



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년10월31일

(11) 등록번호 10-2723182

(24) 등록일자 2024년10월24일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
**C12N 5/0781** (2010.01) **A61K 35/17** (2015.01)  
**A61K 39/00** (2006.01) **A61P 31/14** (2006.01)  
**C07K 16/00** (2006.01) **C07K 16/10** (2006.01)  
**C12N 15/86** (2006.01)
- (52) CPC특허분류  
**C12N 5/0635** (2023.05)  
**A61K 35/17** (2023.05)
- (21) 출원번호 10-2020-7014413
- (22) 출원일자(국제) 2018년10월19일  
 심사청구일자 2021년10월19일
- (85) 번역문제출일자 2020년05월20일
- (65) 공개번호 10-2020-0085781
- (43) 공개일자 2020년07월15일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2018/056789
- (87) 국제공개번호 WO 2019/079772  
 국제공개일자 2019년04월25일
- (30) 우선권주장  
 62/575,275 2017년10월20일 미국(US)  
 (뒷면에 계속)
- (56) 선행기술조사문헌  
 The EMBO Journal. 1993,12(12):4635-4645.  
 WO2011085247 A2  
 WO2017176806 A1  
 J Immunol. 2013 Oct 15, 191(8): 10.

- (73) 특허권자  
**프레드 허친슨 캔서 센터**  
 미국 98109 워싱턴주 시애틀 노스 페어뷰 애비뉴 1100
- (72) 발명자  
**데일러, 저스틴 제이.**  
 미국 98109 워싱턴주 시애틀 페어뷰 애버뉴 노스 1100  
**모페트, 호웰 에프.**  
 미국 98109 워싱턴주 시애틀 페어뷰 애버뉴 노스 1100
- (74) 대리인  
**양영준, 이상남**

전체 청구항 수 : 총 30 항

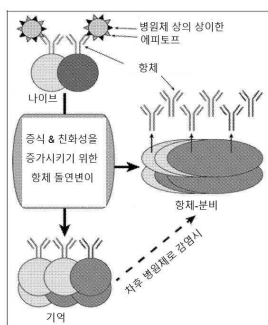
심사관 : 이현지

(54) 발명의 명칭 선택된 항체를 발현하도록 유전자 변형된 B 세포를 생산하기 위한 시스템 및 방법

### (57) 요약

선택 항체를 발현하도록 B 세포를 유전자 변형시키는 시스템 및 방법이 기재되어 있다. 이러한 시스템 및 방법은 다음을 위해 사용될 수 있다: 고전적인 예방접종의 필요성을 제거; 현재 예방접종을 불가능한 감염 물질로부터의 보호를 제공; 환자가 면역-억제된 경우 전염성 물질로부터 보호를 제공; 및/또는 자가면역 장애의 치료와 같은 치료용 항체에 의해 제공되는 이점을 제공.

### 대표도



(52) CPC특허분류

**A61P 31/14** (2018.01)  
**C07K 16/00** (2013.01)  
**C07K 16/1027** (2013.01)  
**C12N 15/86** (2013.01)  
**A61K 2039/575** (2013.01)  
**C12N 2510/00** (2013.01)  
**C12N 2750/14143** (2013.01)

(30) 우선권주장

62/580,303 2017년11월01일 미국(US)  
 62/623,371 2018년01월29일 미국(US)

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

유전자 구조체의 삽입을 위해 표적되는 B 세포에서 게놈 영역을 절단하는 유전자 편집 물질; 및

5'에서 3'에

(i) 중쇄 프로모터의 뉴클레오티드 서열;

(ii) 신호 펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열;

(iii) 선택 항체의 경쇄를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열;

(iv) (a)가요성 링커 또는 자기-절단 펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 또는 (b)스킵 요소의 뉴클레오티드 서열;

(v) 선택 항체 중쇄의 가변 영역을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열; 및

(vi) 스플라이스 접합을 포함하는 뉴클레오티드 서열

을 포함하는 유전자 구조체를

B 세포 내로 전달하고,

여기서 게놈 영역은

(A) 서열 번호: 1;

(B) 서열 번호: 2;

(C) 서열 번호: 3; 또는

(D) 서열 번호: 4

에 제시된 바와 같은 서열을 포함하고,

유전자 편집 물질에 의해 절단 후, 유전자 구조체가 (A), (B), (C) 또는 (D)의 게놈 영역에 삽입됨으로써, B 세포를 유전자 조작하여 선택 항체를 발현시키는, 선택 항체를 발현시키기 위한 B 세포의 유전자 조작 방법.

#### 청구항 2

청구항 1에 있어서, B 세포의 내인성 가변 중쇄 인코딩 게놈은 절제되지 않는 것인 방법.

#### 청구항 3

청구항 1에 있어서, 유전자 편집 물질이

하기 제시된 바와 같은 서열을 갖는 가이드 RNA(gRNA)와 연관된 뉴클레아제를 포함하는 것인 방법.

게놈 영역이 (A)인 경우, 서열 번호: 88, 89, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 또는 307;

게놈 영역이 (B)인 경우, 서열 번호: 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 또는 327;

게놈 영역이 (C)인 경우, 서열 번호: 87, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 또는 346; 또는

게놈 영역이 (D)인 경우, 서열 번호: 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 또는 366.

#### 청구항 4

청구항 1에 있어서, 상기 전달은 전기천공, 나노입자 또는 바이러스-매개 전달에 의한 것인 방법.

