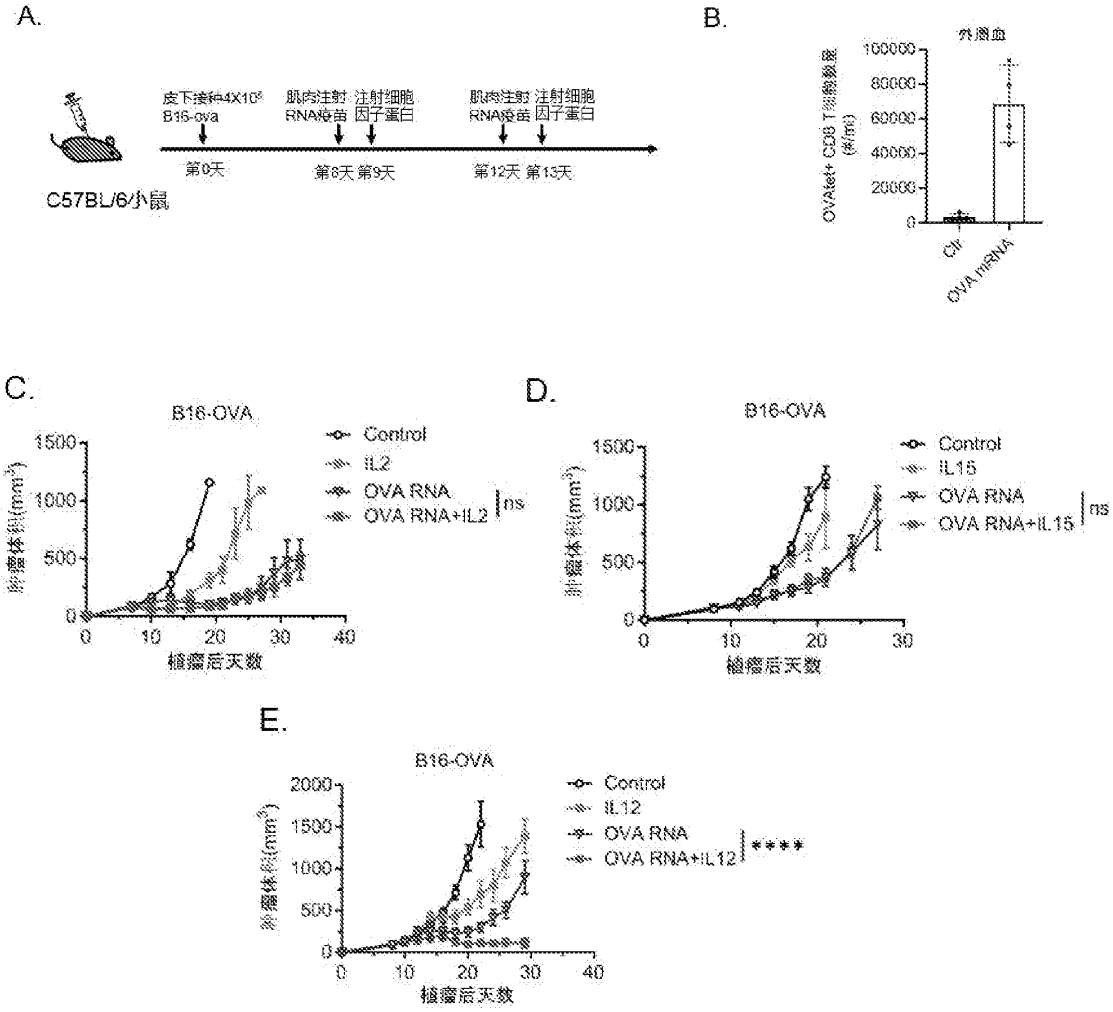
A.
皮下接种4X10⁵ B16-ova
肌肉注射 RNA疫苗
注射细胞因子蛋白
肌肉注射 RNA疫苗
注射细胞因子蛋白
第0天
第8天 第9天
第12天 第13天
C57BL/6小鼠
B.
外周血
OVAtet+ CD8 T细胞数量 (#/ml)
100000
80000
60000
40000
20000
0
Ctr
OVA mRNA
C.
B16-OVA
肿瘤体积(mm³)
1500
1000
500
0
0 10 20 30 40
植瘤后天数
Control
IL2
OVA RNA
OVA RNA+IL2
ns
D.
B16-OVA
肿瘤体积(mm³)
1500
1000
500
0
0 10 20 30
植瘤后天数
Control
IL15
OVA RNA
OVA RNA+IL15
ns
E.
B16-OVA
肿瘤体积(mm³)
2000
1500
1000
500
0
0 10 20 30 40
植瘤后天数
Control
IL12
OVA RNA
OVA RNA+IL12
****

