知的任何Ad5六邻体序列可通过以下方式来修饰:用本文所述的SEQ ID NO:4、8、10、12、14或16中的一者或多者替换一个或多个氨基酸序列;以下的一个或多个插入:在SEQ ID NO:1位置156和157之间插入序列EQ,在SEQ ID NO:1位置187和188之间插入SEQ ID NO:5,在SEQ ID NO:1位置438和439之间插入序列TT,在SEQ ID NO:1位置438和439之间插入序列GATT;以下的一个或多个缺失:在SEQ ID NO:1位置252处缺失氨基酸K,在SEQ ID NO:1位置435和436处缺失氨基酸QE,以及在SEQ ID NO:1位置445处缺失氨基酸E;以及/或者本文提供的替换、插入或缺失的任何组合。

[0088] 在一些实施方案中,本文提供的Ad株Ad5的任何衣壳六邻体多肽不包含在以下残基之处或之间的插入、缺失或取代:SEQ ID NO:1的位置166处的残基T和位置169处的残基F;SEQ ID NO:1的位置218处的残基H和位置220处的残基A;SEQ ID NO:1的位置267处的残基F和位置268处的残基S;SEQ ID NO:1的位置434处的残基G和位置435处的残基Q;以及/或者它们的任何组合。

[0089] 在一些实施方案中,本文提供的Ad株Ad5的任何衣壳六邻体多肽可通过用相同类

型的保守氨基酸残基替换任何氨基酸残基来修饰。在一些实施方案中,本文提供的Ad株Ad5的任何衣壳六邻体多肽可通过用不同的氨基酸替换1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个氨基酸来修饰。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽与本文提出的任何氨基酸序列或氨基酸序列组合至少99%同源或相同。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽与本文提出的任何氨基酸序列或氨基酸序列组合至少98%同源或相同。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽与本文提出的任何氨基酸序列或氨基酸序列组合至少97%同源或相同。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽与本文提出的任何氨基酸序列或氨基酸序列组合至少96%同源或相同。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽与本文提出的任何氨基酸序列或氨基酸序列组合至少95%同源或相同。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽与本文提出的任何氨基酸序列或氨基酸序列组合至少94%同源或相同。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽与本文提出的任何氨基酸序列或氨基酸序列组合至少93%同源或相同。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽与本文提出的任何氨基酸序列或氨基酸序列组合至少92%同源或相同。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽与本文提出的任何氨基酸序列或氨基酸序列组合至少91%同源或相同。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽与本文提出的任何氨基酸序列或氨基酸序列组合至少90%同源或相同。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽与本文提出的任何氨基酸序列或氨基酸序列组合至少85%同源或相同。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽与本文提出的任何氨基酸序列或氨基酸序列组合至少80%同源或相同。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽与本文提出的任何氨基酸序列或氨基酸序列组合至少75%同源或相同。在一些实施方案中,Ad株Ad5的六邻体多肽与本文提出的任何氨基酸序列或氨基酸序列组合至少70%同源或相同。

[0090] 两个氨基酸或两个核酸序列的同一性百分比可通过目视检查和数学计算来确定,或者例如,通过使用计算机程序对比序列信息来进行比较。示例性的计算机程序是遗传学计算机组(GCG;Madison,Wis.)、Wisconsin软件包10.0版程序GAP(Devereux等人(1984年),Nucleic Acids Res.,第12卷:第387-395页)。GAP程序的优选默认参数包括:(1)用于核苷酸的一元比较矩阵(包含对于同一性为1的值,对于非同一性为0的值)的GCG实现以及Gribskov和Burgess的加权氨基酸比较矩阵((1986年)Nucleic Acids Res.,第14卷:第6745页),如Atlas of Polypeptide Sequence and Structure,Schwartz和Dayhoff编辑,National Biomedical Research Foundation,第353-358页(1979年)中所述,或其他类似的比较矩阵;(2)对于氨基酸序列,每个空位的罚分为8并且每个空位中每个字符的附加罚分为2,或者对于核苷酸序列,每个空位的罚分为50并且每个空位中每个字符的附加罚分为3;(3)末端空位无罚分;并且(4)长空位无最大罚分。也可使用由序列比较领域的技术人员使用的其他程序。在一些实施方案中,本文提供的重组Ad中的任何重组Ad还包含编码异源蛋白的多核苷酸。本领域中已知,编码多种蛋白的多种多核苷酸可在Ad内包装或递送。在一些实施方案中,异源蛋白是细胞因子、免疫球蛋白、免疫调节蛋白、病毒蛋白、患者特异性新表位或它们的任何组合,所有这些蛋白是本领域普遍已知的。在一些实施方案中,病毒蛋白来自HBV、HPV、EBV、CMV、HTLV、多瘤病毒或它们的任何组合。在一些实施方案中,免疫调节蛋白来自B7家族。在一些实施方案中,免疫调节蛋白是B7/Fc、B7.1或B7.2蛋白。在一些实施方案中,来自B7家族的免疫调节蛋白与来自免疫球蛋白的结构域融合。在一些实施方案中,患者特异性新表位是来源于患者的体细胞肿瘤突变的肿瘤特异性抗原。

[0091] 在一些实施方案中,本文提供的重组Ad中的任何重组Ad还包含靶向部分。在一些实施方案中,靶向部分是将Ad靶向碳水化合物、细胞膜和细胞的部分,该细胞选自肌细胞、肿瘤、癌细胞、肾细胞、肝细胞或粘膜细胞。

[0092] 在一些实施方案中,本文提供的重组Ad中的任何重组Ad有复制能力或是条件复制型腺病毒(CRAd),该CRAd包含编码E1A多肽的修饰的E1A基因,其中相对于Ad株的野生型E1A多肽,CRAd在E1A多肽中表现出氨基酸取代。本文提供了此类复制型腺病毒的非限制性示例。

[0093] 在一些实施方案中,提供了编码Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽的核酸分子。在一些实施方案中,编码Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽的核酸分子包含来自Ad株Ad57的至少一个衣壳六邻体HVR多肽。在一些实施方案中,Ad株Ad5的该至少一个衣壳六邻体多肽包含来自本文提供的Ad株Ad57的一个或多个衣壳六邻体HVR多肽。在一些实施方案中,Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽包含来自Ad株Ad57的一个或多个衣壳六邻体HVR多肽或者本文提供的插入或缺失中的任一者。在一些实施方案中,SEQ ID NO:1或本领域已知的任何Ad5六邻体序列可通过以下方式来修饰:用本文所述的SEQ ID NO:4、8、10、12、14或16中的一者或多者替换一个或多个氨基酸序列;以下的一个或多个插入:在SEQ ID NO:1位置156和157之间插入序列EQ,在SEQ ID NO:1位置187和188之间插入SEQ ID NO:5,在SEQ ID NO:1位置438和439之间插入序列TT,在SEQ ID NO:1位置438和439之间插入序列GATT;以下的一个或多个缺失:在SEQ ID NO:1位置252处缺失氨基酸K,在SEQ ID NO:1位置435和436处缺失氨基酸QE,以及在SEQ ID NO:1位置445处缺失氨基酸E;以及/或者本文提供的替换、插入或缺失的任何组合。在一些实施方案中,腺病毒包含SEQ ID NO:2的六邻体多肽,不同的是与SEQ ID NO:2相比,位置864处的残基是D并且/或者位置937处的残基是R。在一些实施方案中,腺病毒包含SEQ ID NO:2的六邻体多肽,不同的是与SEQ ID NO:2相比,位置864处的残基是D并且位置937处的残基是R。在一些实施方案中,核酸分子编码SEQ ID NO:18的衣壳六邻体多肽。在一些实施方案中,核酸分子包含SEQ ID NO:17的序列。

[0094]