#### 청구항 5

청구항 3에 있어서, gRNA 및 뉴클레아제는 전기천공을 통해 전달되고 유전자 구조체는 바이러스 벡터의 일부로서 전달되는 것인 방법.

#### 청구항 6

청구항 3에 있어서, 뉴클레아제는 Cas9 또는 Cpf1인 방법.

#### 청구항 7

청구항 1에 있어서, 중쇄 프로모터는,

게놈 영역이 (A) 또는 (B)인 경우, 서열 번호: 111에 제시된 바와 같은 서열을 갖거나; 게놈 영역이 (C) 또는 (D)인 경우, 서열 번호: 128에 제시된 바와 같은 서열을 갖는 것인 방법.

#### 청구항 8

청구항 1에 있어서, 신호 펩티드는,

서열 번호: 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 또는 192에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖거나;

서열 번호: 193 또는 194에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖거나;

게놈 영역이 (A) 또는 (B)인 경우, 서열 번호: 118에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖거나;

게놈 영역이 (C) 또는 (D)인 경우, 서열 번호: 134에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 것인 방법.

#### 청구항 9

청구항 1에 있어서, 가요성 링커는

서열 번호: 116에 제시된 바와 같은 뉴클레오타이드 서열에 의해 인코딩되고/거나;

서열 번호: 122, 180, 181, 182, 183, 또는 184에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖고/거나;

50-80개 아미노산을 포함하는 Gly-Ser 링커인 방법.

#### 청구항 10

청구항 1에 있어서, 자기-절단 펩티드는 서열 번호: 176, 177, 178, 또는 179에 제시된 바와 같은 서열을 갖거나 또는 스킵 요소는 내부 리보솜 진입 부위 (IRES)인 방법.

#### 청구항 11

청구항 1에 있어서, 스플라이스 접합을 포함하는 뉴클레오타이드 서열은,

게놈 영역이 (A) 또는 (B)인 경우, 서열 번호: 124 또는 151에 제시된 바와 같거나;

게놈 영역이 (C) 또는 (D)인 경우, 서열 번호: 139에 제시된 바와 같은 것인 방법.

#### 청구항 12

청구항 1에 있어서, 유전자 구조체는 서열 번호: 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 또는 204에 제시된 바와 같은 서열을 갖는 태그를 인코딩하는 것인 방법.

#### 청구항 13

청구항 1에 있어서, 유전자 구조체는 아테노-연관 바이러스 벡터의 일부인 방법.

#### 청구항 14



청구항 13에 있어서, 유전자 구조체의 삽입 후

계놈 영역 (A)는 서열 번호: 109에 제시된 바와 같은 서열을 포함하거나;

계놈 영역 (C)는 서열 번호: 108에 제시된 바와 같은 서열을 포함하는 것인 방법.

#### 청구항 15

청구항 1에 있어서, 선택 항체는,

(a) 서열 번호: 138에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 중쇄 및 서열 번호: 136에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 경쇄;

(b) 서열 번호: 138에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 중쇄 및 서열 번호: 205에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 경쇄;

(c) 서열 번호: 123에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 중쇄 및 서열 번호: 120에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 경쇄;

(d) 서열 번호: 123에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 중쇄 및 서열 번호: 206에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 경쇄

를 포함하는 항-호흡기 세포융합 바이러스 (RSV) 항체;

서열 번호: 150에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 중쇄 및 서열 번호: 149에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 경쇄를 포함하는 항-인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 항체;

서열 번호: 235에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 중쇄 및 서열 번호: 236에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 경쇄를 포함하는 항-페르투시스 항체;

서열 번호: 159에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 중쇄 및 서열 번호: 158에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 경쇄를 포함하는 항-인플루엔자 항체;

서열 번호: 168에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 중쇄 및 서열 번호: 166에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 경쇄를 포함하는 항-엡스타인 바 바이러스 (EBV) 항체; 또는

서열 번호: 254에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 중쇄 및 서열 번호: 255에 제시된 바와 같은 서열과 적어도 90% 서열 동일성을 갖는 가변 경쇄를 포함하는 항-종양 괴사 인자 (TNF) 항체

를 포함하는 것인 방법.

#### 청구항 16

청구항 1에 있어서, 선택 항체는

서열 번호: 207을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 208을 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 209를 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 210을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 211을 포함하는 CDRL2 및 서열 번호: 212를 포함하는 CDRL3;

서열 번호: 213을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 214를 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 215를 포함하는 CDRH3, 서열 번호: 216을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 217을 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 218을 포함하는 CDRL3;

서열 번호: 219를 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 220을 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 221을 포함하는 CDRH3, QYGS를 포함하는 CDRL1, SGS를 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 222를 포함하는 CDRL3;

서열 번호: 223을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 224를 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 225를 포함하는 CDRH3, 서열 번호: 226을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 227을 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 228을 포함하는 CDRL3;

서열 번호: 229를 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 230을 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 231을 포함하는 CDRH3, 서열 번호: 232를 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 233을 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 234를 포함하는 CDRL3;

서열 번호: 237을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 238을 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 239를 포함하는 CDRH3; 서열

번호: 240을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 241을 포함하는 CDRL2 및 서열 번호: 242를 포함하는 CDRL3;

서열 번호: 243을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 244를 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 245를 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 246을 포함하는 CDRL1, KTS를 포함하는 CDRL2 및 서열 번호: 247을 포함하는 CDRL3;

서열 번호: 248을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 249를 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 250을 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 251을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 252를 포함하는 CDRL2 및 서열 번호: 253을 포함하는 CDRL3;

서열 번호: 256을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 257을 포함하는 CDRH2, 및 서열 번호: 258을 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 259를 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 260을 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 261을 포함하는 CDRL3;

서열 번호: 262를 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 263을 포함하는 CDRH2, 및 서열 번호: 264를 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 265를 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 266을 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 267을 포함하는 CDRL3; 또는

서열 번호: 268을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 269를 포함하는 CDRH2, 및 서열 번호: 270을 포함하는 CDRH3; 또는 서열 번호: 271을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 272를 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 273을 포함하는 CDRL3

(각각 카뎀 넘버링에 따름)

을 포함하는 것인 방법.