图 1

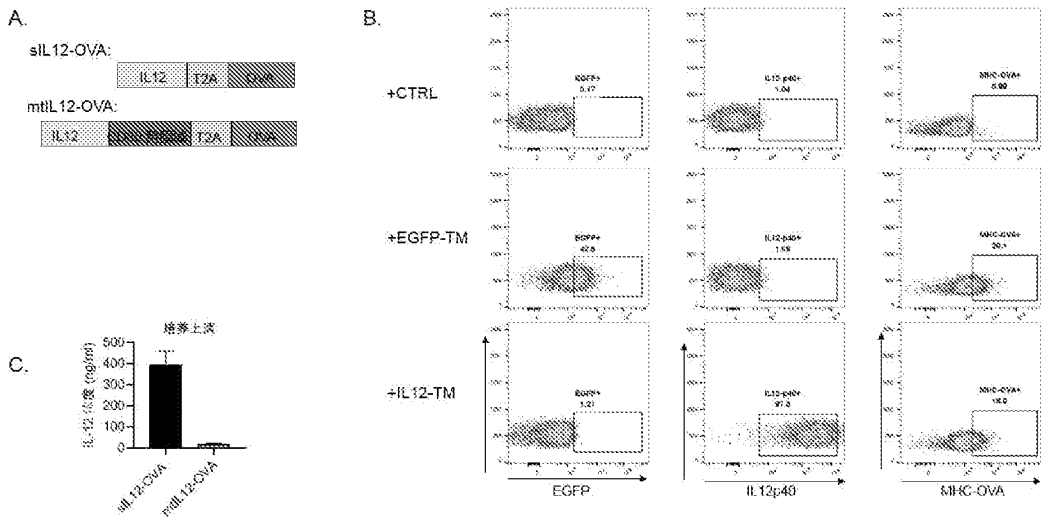
A.
sIL12-OVA:
IL12
T2A
OVA
mtIL12-OVA:
IL12
TM
T2A
OVA
B.
+CTRL
+EGFP-TM
+IL12-TM
EGFP
IL12p40
MHC-OVA
C.
培养上清
IL-12浓度 (ng/ml)
500
400
300
200
100
0
sIL12-OVA
mtIL12-OVA

图 2

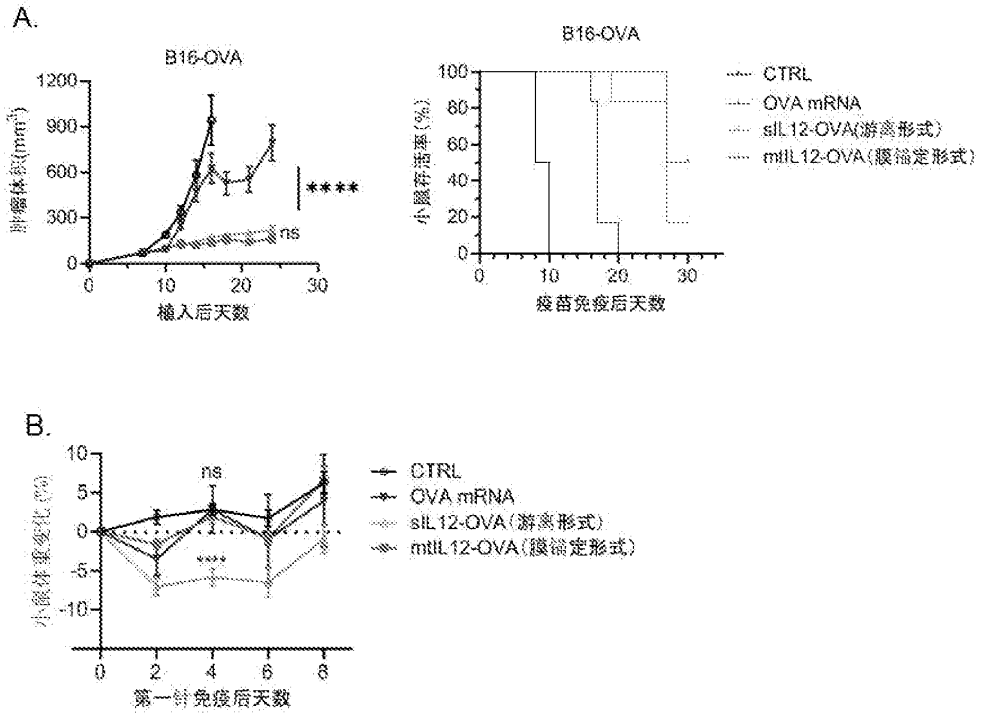
A.
B16-OVA
肿瘤体积(mm³)
1200
900
600
300
0
****
ns
0
10
20
30
植入后天数
B16-OVA
小鼠存活率(%)
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30
疫苗免疫后天数
CTRL
OVA mRNA
sIL12-OVA(游离形式)
mtIL12-OVA(膜锚定形式)
B.
小鼠体重变化(%)
10
5
0
-5
-10
ns
****
0
2
4
6
8
第一针免疫后天数
CTRL
OVA mRNA
sIL12-OVA(游离形式)
mtIL12-OVA(膜锚定形式)