ATGGCTACCCCTTCGATGATGCCGCAGTGGTCTTACATGCACA
TCTCGGGCCAGGACGCCTCGGAGTACCTGAGCCCCGGGCTGGT
GCAGTTTGCCCGCGCCACCGAGACGTACTTCAGCCTGAATAAC
AAGTTTAGAAACCCCACGGTGGCGCCTACGCACGACGTGACCA
CAGACCGGTCCCAGCGTTTGACGCTGCGGTTCATCCCTGTGGA
CCGTGAGGATACTGCGTACTCGTACAAGGCGCGGTTCACCCTA
GCTGTGGGTGATAACCGTGTGCTGGACATGGCTTCCACGTACT
TTGACATCCGCGGCGTGCTGGACAGGGGCCCTACTTTTAAGCC
CTACTCTGGCACTGCCTACAACGCCCTGGCTCCCAAGGGTGCC
CCAAATTCATGCGAGTGGGATGAAGATGATACTCAGGTACAGG
TAGCGGCTGAAGACGATCAAGACGACGACGAAGAAGAGGAACA
ACTACCTCAGCAGAGAAATGGCAAAAAAACTCACGTATATGCT
CAGGCACCGTTTGCTGGCGAAGCAATTAACAAAAACGGCCTGC
AGATAGGAACTAACGGTGCAGCCACTGAAGGAAATAAGGAAAT
TTACGCAGATAAAACTTATCAACCTGAACCACAAATAGGAGAA
TCACAGTGGAACGAAGCCGAATCGTCCGTAGCAGGTGGAAGGG
TTCTTAAAAAGACTACTCCCATGAAACCATGCTATGGCTCCTA
TGCCAGACCTACCAATTCTAACGGAGGTCAGGGCGTTATGGTT
GAACAAAATGGTAAATTGGAAAGTCAAGTAGAAATGCAATTTT
TTTCAACTTCTGTAAATGCTATGAACGAGGCAAACGCTATTCA
ACCTAAACTAGTGTTGTATAGTGAAGATGTAAATATGGAAACC
CCAGACACTCATCTTTCTTATAAGCCTGGAAAAAGTGATGATA
ATTCTAAGGCAATGTTGGGTCAACAATCTATGCCAAACAGACC
CAATTACATAGCTTTCAGGGACAATTTTATTGGCCTAATGTAT
TACAACAGCACTGGTAACATGGGTGTTCTTGCTGGTCAGGCAT
CACAGCTAAATGCTGTCGTAGATTTGCAAGACAGAAACACAGA
GCTGTCCTACCAACTTTTGCTTGATTCTATTGGTGATCGAACC
AGATACTTTTCCATGTGGAATCAGGCTGTAGACAGCTACGATC
CAGATGTTAGAATTATCGAGAACCATGGAACTGAGGATGAATT
GCCAAATTATTGTTTTCCTCTTGGCGGAATTGGGGTGACGGAC
ACCTATCAAGCTATTAAGGCTACAAATGGAAATGGAGGCGCCA
CTACCTGGGCTCAGGACAATACTTTTGCAGAACGAAATGAAAT
AGGGGTGGGAAATAACTTTGCCATGGAAATTAACCTGAATGCC
AACCTATGGAGAAATTTCCTTTACTCCAATATTGCGCTGTACC
TGCCAGACAAGCTAAAATACAACCCCACCAATGTGGAAATTTC
TGATAACCCAAACACCTACGACTACATGAACAAGCGAGTGGTG
GCTCCCGGGCTAGTGGACTGCTACATTAACCTTGGAGCACGCT
GGTCCCTTGACTATATGGACAACGTCAACCCATTTAACCACCA
CCGCAATGCTGGCCTGCGCTACCGCTCAATGTTGCTGGGCAAT
GGTCGCTATGTGCCCTTCCACATCCAGGTGCCTCAGAAGTTCT
TTGCCATTAAAAACCTCCTTCTCCTGCCGGGCTCATACACCTA
CGAGTGGAACTTCAGGAAGGATGTTAACATGGTTCTGCAGAGC
TCCCTAGGAAATGACCTAAGGGTTGACGGAGCCAGCATTAAGT
TTGATAGCATTTGCCTTTACGCCACCTTCTTCCCCATGGCCCA
CAACACCGCCTCCACGCTTGAGGCCATGCTTAGAAACGACACC
AACGACCAGTCCTTTAACGACTATCTCTCCGCCGCCAACATGC
TCTACCCTATACCCGCCAACGCTACCAACGTGCCCATATCCAT
CCCCTCCCGCAACTGGGCGGCTTTCCGCGGCTGGGCCTTCACG
CGCCTTAAGACTAAGGAAACCCCATCACTGGGCTCGGGCTACG
ACCCTTATTACACCTACTCTGGCTCTATACCCTACCTAGATGG

[0095]
AACCTTTTACCTCAACCACACCTTTAAGAAGGTGGCCATTACC
TTTGACTCTTCTGTCAGCTGGCCTGGCAATGACCGCCTGCTTA
CCCCCAACGAGTTTGAAATTAAGCGCTCAGTTGACGGGGAGGG
TTACAACGTTGCCCAGTGTAACATGACCAAAGACTGGTTCCTG
GTACAAATGCTAGCTAACTATAACATTGGCTACCAGGGCTTCT
ATATCCCAGAGAGCTACAAGGACCGCATGTACTCCTTCTTTAG
AAACTTCCAGCCCATGAGCCGTCAGGTGGTGGATGATACTAAA
TACAAGGACTACCAACAGGTGGGCATCCTACACCAACACAACA
ACTCTGGATTTGTTGGCTACCTTGCCCCCACCATGCGCGAAGG
ACAGGCCTACCCTGCTAACTTCCCCTATCCGCTTATAGGCAAG
ACCGCAGTTGACAGCATTACCCAGAAAAAGTTTCTTTGCGATC
GCACCCTTTGGCGCATCCCATTCTCCAGTAACTTTATGTCCAT
GGGCGCACTCACAGACCTGGGCCAAAACCTTCTCTACGCCAAC
TCCGCCCACGCGCTAGACATGACTTTTGAGGTGGATCCCATGG
ACGAGCCCACCCTTCTTTATGTTTTGTTTGAAGTCTTTGACGT
GGTCCGTGTGCACCAGCCGCACCGCGGCGTCATCGAAACCGTG
TACCTGCGCACGCCCTTCTCGGCCGGCAACGCCACAACATAA
(SEQ ID NO: 17)

[0096] SEQ ID NO:17是这种核酸分子的非限制性示例,并且由于密码子的简并特性,也可使用编码SEQ ID NO:18的其他核酸分子。

[0097] 在一些实施方案中,编码本文提供的Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽的任何核酸分子不包含在以下残基之处或之间的插入、缺失或取代:SEQ ID NO:1的位置166处的残基T和位置169处的残基F;SEQ ID NO:1的位置218处的残基H和位置220处的残基A;SEQ ID NO:1的位置267处的残基F和位置268处的残基S;SEQ ID NO:1的位置434处的残基G和位置435处的残基Q;以及/或者它们的任何组合。

[0098] 在一些实施方案中,载体包含本文提供的核酸分子中的任何核酸分子。在一些实施方案中,载体是包含编码例如异源多肽的转基因的腺病毒载体。在一些实施方案中,异源多肽是本文提供的多肽或多肽组合中的任一种多肽或多肽组合。在一些实施方案中,腺病毒载体还包含E1缺失和E3缺失中的至少一者。在一些实施方案中,提供了包含本文提供的载体中的任何载体的重组细胞。在一些实施方案中,提供了包含本文提供的载体中的任何载体的免疫原性组合物。

[0099] 在一些实施方案中,提供了包含来自Ad株Ad57的至少一个衣壳HVR多肽的重组Ad株Ad5六邻体多肽。在一些实施方案中,重组Ad株Ad5六邻体多肽包含来自Ad株Ad57的至少一个衣壳六邻体HVR多肽。在一些实施方案中,Ad株Ad5的该至少一个衣壳六邻体多肽包含来自本文提供的Ad株Ad57的一个或多个衣壳六邻体HVR多肽。在一些实施方案中,Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽包含来自Ad株Ad57的一个或多个衣壳六邻体HVR多肽或者本文提供的插入或缺失中的任一者。在一些实施方案中,SEQ ID NO:1或本领域已知的任何Ad5六邻体序列可通过以下方式来修饰:用本文所述的SEQ ID NO:4、8、10、12、14或16中的一者或多者替换一个或多个氨基酸序列;以下的一个或多个插入:在SEQ ID NO:1位置156和157之间插入序列EQ,在SEQ ID NO:1位置187和188之间插入SEQ ID NO:5,在SEQ ID NO:1位置438和439之间插入序列TT,在SEQ ID NO:1位置438和439之间插入序列GATT;以下的一个或多个缺失:在SEQ ID NO:1位置252处缺失氨基酸K,在SEQ ID NO:1位置435和436处缺失氨基酸QE,以及在SEQ ID NO:1位置445处缺失氨基酸E;以及/或者本文提供的替换、插入或缺失的任

何组合。在一些实施方案中,腺病毒包含SEQ ID NO:2的六邻体多肽,不同的是与SEQ ID NO:2相比,位置864处的残基是D并且/或者位置937处的残基是R。在一些实施方案中,腺病毒包含SEQ ID NO:2的六邻体多肽,不同的是与SEQ ID NO:2相比,位置864处的残基是D并且位置937处的残基是R。在一些实施方案中,重组Ad株Ad5六邻体多肽包含SEQ ID NO:18。

[0100] 在一些实施方案中,本文提供的任何重组多肽不包含在以下残基之处或之间的插入、缺失或取代:SEQ ID NO:1的位置166处的残基T和位置169处的残基F;SEQ ID NO:1的位置218处的残基H和位置220处的残基A;SEQ ID NO:1的位置267处的残基F和位置268处的残基S;SEQ ID NO:1的位置434处的残基G和位置435处的残基Q;以及/或者它们的任何组合。

[0101] 在一些实施方案中,提供了包含本文提供的多肽或重组多肽中的任何多肽或重组多肽的病毒颗粒。在一些实施方案中,病毒颗粒是腺病毒颗粒。在一些实施方案中,病毒颗粒还包含编码转基因或异源蛋白的多核苷酸。

[0102] 在一些实施方案中,提供了包含本文提供的多肽或重组Ad中的任何多肽或重组Ad的药物组合物。在一些实施方案中,药物组合物包含本文提供的任何重组Ad或多肽以及药学上可接受的载体。药学上可接受的载体是本领域已知的,并且可包含悬浮剂、缓冲剂或其他药学上可接受的乳剂、溶液、混悬剂、糖浆和稀释剂。在一些实施方案中,药学上可接受的载体是水。