#### 청구항 17

청구항 1에 있어서, 선택 항체는 항-호흡기 세포융합 바이러스 (RSV) 항체, 항-인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 항체, 항-헛기 바이러스 항체, 항-보르다텔라 페르투스 항체, 항-C형 간염 항체, 항-인플루엔자 바이러스 항체, 항-파라인플루엔자 바이러스 항체, 항-메타뉴모바이러스 (MPV) 항체, 항-사이토메갈로바이러스 항체, 항-엡스타인 바 바이러스 항체; 항-단순 헤르페스 바이러스 항체, 항-클로스트리디움 디피실레 박테리아 독소 항체, 또는 항-종양 괴사 인자 (TNF) 항체인 방법.

#### 청구항 18

청구항 1에 있어서, 선택 항체는

팔리비주맵, AB1128, 및 ab20745로부터 선택되는 항-RSV 항체;

10E8, VRC01, ab18633 및 39/5.4A로부터 선택되는 항-HIV 항체;

항체 55, DB2-3, ab155042 및 ab80914로부터 선택되는 항-헛기 바이러스 항체;

MAB8694 및 C7-50으로부터 선택되는 항-C형 간염 항체;

C102를 포함하는 항-인플루엔자 바이러스 항체;

MPE8을 포함하는 항-MPV 항체;

MCMV5322A, MCMV3068A, LJP538, 및 LJP539로부터 선택되는 항-CMV 항체;

HSV8-N 및 MB66으로부터 선택되는 항-HSV 항체;

액톡수맵 및 베즐로톡수맵으로부터 선택되는 항-클로스트리디움 디피실레 항체; 또는

인플릭시맵, 아달리우맵, 에타네르셉트, 및 세르톨리주맵으로부터 선택되는 항-TNF 항체

를 포함하는 것인 방법.

#### 청구항 19

청구항 1에 있어서,

(a) 유전자 구조체는 중쇄 프로모터의 상동성 아암 5' 및 스플라이스 접합의 상동성 아암 3'를 포함하거나

(b) 유전자 구조체는

서열 번호: 126에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 항-RSV 항체를 인코딩하는 코딩 서열을 포함하는 서

열 번호: 102에 제시된 바와 같은 뉴클레오티드 서열;

서열 번호: 141에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 항-RSV 항체를 인코딩하는 코딩 서열을 포함하는 서열 번호: 103에 제시된 바와 같은 뉴클레오티드 서열;

서열 번호: 141에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 항-RSV 항체를 인코딩하는 코딩 서열을 포함하는 서열 번호: 104에 제시된 바와 같은 뉴클레오티드 서열;

서열 번호: 152에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 항-HIV 항체를 인코딩하는 코딩 서열을 포함하는 서열 번호: 105에 제시된 바와 같은 뉴클레오티드 서열;

서열 번호: 160에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 항-인플루엔자 항체를 인코딩하는 코딩 서열을 포함하는 서열 번호: 106에 제시된 바와 같은 뉴클레오티드 서열; 또는

서열 번호: 169에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 항-EBV 항체를 인코딩하는 코딩 서열을 포함하는 서열 번호: 107에 제시된 바와 같은 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인

방법.

## 청구항 20

청구항 19에 있어서, 방법은 (a)를 포함하고 여기서

계놈 영역이 (A)인 경우,

5' 상동성 아암은 서열 번호: 110 또는 153에 제시된 바와 같고, 3' 상동성 아암은 서열 번호: 125에 제시된 바와 같거나;

5' 상동성 아암은 서열 번호: 92에 제시된 바와 같고, 3' 상동성 아암은 서열 번호: 93에 제시된 바와 같거나;

5' 상동성 아암은 서열 번호: 94에 제시된 바와 같고, 3' 상동성 아암은 서열 번호: 95에 제시된 바와 같거나;

또는

계놈 영역이 (C)인 경우,

5' 상동성 아암은 서열 번호: 127에 제시된 바와 같고, 3' 상동성 아암은 서열 번호: 140에 제시된 바와 같거나;

5' 상동성 아암은 서열 번호: 90에 제시된 바와 같고, 3' 상동성 아암은 서열 번호: 91에 제시된 바와 같거나;

5' 상동성 아암은 서열 번호: 142에 제시된 바와 같고, 3' 상동성 아암은 서열 번호: 143에 제시된 바와 같은 것인

방법.