图 3

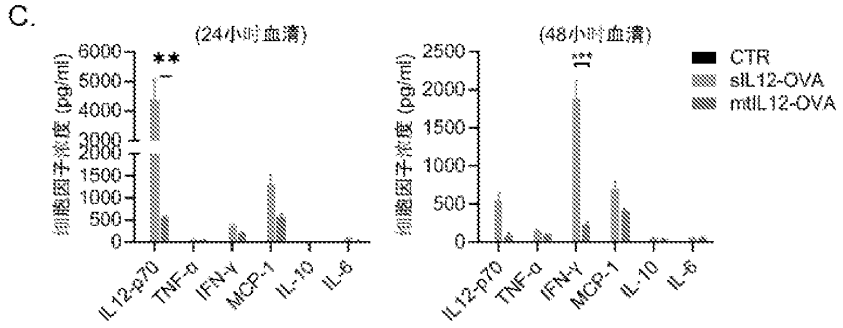
C.
(24小时血清)
(48小时血清)
细胞因子浓度 (pg/ml)
CTR
sIL12-OVA
mtIL12-OVA
IL12-p70
TNF-α
IFN-γ
MCP-1
IL-10
IL-6

图 3(续)

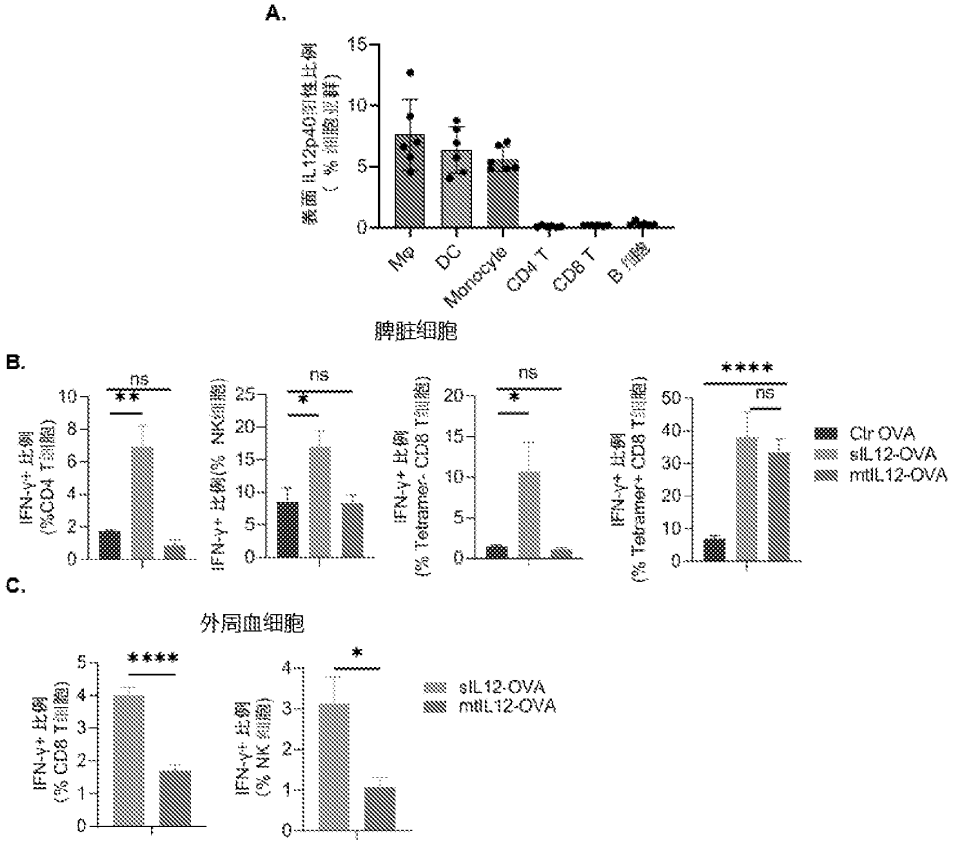
A.
表面 IL12p40阳性比例
(% 细胞亚群)
Mφ
DC
Monocyte
CD4 T
CD8 T
B 细胞
脾脏细胞
B.
IFN-γ+ 比例
(%CD4 T细胞)
IFN-γ+ 比例(% NK细胞)
IFN-γ+ 比例
(% Tetramer+ CD8 T细胞)
ns
Ctr OVA
sIL12-OVA
mtIL12-OVA
C.
外周血细胞
IFN-γ+ 比例
(% CD8 T细胞)
IFN-γ+ 比例
(% NK 细胞)
sIL12-OVA
mtIL12-OVA

图 4

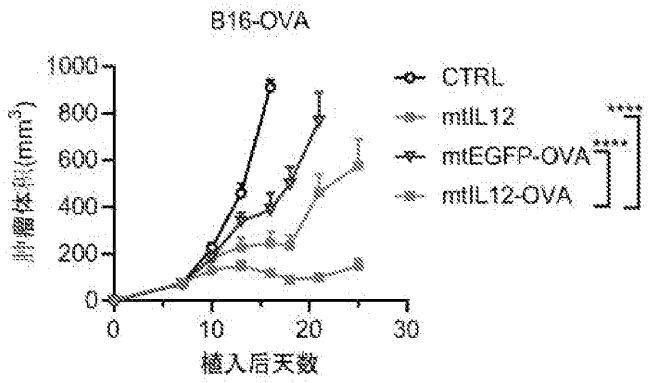
B16-OVA
肿瘤体积(mm³)
1000
800
600
400
200
0
0
10
20
30
植入后天数
CTRL
mtIL12
mtEGFP-OVA
mtIL12-OVA
****
****