[0103] 在一些实施方案中,与肝相比,本文提供的任何重组Ad在脾中的转导增加。在一些实施方案中,与肝相比,与包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的六邻体多肽的重组Ad相比,本文提供的重组Ad在脾中的转导增加。

[0104] 在一些实施方案中,本文提供的任何重组Ad具有提高的肝安全特性。在一些实施方案中,提高的肝安全特性是与包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的六邻体多肽的重组Ad相比的。在一些实施方案中,本文提供的任何重组Ad不显著升高肝酶。在一些实施方案中,肝酶是ALT和AST。

[0105] 方法

[0106] 在一些实施方案中,提供了产生载体的方法,该方法包括:(a)在产生载体的条件下,培养重组细胞;以及(b)从重组细胞中分离载体。在一些实施方案中,重组细胞是如本领域众所周知的细胞系、混合细胞系、永生化细胞或永生化细胞的无性系群体。选择用于表达的重组细胞可以是哺乳动物来源的或者可以选自COS-1、COS-7、HEK293、911、BHK21、CHO、BSC-1、He G2、SP2/0、HeLa、LP293、AE1-2a、N52.E6、PERC.6、A549、使用重组酶系统的高容量Ad载体生产细胞系、E2T、C7、骨髓瘤、淋巴瘤、酵母、昆虫或植物细胞,或它们的任何衍生的、永生化的或转化的细胞。在一些实施方案中,重组细胞具有有益于产生载体的特定修饰。

[0107] 在一些实施方案中,提供了诱导有需要的受试者的免疫应答的方法,该方法包括向受试者施用免疫原性组合物。在一些实施方案中,免疫原性组合物是本文提供的任何免疫原性组合物,诸如包含本文提供的六邻体多肽的重组Ad。

[0108] 在一些实施方案中,提供了治疗或预防病毒感染的方法,该方法包括施用重组Ad,其中重组Ad表达异源病毒蛋白。在一些实施方案中,重组Ad是本文提供的任何重组Ad。在一些实施方案中,由重组Ad表达的异源病毒蛋白是本文提供的任何重组Ad。在一些实施方案中,异源病毒蛋白来自HBV、HPV、EBV、CMV、HTLV或多瘤病毒蛋白。在一些实施方案中,与肝相比,重组Ad在脾中的转导增加。在一些实施方案中,与肝相比,与包含具有SEQ ID NO:1的氨

基酸序列的六邻体多肽的重组Ad相比,重组Ad在脾中的转导增加。在一些实施方案中,与包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的六邻体多肽的重组Ad相比,当施用于受试者时,包含六邻体多肽的重组Ad不增加肝酶。

[0109] 在一些实施方案中,提供了治疗癌症的方法,该方法包括施用本文提供的任何重组腺病毒。在一些实施方案中,该方法包括施用本文提供的任何重组腺病毒,其中重组Ad表达细胞因子、免疫调节蛋白和/或肿瘤抗原。在一些实施方案中,与肝相比,重组Ad在脾中的转导增加。在一些实施方案中,与肝相比,与包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的六邻体多肽的重组Ad相比,重组Ad在脾中的转导增加。在一些实施方案中,与包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的六邻体多肽的重组Ad相比,当施用于受试者时,包含六邻体多肽的重组Ad不增加肝酶。

[0110] 列举的实施方案

[0111] 本文提供的实施方案还包括但不限于以下实施方案:

[0112] 1.一种重组腺病毒(Ad),其中Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽包含来自Ad株Ad57的至少一个衣壳六邻体高变区(HVR)多肽。

[0113] 2.根据实施方案1所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的多肽的变体,其中变体包含:

[0114] i)SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的氨基酸序列或它们的任何组合;

[0115] ii)以下的一个或多个插入:

[0116] 在SEQ ID NO:1的位置156和157之间的EQ(Glu-Gln)的多肽的插入,

[0117] 在SEQ ID NO:1的位置187和188之间的包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的多肽的插入,

[0118] 在SEQ ID NO:1的位置438和439之间的TT(Thr-Thr)的多肽的插入,或

[0119] 在SEQ ID NO:1的位置438和439之间的GATT(Gly-Ala-Thr-Thr;SEQ ID NO:6)的多肽的插入;

[0120] iii)以下的一个或多个缺失:

[0121] SEQ ID NO:1的K252的缺失,

[0122] SEQ ID NO:1的多肽Q435E436的缺失,或

[0123] SEQ ID NO:1的E445的缺失;或者

[0124] 上述的替换、插入和缺失的任何组合。

[0125] 3.根据实施方案1或2所述的重组Ad,其中在包含AATALEINLE的氨基酸序列(SEQ ID NO:3)的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:3被DDTQVQVAAE的氨基酸序列(SEQ ID NO:4)替换。

[0126] 4.根据实施方案1至3中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置156处的残基E(Glu)和位置157处的残基V(Val)之间的EQ的多肽。

[0127] 5.根据实施方案1至4中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置166处的残基T(Thr)和位置169处的残基F(Phe)之处或之间的插入、缺失或取代。

[0128] 6.根据实施方案1至5中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在

SEQ ID NO:1的位置187处的残基G(Gly)和位置188处的残基V(Val)之间的包含TNGAA的氨基酸序列(SEQ ID NO:5)的多肽的插入。

[0129] 7.根据实施方案1至6中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置218处的残基H(His)和位置220处的残基A(Ala)之处或之间的插入、缺失或取代。

[0130] 8.根据实施方案1至7中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置252处的残基K(Lys)的缺失。

[0131] 9.根据实施方案1至8中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置267处的残基F(Phe)和位置268处的残基S(Ser)之处或之间的插入、缺失或取代。

[0132] 10.根据实施方案1至9中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置434处的残基G(Gly)和位置435处的残基Q(Gln)之处或之间的插入、缺失或取代。

[0133] 11.根据实施方案1至10中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置435和436处的残基QE的缺失。

[0134] 12.根据实施方案1至11中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置438处的残基G和位置439处的残基W(Trp)之间的包含TT的序列的多肽的插入。

[0135] 13.根据实施方案1至12中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置438处的残基G和位置439处的残基W之间的包含GATT的氨基酸序列(SEQ ID NO:6)的多肽的插入。

[0136] 14.根据实施方案1至12中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置445处的残基E的缺失。

[0137] 15.根据实施方案1至14中任一项所述的重组Ad,其中在包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:7的氨基酸序列被SEQ ID NO:8的氨基酸序列替换。

[0138] 16.根据实施方案1至15中任一项所述的重组Ad,其中在包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:9的氨基酸序列被SEQ ID NO:10的氨基酸序列替换。

[0139] 17.根据实施方案1至16中任一项所述的重组Ad,其中在包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:11的氨基酸序列被SEQ ID NO:12的氨基酸序列替换。

[0140] 18.根据实施方案1至17中任一项所述的重组Ad,其中在包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:13的氨基酸序列被SEQ ID NO:14的氨基酸序列替换。

[0141] 19.根据实施方案1至18中任一项所述的重组Ad,其中在包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:15的氨基酸序列被SEQ ID NO:16的氨基酸序列替换。

[0142] 20.根据实施方案1至19中任一项所述的重组Ad,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含

SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:18的氨基酸序列的变体,其中与SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:18相比,变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

[0143] 21.根据实施方案1所述的重组Ad,其中六邻体多肽包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0144] 22.根据实施方案1至20中任一项所述的重组Ad,其中六邻体多肽包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的多肽的变体。

[0145] 23.根据实施方案22所述的重组Ad,其中变体六邻体多肽包含与SEQ ID NO:18的氨基酸序列至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0146] 24.根据实施方案22所述的重组Ad,其中变体六邻体多肽包含与SEQ ID NO:18的氨基酸序列至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列,前提条件是变体包含:

[0147] SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:16的氨基酸序列;或者

[0148] 变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

[0149] 25.根据实施方案22所述的重组Ad,其中与SEQ ID NO:18的氨基酸序列相比,变体六邻体多肽包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个突变(例如,取代、插入或缺失),前提条件是变体包含:

[0150] SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:16的氨基酸序列;或者

[0151] 变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

[0152] 26.根据实施方案22至25中任一项所述的重组Ad,其中与肝相比,变体六邻体多肽在脾中的转导增加。

[0153] 27.根据实施方案22至25中任一项所述的重组Ad,其中与肝相比,与包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的六邻体多肽的重组Ad相比,变体六邻体多肽在脾中的转导增加。

[0154] 28.根据实施方案22至25中任一项所述的重组Ad,其中与包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的六邻体多肽的重组Ad相比,当施用于受试者时,变体六邻体多肽不增加肝酶。