## 청구항 21

청구항 19에 있어서, 방법은 (a)를 포함하고 여기서

계놈 영역이 (A)를 포함하는 경우, 유전자 구조체는 하기를 포함하거나

(i) 서열 번호: 110에 제시된 바와 같은 5' 상동성 아암 서열;

(ii) 서열 번호: 111에 제시된 바와 같은 서열을 갖는 중쇄 프로모터;

(iii) 서열 번호: 118에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 신호 펩티드를 인코딩하는 코딩 서열;

(iv) 서열 번호: 285에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 선택 항체의 경쇄를 인코딩하는 코딩 서열;

(v) 서열 번호: 122에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 가요성 링커를 인코딩하는 코딩 서열;

(vi) 서열 번호: 123에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 선택 항체의 중쇄의 가변 영역을 인코딩하는 코딩 서열;

(vii) 서열 번호: 124에 제시된 바와 같은 서열을 갖는 스플라이스 접합; 및

(viii) 서열 번호: 125에 제시된 바와 같은 3' 상동성 아암 서열;

또는

계놈 영역이 (A)를 포함하는 경우, 유전자 구조체는 하기를 포함하거나

(i) 서열 번호: 110에 제시된 바와 같은 5' 상동성 아암 서열;

(ii) 서열 번호: 111에 제시된 바와 같은 서열을 갖는 중쇄 프로모터;

(iii) 서열 번호: 118에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 신호 펩티드를 인코딩하는 코딩 서열;

(iv) 서열 번호: 287에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 선택 항체의 경쇄를 인코딩하는 코딩 서열;

(v) 서열 번호: 122에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 가요성 링커를 인코딩하는 코딩 서열;

(vi) 서열 번호: 150에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 선택 항체의 중쇄의 가변 영역을 인코딩하는 코딩 서열;

(vii) 서열 번호: 151에 제시된 바와 같은 서열을 갖는 스플라이스 접합; 및

(viii) 서열 번호: 125에 제시된 바와 같은 3' 상동성 아암 서열;

또는

계놈 영역이 (A)를 포함하는 경우, 유전자 구조체는 하기를 포함하거나

(i) 서열 번호: 153에 제시된 바와 같은 5' 상동성 아암 서열;

(ii) 서열 번호: 111에 제시된 바와 같은 서열을 갖는 중쇄 프로모터;

(iii) 서열 번호: 118에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 신호 펩티드를 인코딩하는 코딩 서열;

(iv) 서열 번호: 288에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 선택 항체의 경쇄를 인코딩하는 코딩 서열;

(v) 서열 번호: 122에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 가요성 링커를 인코딩하는 코딩 서열;

(vi) 서열 번호: 159에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 선택 항체의 중쇄의 가변 영역을 인코딩하는 코딩 서열;

(vii) 서열 번호: 151에 제시된 바와 같은 서열을 갖는 스플라이스 접합; 및

(viii) 서열 번호: 125에 제시된 바와 같은 3' 상동성 아암 서열;

또는

계놈 영역이 (A)를 포함하는 경우, 유전자 구조체는 하기를 포함하거나

(i) 서열 번호: 153에 제시된 바와 같은 5' 상동성 아암 서열;

(ii) 서열 번호: 111에 제시된 바와 같은 서열을 갖는 중쇄 프로모터;

(iii) 서열 번호: 118에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 신호 펩티드를 인코딩하는 코딩 서열;

(iv) 서열 번호: 289에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 선택 항체의 경쇄를 인코딩하는 코딩 서열;

(v) 서열 번호: 122에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 가요성 링커를 인코딩하는 코딩 서열;

(vi) 서열 번호: 168에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 선택 항체의 중쇄의 가변 영역을 인코딩하는 코딩 서열;

(vii) 서열 번호: 151에 제시된 바와 같은 서열을 갖는 스플라이스 접합; 및

(viii) 서열 번호: 125에 제시된 바와 같은 3' 상동성 아암 서열;

또는

계놈 영역이 (C)를 포함하는 경우, 유전자 구조체는 하기를 포함하거나

- (i) 서열 번호: 127에 제시된 바와 같은 5' 상동성 아암 서열;
- (ii) 서열 번호: 128에 제시된 바와 같은 서열을 갖는 중쇄 프로모터;
- (iii) 서열 번호: 134에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 신호 펩티드를 인코딩하는 코딩 서열;
- (iv) 서열 번호: 286에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 선택 항체의 경쇄를 인코딩하는 코딩 서열;
- (v) 서열 번호: 122에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 가요성 링커를 인코딩하는 코딩 서열;
- (vi) 서열 번호: 138에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 선택 항체의 중쇄의 가변 영역을 인코딩하는 코딩 서열;
- (vii) 서열 번호: 139에 제시된 바와 같은 서열을 갖는 스플라이스 접합; 및
- (viii) 서열 번호: 140에 제시된 바와 같은 3' 상동성 아암 서열;

또는

계놈 영역이 (C)를 포함하는 경우, 유전자 구조체는 하기를 포함하는 것인 방법.

- (i) 서열 번호: 142에 제시된 바와 같은 5' 상동성 아암 서열;
- (ii) 서열 번호: 128에 제시된 바와 같은 서열을 갖는 중쇄 프로모터;
- (iii) 서열 번호: 134에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 신호 펩티드를 인코딩하는 코딩 서열;
- (iv) 서열 번호: 286에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 선택 항체의 경쇄를 인코딩하는 코딩 서열;
- (v) 서열 번호: 122에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 가요성 링커를 인코딩하는 코딩 서열;
- (vi) 서열 번호: 138에 제시된 바와 같은 아미노산 서열을 갖는 선택 항체의 중쇄의 가변 영역을 인코딩하는 코딩 서열;
- (vii) 서열 번호: 139에 제시된 바와 같은 서열을 갖는 스플라이스 접합; 및
- (viii) 서열 번호: 143에 제시된 바와 같은 3' 상동성 아암 서열;

## 청구항 22

청구항 1에 있어서, B 세포는 항체-생성 B 세포, 기억 B 세포, 나이브 B 세포, B1 B 세포 또는 가장자리 영역 B 세포인 방법.