图 5

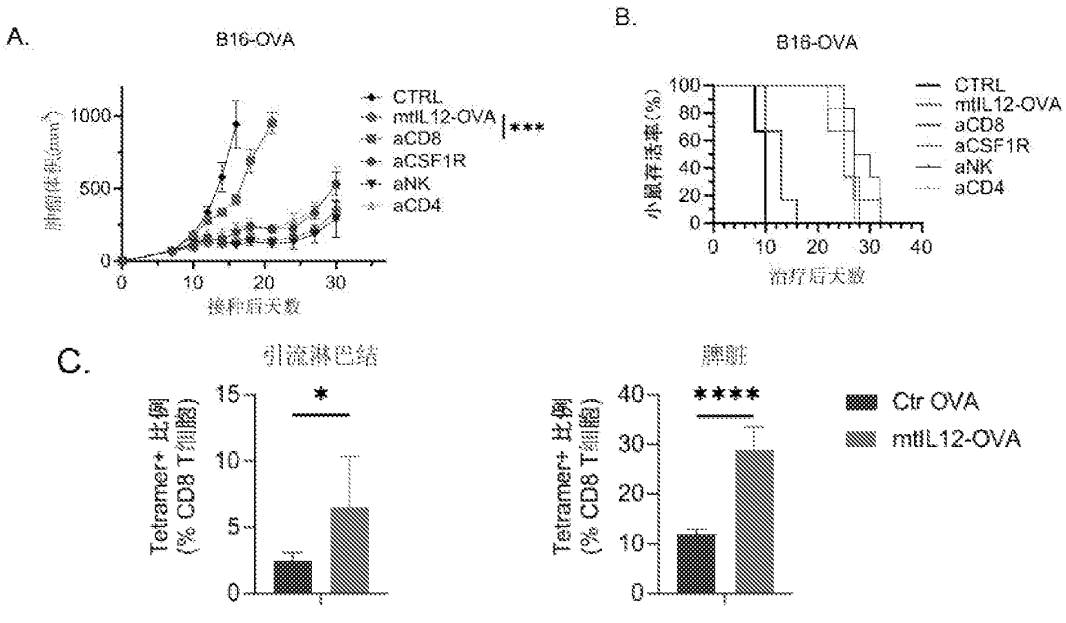
A.
B16-OVA
肿瘤体积(mm³)
1000
500
0
0
10
20
30
接种后天数
CTRL
mtIL12-OVA
aCD8
aCSF1R
aNK
aCD4
***
B.
B16-OVA
小鼠存活率(%)
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30
40
治疗后天数
CTRL
mtIL12-OVA
aCD8
aCSF1R
aNK
aCD4
C.
引流淋巴结
Tetramer+ 比例
(% CD8 T细胞)
15
10
5
0
*
脾脏
Tetramer+ 比例
(% CD8 T细胞)
40
30
20
10
0
****
Ctr OVA
mtIL12-OVA

图 6

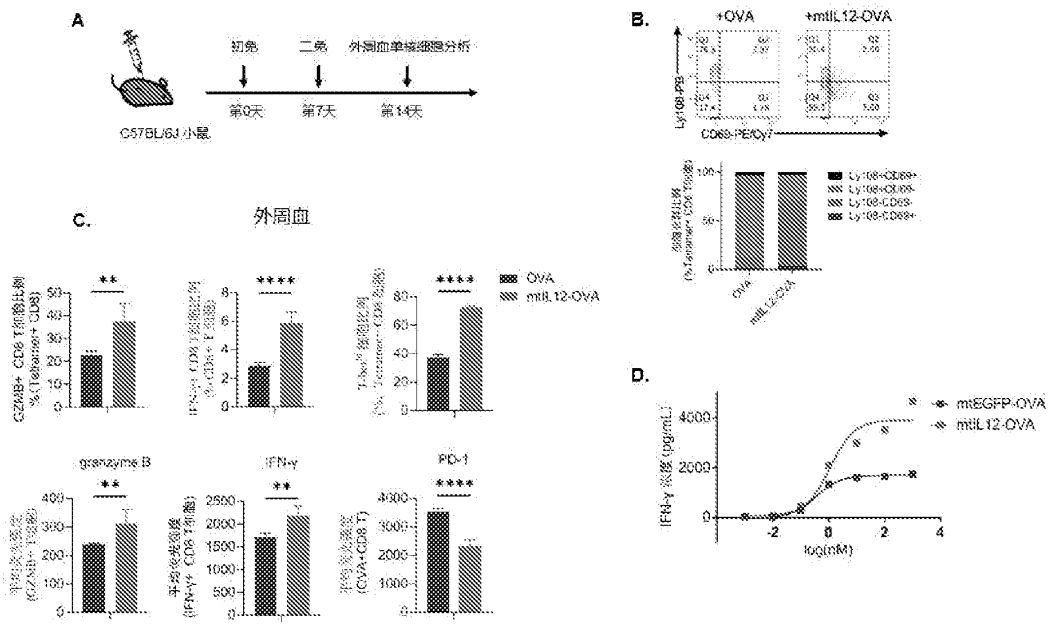
A
初免
二免
外周血单核细胞分析
第0天
第7天
第14天
C57BL/6J 小鼠
B.
+OVA
+mtIL12-OVA
Ly108-PE
CD69-PE/Cy7
C.
外周血
OVA
mtIL12-OVA
granzyme B
IFN-γ
PD-1
D.
mtEGFP-OVA
mtIL12-OVA
IFN-γ 浓度 (pg/mL)
lgQ(nM)