[0155] 29.根据实施方案1至28中任一项所述的重组Ad,还包含编码异源蛋白的多核苷酸。

[0156] 30.根据实施方案29所述的重组Ad,其中异源蛋白是细胞因子、免疫球蛋白、免疫调节蛋白、病毒蛋白、患者特异性新表位或它们的任何组合。

[0157] 31.根据实施方案30所述的重组Ad,其中病毒蛋白来自HBV、HPV、EBV、CMV、HTLV、多瘤病毒或它们的任何组合。

[0158] 32.根据实施方案30或31所述的重组Ad,其中免疫调节蛋白来自B7家族。

[0159] 33.根据实施方案32所述的重组Ad,其中免疫调节蛋白为B7.1或B7.2。

[0160] 34.根据实施方案32和33所述的重组Ad,其中来自B7家族的免疫调节蛋白与来自免疫球蛋白的结构域融合。

[0161] 35.根据实施方案30至34所述的重组Ad,其中患者特异性新表位是来源于患者的体细胞肿瘤突变的肿瘤特异性抗原。

[0162] 36.根据实施方案1至35中任一项所述的重组Ad,还包含靶向部分。

[0163] 37.根据实施方案36所述的重组Ad,其中靶向部分是将Ad靶向碳水化合物、细胞膜和细胞的部分,该细胞选自肌细胞、肿瘤、癌细胞、肾细胞、肝细胞或粘膜细胞。

[0164] 38.根据实施方案1至37中任一项所述的重组Ad,其中腺病毒有复制能力或是条件复制型腺病毒(CRAd),该CARd包含编码E1A多肽的修饰的E1A基因,其中相对于Ad株的野生型E1A多肽,CRAd在E1A多肽中表现出氨基酸取代。

[0165] 39.一种核酸分子,该核酸分子编码包含来自Ad株Ad57的至少一个衣壳六邻体HVR多肽的Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽。

[0166] 40.根据实施方案39所述的核酸分子,其中Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的多肽的变体,其中变体包含:

[0167] i)SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的氨基酸序列或它们的任何组合;

[0168] ii)以下的一个或多个插入:

[0169] 在SEQ ID NO:1的位置156和157之间的EQ(Glu-Gln)的多肽的插入,

[0170] 在SEQ ID NO:1的位置187和188之间的包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的多肽的插入,

[0171] 在SEQ ID NO:1的位置438和439之间的TT(Thr-Thr)的多肽的插入,或

[0172] 在SEQ ID NO:1的位置438和439之间的GATT(Gly-Ala-Thr-Thr;SEQ ID NO:6)的多肽的插入;

[0173] iii)以下的一个或多个缺失:

[0174] SEQ ID NO:1的K252的缺失,

[0175] SEQ ID NO:1的多肽Q435E436的缺失,或

[0176] SEQ ID NO:1的E445的缺失;或者

[0177] 上述的替换、插入和缺失的任何组合。

[0178] 41.根据实施方案39或40所述的核酸分子,其中在包含AATALEINLE的氨基酸序列(SEQ ID NO:3)的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:3被DDTQVQVAAE的氨基酸序列(SEQ ID NO:4)替换。

[0179] 42.根据实施方案39至41所述的核酸分子,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置156处的残基E(Glu)和位置157处的残基V(Val)之间的EQ的多肽。

[0180] 43.根据实施方案39至42中任一项所述的核酸分子,其中Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置166处的残基T(Thr)和位置169处的残基F(Phe)之处或之间的插入、缺失或取代。

[0181] 44.根据实施方案39至44中任一项所述的核酸分子,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置187处的残基G(Gly)和位置188处的残基V(Val)之间的包含TNGAA的氨基酸序列(SEQ ID NO:5)的多肽的插入。

[0182] 45.根据实施方案39至44中任一项所述的核酸分子,其中Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置218处的残基H(His)和位置220处的残基A(Ala)之处或之间的插入、缺失或取代。

[0183] 46.根据实施方案39至45中任一项所述的核酸分子,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包

含在SEQ ID NO:1的位置252处的残基K(Lys)的缺失。

[0184] 47.根据实施方案39至46中任一项所述的核酸分子,其中Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置267处的残基F(Phe)和位置268处的残基S(Ser)之处或之间的插入、缺失或取代。

[0185] 48.根据实施方案39至47中任一项所述的核酸分子,其中Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置434处的残基G(Gly)和位置435处的残基Q(Gln)之处或之间的插入、缺失或取代。

[0186] 49.根据实施方案39至48中任一项所述的核酸分子,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置435和436处的残基QE的缺失。

[0187] 50.根据实施方案39至49中任一项所述的核酸分子,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置438处的残基G和位置439处的残基W(Trp)之间的包含TT的序列的多肽的插入。

[0188] 51.根据实施方案39至50中任一项所述的核酸分子,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置438处的残基G和位置439处的残基W之间的包含GATT的氨基酸序列(SEQ ID NO:6)的多肽的插入。

[0189] 52.根据实施方案39至51中任一项所述的核酸分子,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置445处的残基E的缺失。

[0190] 53.根据实施方案39至52中任一项所述的核酸分子,其中在包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:7的氨基酸序列被SEQ ID NO:8的氨基酸序列替换。

[0191] 54.根据实施方案39至53中任一项所述的核酸分子,其中在包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:9的氨基酸序列被SEQ ID NO:10的氨基酸序列替换。

[0192] 55.根据实施方案39至54中任一项所述的核酸分子,其中在包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:11的氨基酸序列被SEQ ID NO:12的氨基酸序列替换。

[0193] 56.根据实施方案39至55中任一项所述的核酸分子,其中在包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:13的氨基酸序列被SEQ ID NO:14的氨基酸序列替换。

[0194] 57.根据实施方案39至56中任一项所述的核酸分子,其中在包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:15的氨基酸序列被SEQ ID NO:16的氨基酸序列替换。

[0195] 58.根据实施方案39至57中任一项中任一项所述的核酸分子,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:18的氨基酸序列的变体,其中与SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:18相比,变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

[0196] 59.根据实施方案39至58中任一项所述的核酸分子,其中核酸分子包含SEQ ID NO:17的序列。

[0197] 60.根据实施方案39至59中任一项所述的核酸分子,其中核酸分子编码包含SEQ

ID NO:18的氨基酸序列的六邻体多肽的变体。

[0198] 61.根据实施方案60所述的核酸分子,其中变体六邻体多肽包含与SEQ ID NO:18的氨基酸序列至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列。

[0199] 62.根据实施方案60所述的核酸分子,其中变体六邻体多肽包含与SEQ ID NO:18的氨基酸序列至少75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或99%相同的氨基酸序列,前提条件是变体包含:

[0200] SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:16的氨基酸序列;或者

[0201] 变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

[0202] 63.根据实施方案60所述的核酸分子,其中与SEQ ID NO:18的氨基酸序列相比,变体六邻体多肽包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个突变(例如,取代、插入或缺失),前提条件是变体包含:

[0203] SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:16的氨基酸序列;或者

[0204] 变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

[0205] 64.根据实施方案60至63中任一项所述的核酸分子,其中与肝相比,变体六邻体多肽在脾中的转导增加。

[0206] 65.根据实施方案60至64中任一项所述的核酸分子,其中与肝相比,与包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的六邻体多肽的重组Ad相比,变体六邻体多肽在脾中的转导增加。

[0207] 66.根据实施方案60至64中任一项所述的核酸分子,其中与包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的六邻体多肽的重组Ad相比,当施用于受试者时,变体六邻体多肽不增加肝酶。

[0208] 67.一种载体,该载体包含根据实施方案39至66中任一项中任一项所述的核酸分子。

[0209] 68.根据实施方案67所述的载体,其中载体是包含编码例如异源多肽的转基因的Ad载体。

[0210] 69.根据实施方案68所述的载体,其中Ad载体还包含E1缺失和E3缺失中的至少一者。

[0211] 70.一种重组细胞,该重组细胞包含根据实施方案67至69中任一项所述的载体。

[0212] 71.一种产生载体的方法,该方法包括:(a)在产生载体的条件下,培养根据实施方案70所述的重组细胞;以及(b)从重组细胞中分离载体。

[0213] 72.一种免疫原性组合物,该免疫原性组合物包含根据实施方案67至69中任一项所述的载体。

[0214] 73.一种诱导有需要的受试者的免疫应答的方法,该方法包括向受试者施用根据实施方案72所述的免疫原性组合物。

[0215] 74.根据实施方案73所述的方法,其中在不显著增加受试者中的肝酶的情况下诱导免疫应答。

[0216] 75.根据实施方案74所述的方法,其中与包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的六邻体多肽的载体相比,在不显著增加受试者中的肝酶的情况下诱导免疫应答。

[0217] 76.根据实施方案73至75中任一项所述的方法,其中组合物经皮下或静脉内施用。

[0218] 77.一种重组Ad株Ad5六邻体多肽,该重组Ad株Ad5六邻体多肽包含来自Ad株Ad57的至少一个衣壳六邻体高变区(HVR)多肽。

[0219] 78.根据实施方案77所述的重组六邻体多肽,其中Ad株Ad5的衣壳六邻体多肽包含含有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的多肽的变体,其中变体包含:

[0220] i)SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14或SEQ ID NO:16的氨基酸序列或它们的任何组合;

[0221] ii)以下的一个或多个插入:

[0222] 在SEQ ID NO:1的位置156和157之间的EQ(Glu-Gln)的多肽的插入,

[0223] 在SEQ ID NO:1的位置187和188之间的包含氨基酸序列SEQ ID NO:5的多肽的插入,

[0224] 在SEQ ID NO:1的位置438和439之间的TT(Thr-Thr)的多肽的插入,或

[0225] 在SEQ ID NO:1的位置438和439之间的GATT(Gly-Ala-Thr-Thr;SEQ ID NO:6)的多肽的插入;