## 청구항 23

청구항 1 내지 청구항 22 중 어느 한 항의 방법에 따라 변형된 B 세포.

## 청구항 24

청구항 23에 있어서, 항체-분비 B 세포, 기억 B 세포, 나이브 B 세포, B1 B 세포 또는 가장자리 영역 B 세포인 B 세포.

## 청구항 25

항-감염 효과를 필요로 하는 대상체에서 항-감염 효과를 제공하기 위한 청구항 23의 B 세포를 포함하는 제약 조성물.

## 청구항 26

청구항 25에 있어서, 상기 제공은 예방접종 필요성을 제거하는 것인 제약 조성물.

## 청구항 27

청구항 25에 있어서, 예방접종 프로토콜을 대체하는 것인 제약 조성물.

## 청구항 28

청구항 25에 있어서, 상기 대상체는 면역-억제되는 것인 제약 조성물.

#### 청구항 29

청구항 25에 있어서, 대상체는 골수 이식, 조혈 줄기 세포 이식, 또는 유전자 변형 조혈 줄기 세포의 투여를 포함하는 치료 요법의 일부로서 면역-억제되는 것인 제약 조성물.

#### 청구항 30

항-염증 효과를 필요로 하는 대상체에서 항-염증 효과를 제공하기 위한 청구항 23의 B 세포를 포함하는 제약 조성물.

#### 청구항 31

삭제

#### 청구항 32

삭제

#### 청구항 33

삭제

#### 청구항 34

삭제

#### 청구항 35

삭제

#### 청구항 36

삭제

#### 청구항 37

삭제

#### 청구항 38

삭제

#### 청구항 39

삭제

#### 청구항 40

삭제

#### 청구항 41

삭제

#### 청구항 42

삭제

#### 청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제



청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

청구항 102

삭제

청구항 103

삭제

청구항 104

삭제

청구항 105

삭제

청구항 106

삭제

청구항 107

삭제

## 청구항 108

삭제

## 청구항 109

삭제

## 청구항 110

삭제

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 관련 출원에 대한 상호 참조

[0002] 본 출원은 2017년 10월 20일 출원된 미국 가특허출원 제 62/575,275호, 2017년 11월 1일 출원된 미국 가특허출원 제 62/580,303호, 그리고 2018년 1월 29일 출원된 미국 가특허출원 제 62/623,371호에 대한 우선권을 주장하며, 상기 출원 각각은 본 명세서에 전문이 제시된 것처럼 그 전문이 참고문헌으로 포함된다.

[0003] 서열 목록에 관한 설명

[0004] 본 출원과 관련된 서열 목록은 서류 사본 대신 텍스트 형식으로 제공되며 본 명세서에 참고문헌으로 포함된다. 서열 목록을 포함하는 텍스트 파일명은 18-024-WO-PCT\_ST25.txt이다. 이 텍스트 파일은 184 KB이며, 2018년 10월 19일 생성되었으며 EFS-Web을 통해 전자 제출된다.

[0005] 발명의 분야

[0006] 본 발명은 선택 항체를 발현하도록 유전자 변형된 시스템 및 방법을 제공한다. 이러한 시스템 및 방법은 다음을 위해 사용될 수 있다: 고전적인 예방접종의 필요성을 제거; 현재 예방접종이 불가능한 감염 물질로부터의 보호를 제공; 환자가 면역-억제된 경우 전염성 물질로부터 보호를 제공; 및/또는 자가면역 장애의 치료와 같은 치료용 항체에 의해 제공되는 이점을 제공.

### 배경 기술

[0007] 발명의 배경

[0008] 백신은 표적된 감염 물질에 대한 항체를 생성하는 B 세포를 자극함으로써 특정 감염원에 대한 대상체의 면역을 증가시키도록 설계되어 있다. 정기 소아 예방접종은 비교적 낮은 위험과 높은 효능을 가지는 오랫동안 확립된 임상 개입법이다. 그러나 불행하게도, 예방접종은 모든 감염원에 대하여 가능한 것은 아니다. 한 예로서, 미국에서 매년, 수백만명의 어린이들이 호흡기 세포융합 바이러스(RSV) 감염으로 인해 의사 또는 응급실을 방문한다.

[0009] 수십년간, 연구자들은 RSV, 인간 면역 결핍 바이러스(HIV) 및 Zika 바이러스와 같은 바이러스로부터 보호하기에 효과적인 항체를 생산하도록 B 세포를 유도 할 수 있는 백신을 개발하려고 노력해 왔다. 그러나 보호 항체를 유도하려는 모든 노력은 실패했다. 광범위하게 시험을 거친 유일한 RSV 백신은 실제로 감염을 악화 시켰다: 예방접종 후 생성된 항체는 바이러스를 비활성화시키지 않고, 대신 세포를 감염시키는 능력을 향상시켰다. RSV, HIV 및 Zika 바이러스 외에도, 효과적인 백신이 없는 다른 감염원이 많이 있다.

[0010] 감염 퇴치 외에도, 항체는 자가면역 질환과 같은 다른 병태에 대한 치료법으로도 유용 할 수 있다. 그러나, 이러한 항체-기반 요법은 일반적으로 보호를 유지하기 위해 항체의 반복 주사를 필요로 한다.