图 7

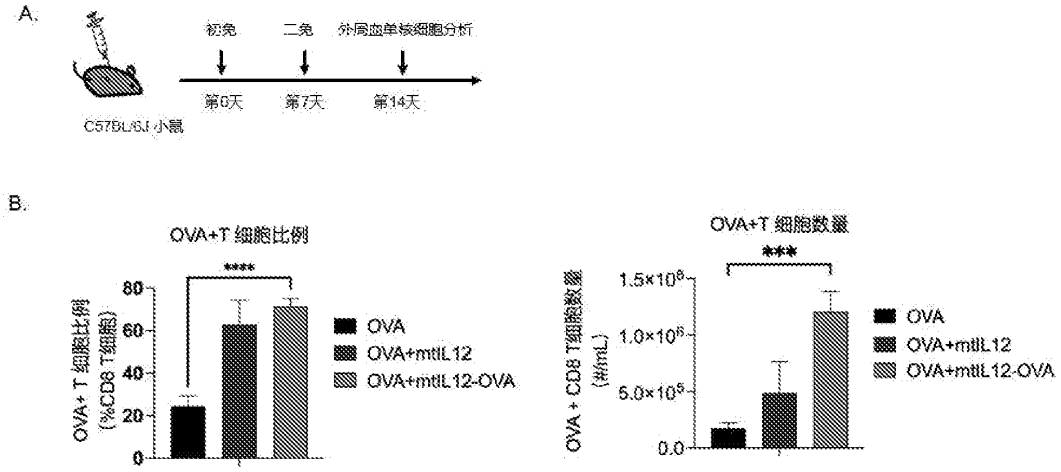
A.
初免
二免
外周血单核细胞分析
第0天
第7天
第14天
C57BL/6J 小鼠
B.
OVA+T 细胞比例
OVA+ T 细胞比例 (%CD8 T细胞)
OVA
OVA+mtIL12
OVA+mtIL12-OVA
OVA+T 细胞数量
OVA + CD8 T细胞数量 (#/mL)

图 8

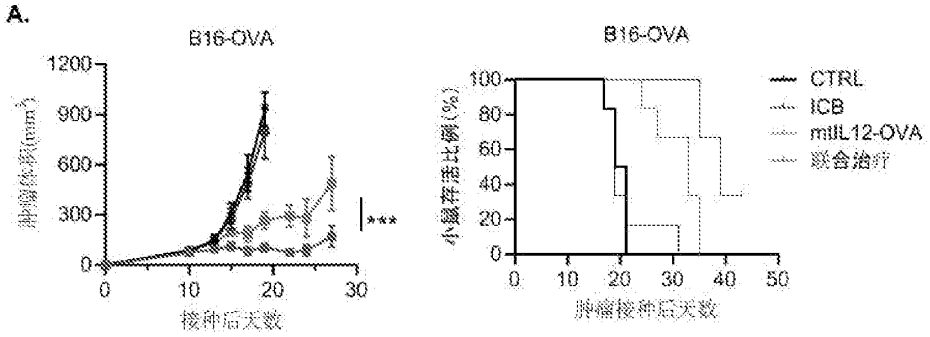
A.
B16-OVA
1200
900
600
300
0
0
10
20
30
***
接种后天数
B16-OVA
100
80
60
40
20
0
0
10
20
30
40
50
肿瘤接种后天数
CTRL
ICB
mIL12-OVA
联合治疗