[0226] iii)以下的一个或多个缺失:

[0227] SEQ ID NO:1的K252的缺失,

[0228] SEQ ID NO:1的多肽Q435E436的缺失,或

[0229] SEQ ID NO:1的E445的缺失;或者

[0230] 上述的替换、插入和缺失的任何组合。

[0231] 79.根据实施方案77或78所述的重组六邻体多肽,其中在包含AATALEINLE的氨基酸序列(SEQ ID NO:3)的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:3被DDTQVQVAAE的氨基酸序列(SEQ ID NO:4)替换。

[0232] 80.根据实施方案77至79中任一项所述的重组六邻体多肽,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置156处的残基E(Glu)和位置157处的残基V(Val)之间的EQ的多肽。

[0233] 81.根据实施方案77至80中任一项所述的重组六邻体多肽,其中Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置166处的残基T(Thr)和位置169处的残基F(Phe)之处或之间的插入、缺失或取代。

[0234] 82.根据实施方案77至81中任一项所述的重组六邻体多肽,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置187处的残基G(Gly)和位置188处的残基V(Val)之间的包含TNGAA的氨基酸序列(SEQ ID NO:5)的多肽的插入。

[0235] 83.根据实施方案77至82中任一项所述的重组六邻体多肽,其中Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置218处的残基H(His)和位置220处的残基A(Ala)之处或之间的插入、缺失或取代。

[0236] 84.根据实施方案77至83中任一项所述的重组六邻体多肽,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置252处的残基K(Lys)的缺失。

[0237] 85.根据实施方案77至84中任一项所述的重组六邻体多肽,其中Ad株Ad5的六邻体

多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置267处的残基F(Phe)和位置268处的残基S(Ser)之处或之间的插入、缺失或取代。

[0238] 86.根据实施方案77至85中任一项所述的重组六邻体多肽,其中Ad株Ad5的六邻体多肽不包含在SEQ ID NO:1的位置434处的残基G(Gly)和位置435处的残基Q(Gln)之处或之间的插入、缺失或取代。

[0239] 87.根据实施方案77至86中任一项所述的重组六邻体多肽,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置435和436处的残基QE的缺失。

[0240] 88.根据实施方案77至87中任一项所述的重组六邻体多肽,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置438处的残基G和位置439处的残基W(Trp)之间的包含TT的序列的多肽的插入。

[0241] 89.根据实施方案77至88中任一项所述的重组六邻体多肽,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置438处的残基G和位置439处的残基W之间的包含GATT的氨基酸序列(SEQ ID NO:6)的多肽的插入。

[0242] 90.根据实施方案77至89中任一项所述的重组六邻体多肽,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含在SEQ ID NO:1的位置445处的残基E的缺失。

[0243] 91.根据实施方案77至90中任一项所述的重组六邻体多肽,其中在包含SEQ ID NO:7的氨基酸序列的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:7的氨基酸序列被SEQ ID NO:8的氨基酸序列替换。

[0244] 92.根据实施方案77至91中任一项所述的重组六邻体多肽,其中在包含SEQ ID NO:9的氨基酸序列的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:9的氨基酸序列被SEQ ID NO:10的氨基酸序列替换。

[0245] 93.根据实施方案77至92中任一项所述的重组六邻体多肽,其中在包含SEQ ID NO:11的氨基酸序列的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:11的氨基酸序列被SEQ ID NO:12的氨基酸序列替换。

[0246] 94.根据实施方案77至93中任一项所述的重组六邻体多肽,其中在包含SEQ ID NO:13的氨基酸序列的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:13的氨基酸序列被SEQ ID NO:14的氨基酸序列替换。

[0247] 95.根据实施方案77至94中任一项所述的重组六邻体多肽,其中在包含SEQ ID NO:15的氨基酸序列的Ad株Ad5的六邻体多肽中,SEQ ID NO:15的氨基酸序列被SEQ ID NO:16的氨基酸序列替换。

[0248] 96.根据实施方案77至95中任一项所述的重组六邻体多肽,其中Ad株Ad5的六邻体多肽包含SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:18的氨基酸序列的变体,其中与SEQ ID NO:2或SEQ ID NO:18相比,变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

[0249] 97.根据实施方案77所述的重组六邻体多肽,其中六邻体多肽包含SEQ ID NO:18的氨基酸序列。

[0250] 98.根据实施方案77至96中任一项所述的重组六邻体多肽,其中六邻体多肽包含含有SEQ ID NO:18的氨基酸序列的多肽的变体。

[0251] 99.根据实施方案98所述的重组六邻体多肽,其中变体六邻体多肽包含与SEQ ID

NO:18的氨基酸序列至少75％、80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％相同的氨基酸序列。

[0252] 100.根据实施方案98所述的重组六邻体多肽,其中变体六邻体多肽包含与SEQ ID NO:18的氨基酸序列至少75％、80％、85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％或99％相同的氨基酸序列,前提条件是变体包含:

[0253] SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:16的氨基酸序列;或者

[0254] 变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

[0255] 101.根据实施方案98所述的重组六邻体多肽,其中与SEQ ID NO:18的氨基酸序列相比,变体六邻体多肽包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个突变(例如,取代、插入或缺失),前提条件是变体包含:

[0256] SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14和SEQ ID NO:16的氨基酸序列;或者

[0257] 变体包含在位置864处的天冬氨酸(D)残基和/或在位置937处的精氨酸(R)残基。

[0258] 102.根据实施方案98至101中任一项所述的重组六邻体多肽,其中与肝相比,变体六邻体多肽在脾中的转导增加。

[0259] 103.根据实施方案98至102中任一项所述的重组六邻体多肽,其中与肝相比,与包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的六邻体多肽的重组Ad相比,变体六邻体多肽在脾中的转导增加。

[0260] 104.根据实施方案98至103中任一项所述的重组六邻体多肽,其中与包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的六邻体多肽的重组Ad相比,当施用于受试者时,变体六邻体多肽不增加肝酶。

[0261] 105.一种病毒颗粒,该病毒颗粒包含根据实施方案77至104中任一项所述的六邻体多肽。

[0262] 106.根据实施方案105所述的病毒颗粒,其中病毒颗粒是Ad颗粒。

[0263] 107.根据实施方案105或106所述的病毒颗粒,还包含编码转基因或异源蛋白的多核苷酸。

[0264] 108.一种药物组合物,该药物组合物包含实施方案77至104中任一项所述的六邻体多肽或根据实施方案105至107中任一项所述的颗粒。

[0265] 109.一种治疗病毒感染的方法,该方法包括施用根据实施方案77至104中任一项所述的重组六邻体多肽、根据实施方案105至107所述的病毒颗粒或根据实施方案108所述的药物组合物。

[0266] 110.根据实施方案109所述的方法,其中当施用病毒颗粒时,病毒颗粒表达异源病毒蛋白。

[0267] 111.根据实施方案110所述的方法,其中异源病毒蛋白来自HBV、HPV、EBV、CMV、HTLV或多瘤病毒蛋白。

[0268] 112.根据实施方案110或111所述的方法,其中与肝相比,病毒颗粒在脾中的转导增加。

[0269] 113.根据实施方案110至112所述的方法,其中与肝相比,与包含具有SEQ ID NO:1

的氨基酸序列的六邻体多肽的重组Ad相比,病毒颗粒在脾中的转导增加。

[0270] 113.一种治疗癌症的方法,该方法包括施用根据实施方案77至104中任一项所述的重组六邻体多肽、根据实施方案105至107所述的病毒颗粒或根据实施方案108所述的药物组合物。

[0271] 114.根据实施方案113所述的方法,其中当施用病毒颗粒时,病毒颗粒表达细胞因子、免疫调节蛋白和/或肿瘤抗原。

[0272] 115.根据实施方案114所述的方法,其中与肝相比,病毒颗粒在脾中的转导增加。

[0273] 116.根据实施方案114或115所述的方法,其中与肝相比,与包含具有SEQ ID NO:1的氨基酸序列的六邻体多肽的重组Ad相比,病毒颗粒在脾中的转导增加。

[0274] 实施例

[0275] 以下实施例是例示性的,而非限制本文所述的化合物、组合物和方法。本领域技术人员已知的其他合适的修改和变化在以下实施方案的范围内。

[0276] 实施例1:包含Ad5/Ad57嵌合六邻体多肽的重组Ad的产生。

[0277] 将编码包含SEQ ID NO:18的六邻体多肽的核酸分子转导到HEK293细胞中以产生包含嵌合六邻体多肽的腺病毒。还产生包含编码HBV多表位的转基因的重组Ad。