[0011] 또한, 다수의 환자가 혈액 악성종양 (예를 들어, 백혈병, 림프종, 골수종)의 치료법으로서 골수 또는 조혈 줄기 세포 이식을 경험한다. 다른 환자들은 환자에게 없는 치료 유전자를 제공하는 유전자 변형 조혈 줄기 세포의 주입을 받는다. 이러한 모든 치료는 이식 또는 유전자 변형 조혈 줄기 세포를 투여하기 전에 환자의 기존 면역 시스템을 제거해야하며, 치료 후 환자의 면역 시스템이 다시 채워지기 전에 위험한 면역 억제 창을 남겨 두어야 한다. 이러한 면역 억제 시기 동안, 환자는 RSV, 인플루엔자, 파라인플루엔자 및 메타뉴모바이러스(MPV)와 같

은 감염에 매우 취약하다. 이러한 감염은 높은 위험 요소이며 이러한 치료 후 수많은 사망자와 관련이 있다.

## 발명의 내용

[0012]

발명의 요약

[0013]

본 발명은 선택 항체를 발현하도록 유전자 변형된 시스템 및 방법을 제공한다. 특정 구체예에서, 선택 항체는 기존 예방접종의 필요성을 감소시키거나 제거한다. 특정 구체예에서, 선택 항체는 현재 유효한 예방접종 전략이 없는 바이러스 (예를 들어, RSV, HIV, Zika)로부터의 감염으로부터 보호한다. 특정 구체예에서, 선택 항체는 다양한 자가면역 장애를 치료하기 위해 투여되는 것과 같은 치료용 항체 주사의 필요성을 감소시키거나 제거한다. 특정 구체예에서, 선택 항체는 면역 억제된 환자를 감염으로부터 보호한다. 특정 구체예에서, 본 발명의 방법을 사용하여 B 세포를 재프로그래밍하여, 수백 가지의 상이한 감염원 또는 병원체로부터 보호할 수 있으며, 이는 모두 수일에 걸친 단일 실험실 조작에 의한다.

[0014]

특정 구체예에서, 본 발명은 B 세포의 내인성 게놈의 특정 영역에 유전자 구조체를 표적화 삽입하여 이러한 이점을 제공한다. 중요하게도, B 세포의 유전자 변형은 항체 다양성에 필요한 이들 세포 내의 유전자 서열들의 높은 변이성으로 인해 어렵다. 이러한 고도의 유전자 변이성은 유전자 조작을 위해 항체 코딩 영역을 직접 표적화하는 것을 실용화되지 못하게 만든다. 더욱이, B 세포 게놈의 코딩 부분을 제거 및 교체하는 것도 효과적이지 않은데, 이 접근법이 B 세포 기능에 부정적인 영향을 주기 때문이다.

[0015]

선택 항체를 발현시키기 위해 B 세포를 유전자 변형시키는 것과 관련된 또 다른 과제는, 항체가 중쇄 및 경쇄로 지칭되는 개별적인 단백질 단위로부터 형성되기 때문에 발생한다. 상이한 사슬은 B 세포 게놈의 상이한 부분에 의해 인코딩되지만, 기능성 항체를 형성하기 위해 함께여야 한다.

[0016]

본 발명은 그 중에서도 유전자 삽입을 위해 확실하게 표적화 될 수 있고 변형시 B 세포의 자연 게놈의 상응하는 부분 보다 삽입되는 유전자 구조체를 우선적으로 발현시키는 B 세포 게놈의 불변 영역을 확인함으로써 이러한 과제를 해결한다. 이 전략은 B 세포 게놈과 관련된 서열 변이성을 해결하고 선택 항체의 기능적 발현을 구현하기 위해 내인성 B 세포 게놈의 일부를 제거 및 대체할 필요성 또한 해결한다. 내인성 B 세포 게놈의 일부를 제거하고 교체 할 필요성을 해결하면 유전자 조작 후 B 세포 기능이 보존된다.

[0017]

특정 구체예에서, 유전자 삽입을 위해 표적되는 주목되는 영역은 서열 번호: 85 (인간) 또는 서열 번호: 86 (마우스)의 Eμ 인핸서 요소의 상류 또는 하류의 인트론 영역이다. 특정 구체예에서, 유전자 삽입을 위해 표적되는 영역은 서열 번호: 1 또는 2 (인간) 또는 서열 번호: 3 또는 4 (마우스)로부터 선택된 불변 인트론 영역이다. 특정 구체예에서, 유전자 삽입을 위해 표적하는 서열 번호: 1 내의 인간 DNA 서열은 서열 번호: 5-24를 포함한다. 특정 구체예에서, 유전자 삽입을 위해 표적하는 서열 번호: 2 내의 인간 DNA 서열은 서열 번호: 25-44를 포함한다. 특정 구체예에서, 유전자 삽입을 위해 표적하는 서열 번호: 3 내의 마우스 DNA 서열은 서열 번호: 45-64를 포함한다. 특정 구체예에서, 유전자 삽입을 위해 표적하는 서열 번호: 4 내의 마우스 DNA 서열은 서열 번호: 65-84를 포함한다. 유전자 변형을 위해 이들 부위를 특히 표적화 할 수 있는 유전자 서열은 가이드 RNA (gRNA) 서열 번호: 87-89 및 290-366으로 본 명세서에 기재되어 있다.

[0018]

특정 구체예에서, 삽입되는 유전자 구조체의 배치 및 성분은 B 세포의 내인성 게놈의 상응하는 부분 보다 삽입되는 유전자 구조체를 우선적으로 발현시킨다. 이들 구체예에는 또한 내인성 B 세포 게놈의 상이한 영역에 의해 인코딩되는 항체의 부분들과 관련된 과제를 해결하기 위한 요소들을 포함한다.