图 9

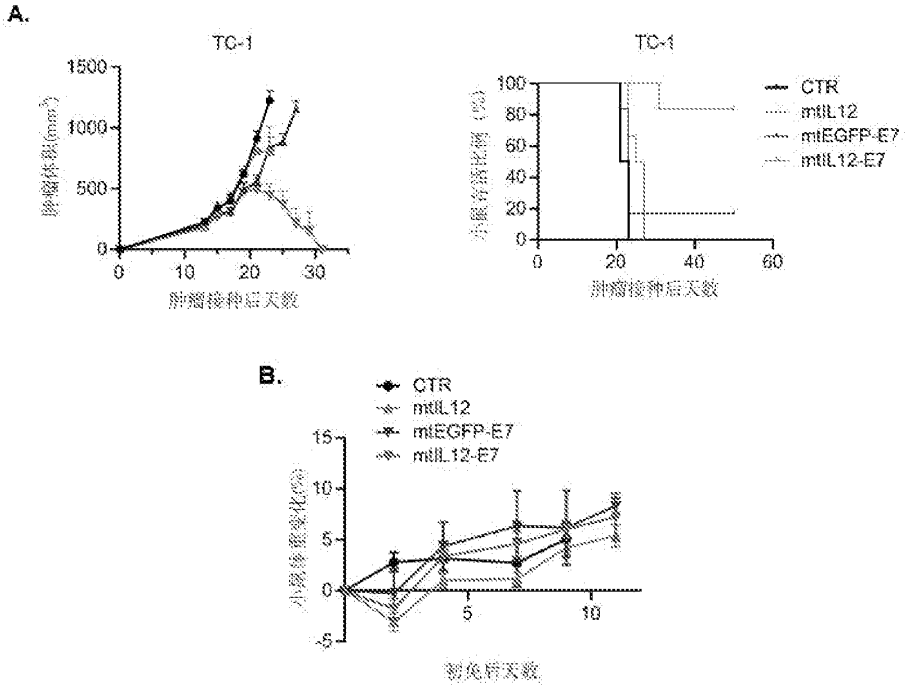
A.
TC-1
1500
1000
500
0
0
10
20
30
肿瘤接种后天数
TC-1
100
80
60
40
20
0
0
20
40
60
肿瘤接种后天数
CTR
mIL12
mIEGFP-E7
mIL12-E7
B.
CTR
mIL12
mIEGFP-E7
mIL12-E7
15
10
5
0
-5
5
10
初免后天数

图 10

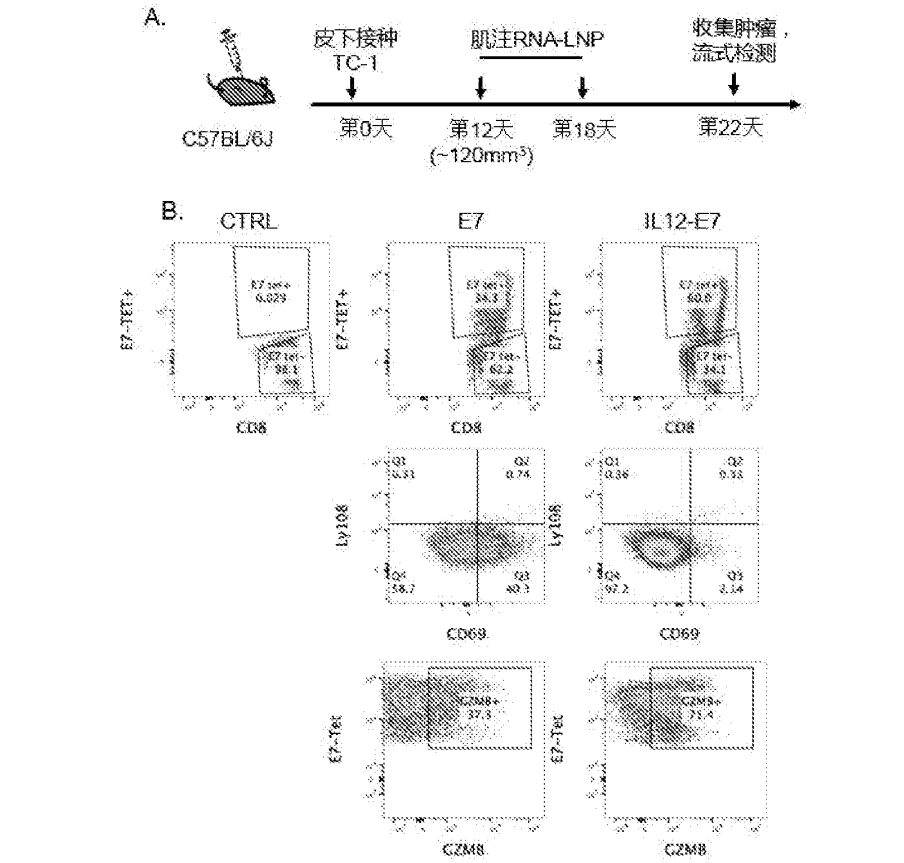
A.
皮下接种
TC-1
肌注RNA-LNP
收集肿瘤，
流式检测
C57BL/6J
第0天
第12天
(~120mm³)
第18天
第22天
B.
CTRL
E7
IL12-E7
E7-TET+
CD8
Ly108
CD69
E7-Tet
GZMB
C.
肿瘤
E7+ T细胞比例
(%CD8 T细胞)
E7+ T细胞数量
(#/mg)
E7+ CD8+T细胞
比例（%）
CD69+LY108+
CD69-LY108+
CD69+ LY108-
CD69-LY108-
CTRL
GFP-E7
IL12-E7
PD1 平均荧光强度
E7+CD8 T 细胞
GZMB+ 细胞比例
(%E7+ CD8 T细胞)