[0278] 实施例2:重组Ad引起稳健的抗原特异性T细胞反应性和富集。

[0279] 为了检验疗效,将编码包含SEQ ID NO:18的六邻体多肽的重组Ad5(“SynBAd”)与包含野生型六邻体多肽的Ad5病毒(“SBI Ad5”)进行比较。首先,为了测试靶特异性,将两种病毒装载编码萤光素酶作为报告基因的构建体,并在第0天静脉内施用于不同组的C57BL/6小鼠,随后在第21天第二次施用。在开始研究前使动物适应环境最少3天,并以12:12光/暗循环圈养在微隔离器中。用标准的啮齿动物普通饲料饮食饲养动物,水和食物不限量提供。在第28天收获的器官显示,两种病毒均特异性地靶向肝,并且不以任何可检测的程度靶向脑、心脏、肺、胰腺、肾、胃或结肠。另外,组织病理学证实,两种病毒均成功地靶向肝和脾,其中SBI Ad5在肝中显示更高的转导和萤光素酶表达,并且SynBAd在脾中显示更高的转导和萤光素酶表达(参见图1)。

[0280] 实施例3:SynBAd引起稳健的脾抗原特异性T细胞反应性和效应记忆T细胞富集。

[0281] 如图2所示,发现SBI Ad5和SynBAd两者均产生大量的来自脾的IFN-γSFC/10^6个脾细胞。如上所述,在第0天和第21天向动物受试者施用病毒,在第28天收集并分析。令人惊讶的是,当两者均皮下施用时,与SynBAd相比,SBI Ad5病毒具有更高的水平,而当构建体静脉内施用时,SynBAd产生显著更高的水平。当与抗原(卵清蛋白,图3)一起施用时,两种病毒均引起免疫细胞的强CD8阳性百分比。出乎意料地,与SBI Ad5相比,SynBAd病毒表现出改善的肝安全性,因为ALT或AST肝酶在SynBAd施用后未增加,这与肝酶水平显著升高的SBI Ad5不同(图4)。因此,SynBAd构建体出乎意料地对肝没有显著的负面影响。

[0282] 实施例4:SynBAd刺激稳健的Th1型抗原特异性T细胞应答。

[0283] 使用四组:假手术对照组、SBI Ad5与卵清蛋白(OVA)抗原组、SynBAd与卵清蛋白组以及卵清蛋白加上助剂组,动物施用和组织收集如上所述,但仅采用皮下注射。图5示出,SynBAd组显示出和大量的IFN-γSFC/10^6个脾细胞。图6示出,该效果是特异性的,因为使用相同4组时不存在对应的IL-4活性。另外,图7示出,与假手术对照组和抗原加上助剂组相比,SBI Ad5组和SynBAd组均具有相似水平的多聚体阳性T细胞(MHCI)。

[0284] 总之,实施例2至4中的数据显示,SynBAd引起稳健的抗原特异性T细胞反应性和富集,但是令人惊讶和出乎意料的结果是,相比于肝,SynBAd构建体对脾具有更强的趋向性(偏好),并且SynBAd构建体不产生明显的肝影响,在施用后肝酶在正常范围内,这与具有野生型六邻体多肽的构建体相反。

[0285] 免疫学测定方法

[0286] 单细胞悬浮液的分离:在第29天从免疫小鼠收获感兴趣的器官。通过机械破碎和差速离心从脾和肝中分离单细胞悬浮液。

[0287] 流式细胞术测定:使用流式细胞术和针对CD3、CD4、CD8和NK1.1的抗体鉴定免疫细胞群体。用针对CD44和CD62L的抗体鉴定记忆和效应T细胞群体。

[0288] ELISpot:通过ELISpot评估来自抗原特异性T细胞的功能性应答。简言之,将单细胞悬浮液与卵清蛋白肽共培养过夜。使用细胞因子特异性抗体对细胞因子(IFN-γ和IL-4)分泌细胞计数。

[0289] 实施例5:HBV诱导的癌症的治疗。

[0290] 将重组Ad施用于患有HBV诱导的肝癌的患者,该重组Ad包含编码根据实施例1产生的包含SEQ ID NO:18的六邻体多肽或本文提供的变体的HBV多表位的转基因。重组Ad以提高的转导效率转导肝,并治疗癌症。