[0019]

특정 구체예에서, 유전자 구조체는 서열 번호: 1, 2, 3 및 4 중 하나에 삽입되고 그리고 (i) 프로모터; (ii) 신호 펩티드; (iii) 선택 항체의 전체 경쇄를 인코딩하는 트랜스진; (iv) 가요성 링커 또는 스킵 요소; (v) 선택 항체의 중쇄 가변 부분; 및 (vi) B 세포의 내인성 중쇄 불변 영역을 발현시키는 스플라이스 접합을 포함한다. 이들 구체예에서, 선택 항체를 단일 구조체로서 발현시키는 것은 내인성 B 세포 게놈의 상이한 영역에 의해 인코딩되는 항체 부분들과 관련된 과제를 해결한다. 가요성 링커의 포함은 발현되는 선택 항체의 경쇄 및 중쇄 부분을 기능적 단위를 형성할 수 있게 하는 방식으로 물리적으로 연결시키고 이와 동시에 이들 항체 부분들이 B 세포의 내인성 게놈으로부터의 다른 잠재적으로 발현되는 항체 사슬들과 결합할 위험을 감소시킨다. 스킵 요소의 사용은 경쇄 부분 및 중쇄 부분을 물리적으로 연결시키지 않지만, 이의 근접 발현 또한 기능적 단위 형성을 위한 결합을 가져오며 동시에 이들 항체 부분들이 B 세포의 내인성 게놈으로부터의 다른 잠재적으로 발현되는 항체 사슬들과 결합할 위험을 감소시킨다. 스플라이스 접합의 포함은 B 세포의 현재 활성화 및/또는 성숙 상태에 적합한 중쇄 불변 영역을 포함하는 선택 항체를 생성한다. 즉, B 세포의 내인성 중쇄 불변 영역 중 어느 하나를 가지는 선택된 발현 항체가 발현 될 수 있고, 선택 항체로 발현된 중쇄 불변 영역은 시간이 지남에

따라 자연적으로 변할 수 있다.

[0020] 본 발명은 또한 선택 항체를 발현하도록 효과적으로 유전자 변형된 B 세포만이 환자에 대한 제제화 및 투여를 위해 수집되도록 하는 방법을 제공한다. 예를 들어, 유전자 변형 전에, B 세포는 카파 경쇄 또는 람다 경쇄를 포함하는 항체를 자연적으로 발현 할 것이다. B 세포는 자연적으로 발현하는 카파 또는 람다 사슬과 상이한 경쇄를 발현하도록 변형 될 수 있고, 대체 사슬을 발현하는 B 세포 만이 제제화 및 투여를 위해 선택된다.

[0021] 본 발명은 또한 본 명세서에 기술된 이점을 제공하기 위해 B 세포를 효과적으로 변형시키는 수많은 추가 전략을 제공한다. 이러한 전략 및 다른 전략은 아래 상세한 설명에 보다 자세히 설명된다.

## 도면의 간단한 설명

[0022] 도면의 간단한 설명

도 1. 고전적인 예방접종 전략에 대한 B 세포 반응의 도식도.

도 2A-2C. 호흡기 세포융합 바이러스 (RSV): (도 2A) 포르말린-비활성화 RSV 백신; (도 2B) “개선된” RSV 백신; 및 (도 2C) RSV 에피토프 스캐폴드 백신에 대한 선행 기술의 예방접종 전략에 대한 도식도.

도 3A-3C. RSV에 대한 예방접종을 우회하고 보호 항체를 직접 제공하기 위한 기존의 노력들에 대한 요약: (도 3A) 팔리비주맙 주사; (도 3B) 아데노바이러스-매개 팔리비주맙 발현; 및 (도 3C) 줄기 세포 유전자 변형 및 분화.

도 4A, 4B. 본 명세서에 개시된 보호 전략들에 관한 특정 구체예들의 도식도: (도 4A) RSV로부터 보호하기 위한 B 세포 변형; 및 (도 4B) 동시 보호를 위한 전략.

도 5. 감염 유무에 따른 B 세포 아형들에 의한 팔리비주맙 분비 가설.

도 6A, 6B. 본 발명의 기술적 과제를 강조한 (도 6A) 항체 유전자 및 (도 6B) 항체 단백질의 구조: 항체들은 2 개의 별개 유전자 생성물들로부터 만들어진 단백질임. 특정 구체예들에서, 본 명세서에 개시된 선택 항체들을 인코딩하는 합성 유전자 구조체들은 이러한 과제를 해결하기 위해 스킵 요소들 (예컨대, 자기-절단 펩티드)을 이용한다.

도 7. 재조합하는 V, D, 및 J 분절들, 원과 타원으로 표시된 인핸서 요소, 및 발현될 수 있는 6개의 가능한 불변 영역들을 포함한, 내인성 중쇄 유전자좌를 도식하는 도식도.  $\mu/\delta$  불변 영역들을 발현시킴으로써 B 세포들이 개시되지만, 개재 DNA를 결실함으로써  $\gamma/\alpha$ , 또는  $\epsilon$  불변 영역들을 사용하도록 전환 (switch) 될 수 있다. 또한 각각의 V 분절은 재조합 후 중쇄 발현을 유도하는, 화살표로 표시된 중쇄 프로모터와 결합됨을 주목하라.