图 11

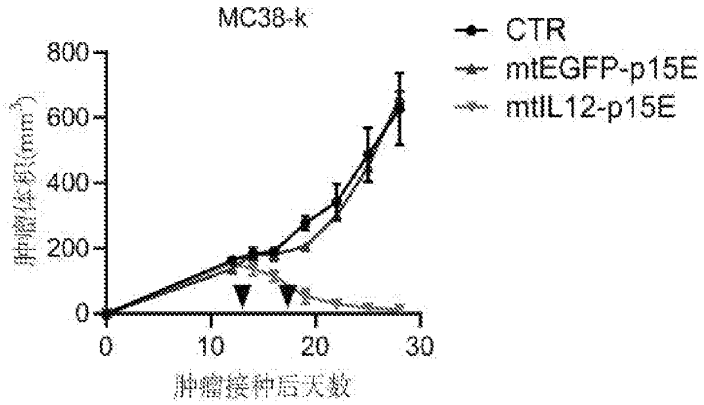
MC38-k
CTR
mtEGFP-p15E
mtIL12-p15E
肿瘤体积(mm³)
800
600
400
200
0
0
10
20
30
肿瘤接种后天数

图 12

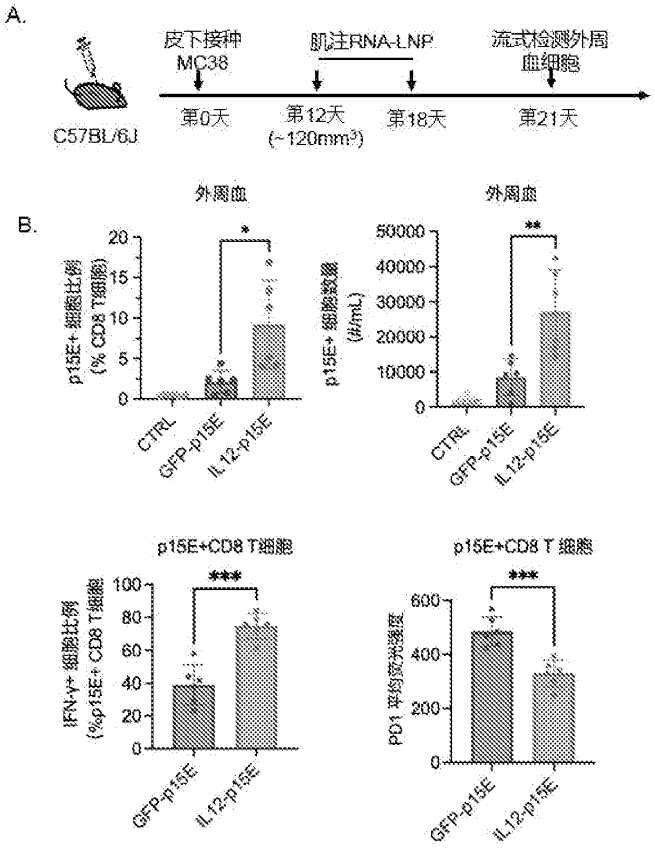
A.
皮下接种
MC38
肌注RNA-LNP
流式检测外周
血细胞
C57BL/6J
第0天
第12天
(~120mm³)
第18天
第21天
B.
外周血
外周血
p15E+ 细胞比例
(% CD8 T细胞)
p15E+ 细胞数量
(#/mL)
CTRL
GFP-p15E
IL12-p15E
p15E+CD8 T细胞
p15E+CD8 T 细胞
IFN-γ+ 细胞比例
(%p15E+ CD8 T细胞)
PD1 平均荧光强度
GFP-p15E
IL12-p15E

图 13