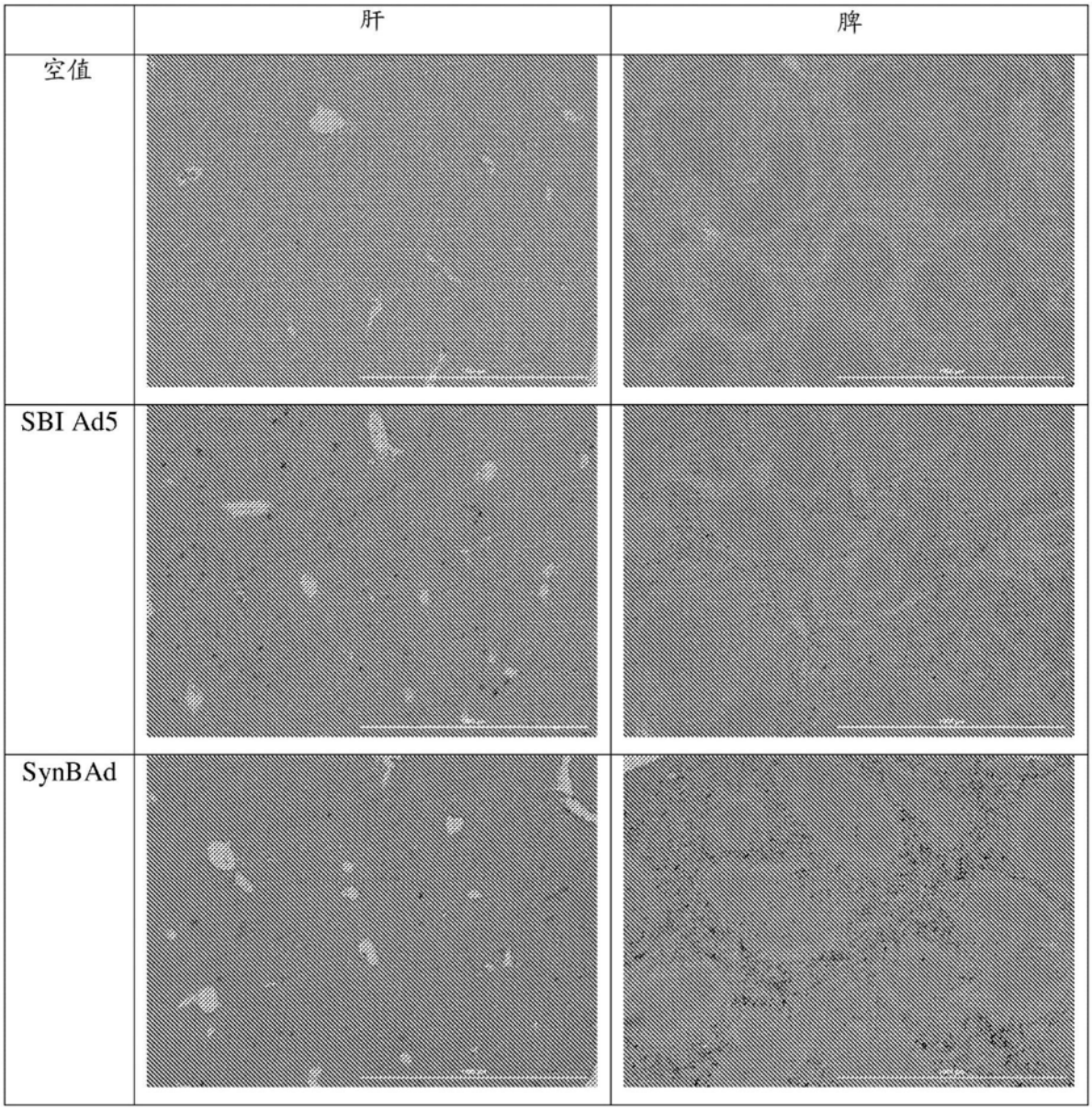


图1

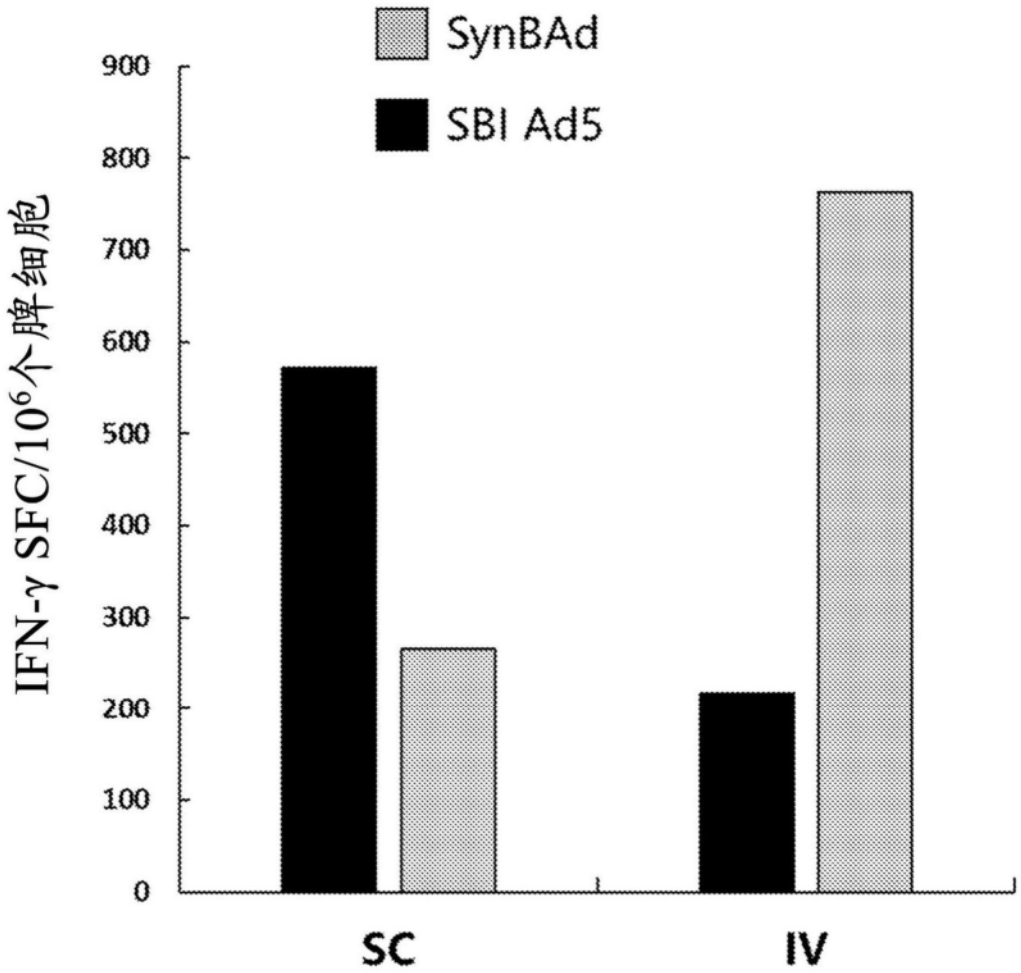

SynBAd
SBI Ad5
IFN-γ SFC/10^6个脾细胞
900
800
700
600
500
400
300
200
100
0
SC
IV

图2

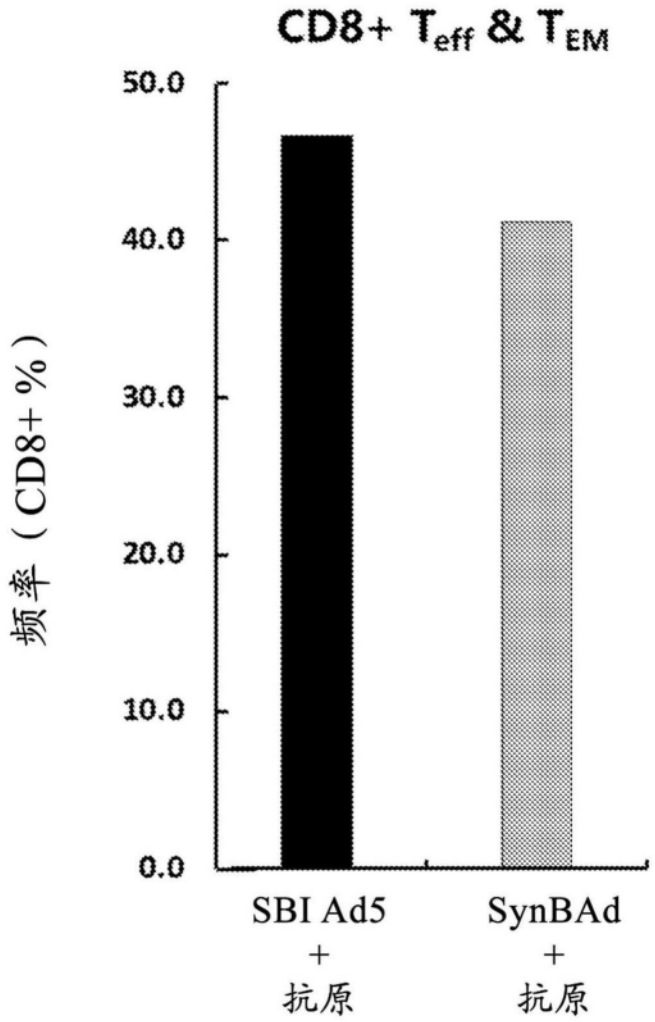

CD8+ Teff & TEM
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
频率（CD8+ %）
SBI Ad5 + 抗原
SynBAd + 抗原

图3

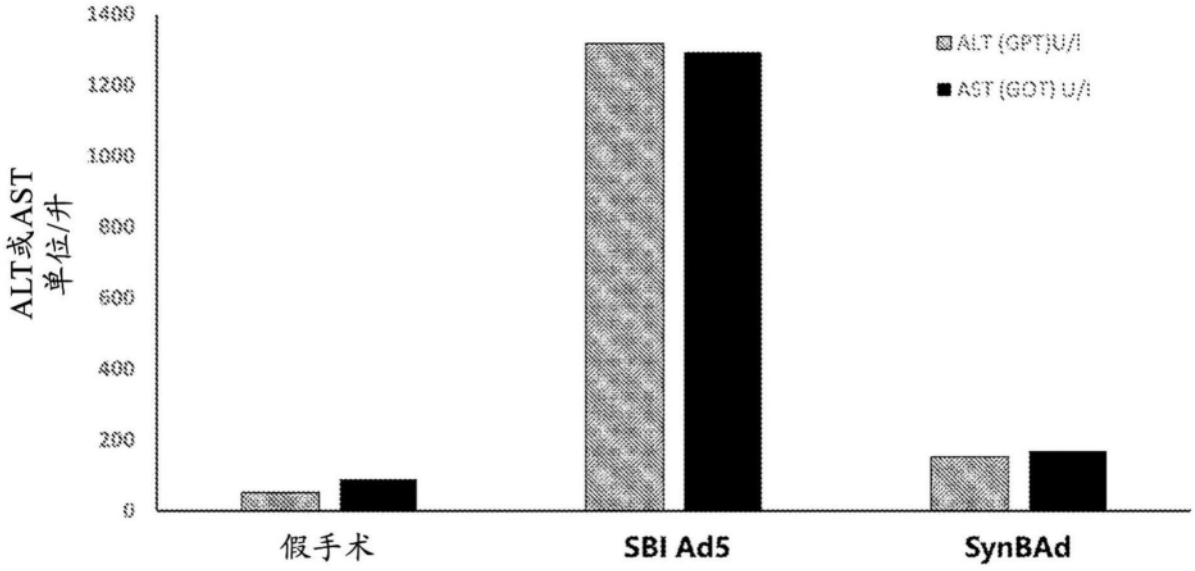

1400
1200
1000
800
600
400
200
0
ALT或AST 单位/升
ALT (GPT)U/l
AST (GOT) U/l
假手术
SBI Ad5
SynBAd

图4

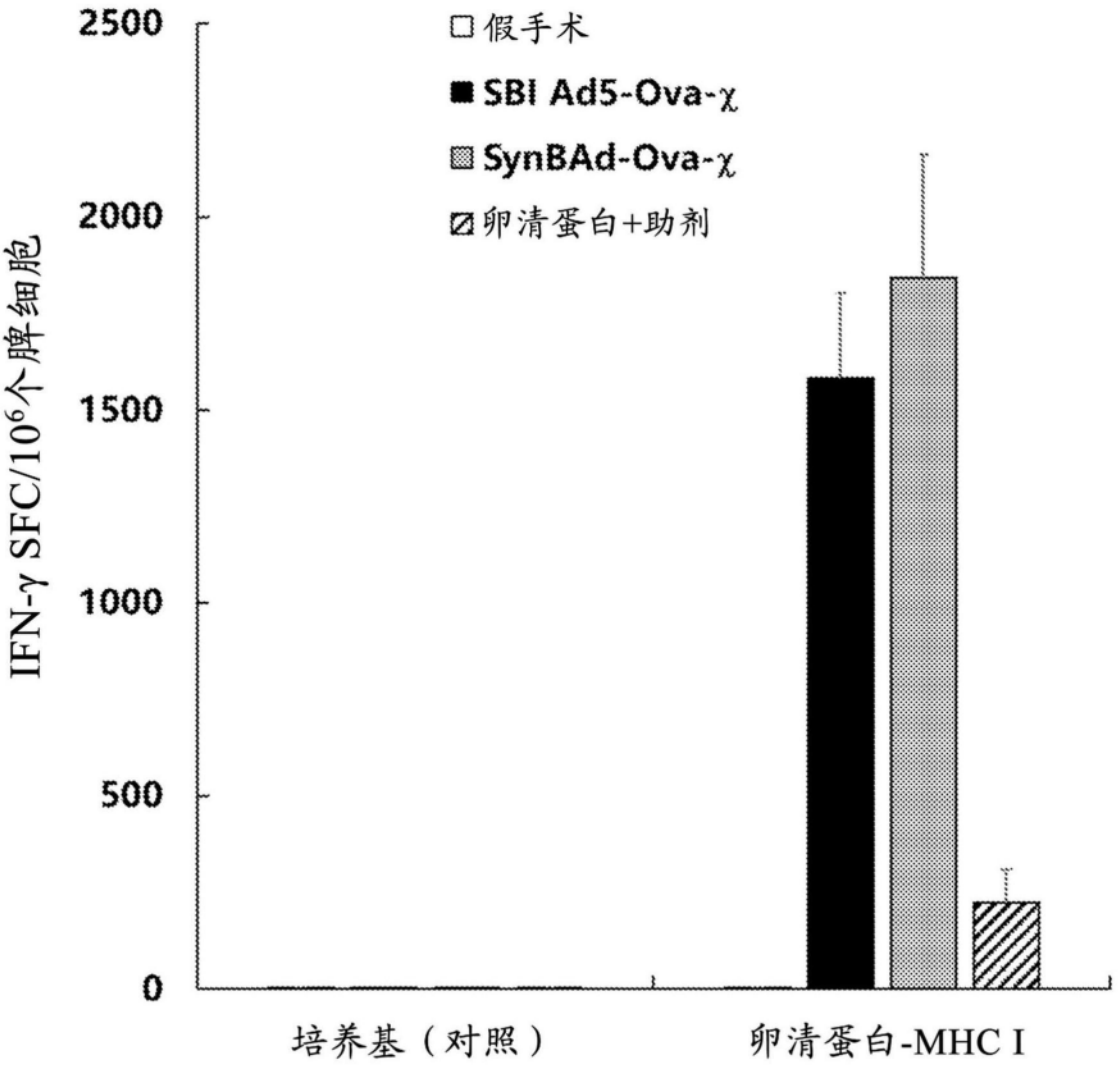

2500
2000
1500
1000
500
0
IFN-γ SFC/10⁶个脾细胞
假手术
SBI Ad5-Ova-χ
SynBAd-Ova-χ
卵清蛋白+助剂
培养基（对照）
卵清蛋白-MHC I

图5

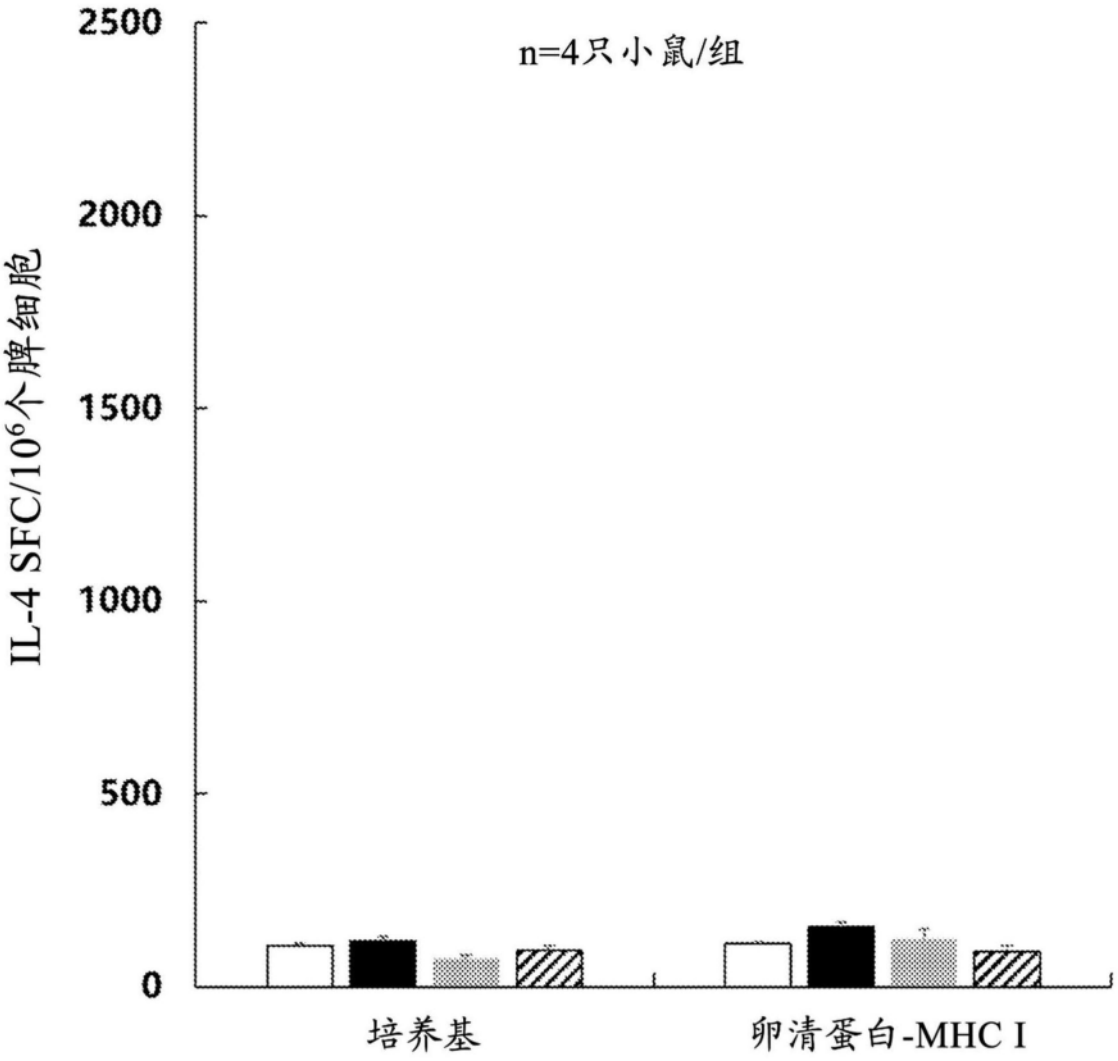

n=4只小鼠/组
IL-4 SFC/10⁶个脾细胞
2500
2000
1500
1000
500
0
培养基
卵清蛋白-MHC I

图6

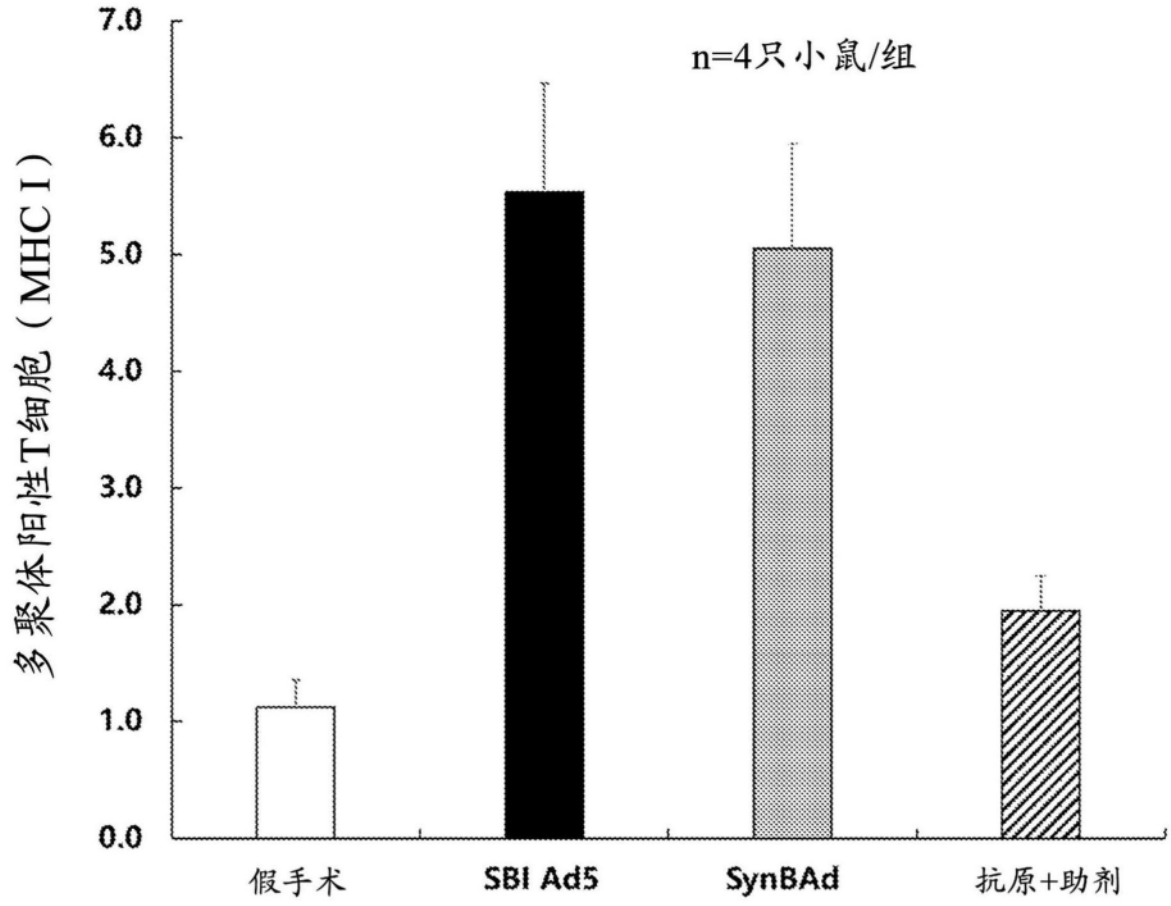

n=4只小鼠/组
多聚体阳性T细胞（MHC I）
7.0
6.0
5.0
4.0
3.0
2.0
1.0
0.0
假手术
SBI Ad5
SynBAd
抗原+助剂

图7