도 8A, 8B. 2개 단백질들은 함께 항체를 형성하기 때문에, B 세포의 내인성 항체 중쇄 (IgH) 및/또는 내인성 항체 경쇄 (IgL)를 표적 또는 비활성화시키는 것이 바람직할 수 있다. 표적화 또는 비활성화 부재시, 바람직하지 않은 하이브리드 항체가 형성될 수 있다 (즉, 선택 항체 중쇄와 쌍을 이루는 내인성 경쇄 또는 그 역). (도 8A) 내인성 IgH 표적화 및 선택 항체의 일부를 포함하는 생성된 키메라 (예컨대, 팔리비주맙)를 위한 접근법. (도 8B) IgL 비활성화를 위한 접근법. 도식된 접근법에서, 정지 코돈은 삽입된 유전자 구조체의 상류에 (또는 이의 일부로서) 위치될 수 있다.

도 9. 삽입된 유전자 구조체에 의해 인코딩되는 (상부) 내인성 VDJ 또는 (하부) 합성 VDJ와 중쇄 인핸서들의 상호작용을 도식하는 도식도. 프로모터들은 화살표로 도식된다. 핵산은 상자로 도식되어 있다. B 세포는 자연적으로  $E\mu$  인핸서에 가장 인접한 프로모터의 하류에 존재하는 핵산을 발현한다. 도 9에 도식된 내인성 B 세포 게놈에서,  $E\mu$  인핸서에 가장 인접한 제 1 상류 프로모터는 이후 내인성 중쇄 VDJ 분절들의 발현을 유도한다.  $E\mu$  인핸서와 제 1 내인성 프로모터 사이의 프로모터를 포함하는 유전자 구조체를 삽입하면 내인성 중쇄 VDJ 분절들 보다는 삽입된 유전자 구조체를 발현하는 B 세포를 생성한다. 이러한 삽입된 유전자는 중쇄의 VDJ 가변 영역, 이러한 중쇄 가변 VDJ와 함께 쌍을 이루는 전장 항체 경쇄, 또는 B 세포 중쇄 불변 영역과의 융합체로서 발현될 수 있는 또 다른 합성 유전자 일 수 있다. 도 9에서, 불변 영역들은 삽입된 유전자 구조체가 임의의 가능한 중쇄 불변 영역들과 함께 발현될 수 있음을 강조하기 위해 개별적으로 표시된다.

도 10. 삽입을 위한 표적 영역들 (인간). 게놈 내부에 유전자 구조체를 삽입하기 위한 영역: #1: 말단 J 영역 (인간에서 IGHJ6, 마우스에서 IGHJ4)으로부터  $E\mu$  인핸서까지, 또는 #2:  $E\mu$  인핸서로부터 불변 도메인 전환 영역의 반복 서열들까지.

도 11A, 11B. (도 11A) 인간 E $\mu$  인트론 인헨서 (서열 번호: 85) 및 IGHJ6으로부터 E $\mu$  인트론 인헨서까지를 포함하는 유전자 삽입부를 표적하기 위한 인간 DNA 서열 (서열 번호: 1); (도 11B) 예시적 관련 gRNA (예컨대, sgRNA) 표적 부위들 (서열 번호: 5-24) 및 gRNA 서열들 (서열 번호: 88, 89, 및 290-307).

도 12A, 12B. (도 12A) E $\mu$  인트론 인헨서로부터 전환 영역까지를 포함하는 유전자 삽입부를 표적하기 위한 인간 DNA 서열 (서열 번호: 2); (도 12B) 예시적 관련 gRNA (예컨대, sgRNA) 표적 부위들 (서열 번호: 25-44) 및 gRNA 서열들 (서열 번호: 308-327).

도 13A, 13B. (도 13A) 마우스 E $\mu$  인트론 인헨서 (서열 번호: 86) 및 IGHJ4로부터 E $\mu$  인트론 인헨서까지 포함하는 유전자 삽입부를 표적하기 위한 마우스 DNA 서열 (서열 번호: 3); (도 13B) 예시적 관련 gRNA (예컨대, sgRNA) 표적 부위들 (서열 번호: 45-64) 및 gRNA 서열들 (서열 번호: 87, 및 328-346).

도 14A, 14B. (도 14A) E $\mu$  인트론 인헨서로부터 전환 영역까지를 포함하는 유전자 삽입부를 표적하기 위한 마우스 DNA 서열 (서열 번호: 4); (도 14B) 예시적 관련 gRNA (예컨대, sgRNA) 표적 부위들 (서열 번호: 65-84) 및 gRNA 서열들 (서열 번호: 347-366).

도 15A, 15B. 도 15A는 CRISPR/Cas9 유전자-편집 시스템을 이용하여, 내인성 중쇄 좌위 내부에 항-RSV 항체를 인코딩하는 유전자 구조체 삽입을 도시하는 도식도이다. 이 유전자 구조체는 상동성 암 또는 스티치를 포함할 수 있는데, 이는 삽입 부위의 게놈 DNA와 상동성인 뉴클레오타이드 오버행이다. 도 15B는 게놈의 Cas9/sgRNA 절단과 협력하여 삽입된 서열에 연결한 이중 가닥 DNA를 생성하는 sgRNA 표적 부위들에 의해 연결되는 서열들 (상부), 삽입된 서열에 연결하는 긴 상동성 암을 함유하는 단일 가닥 DNA (중양), 그리고 DNA 올리고를 어닐링함으로써 생성되는 삽입된 서열에 연결한 짧은 상동성 암 (하부)을 포함하는 DNA 복구 템플릿의 또 다른 예들을 도시한다.

도 16. 다음을 도시하는 도식도: (상부) 항-RSV 항체의 중쇄 가변 영역을 인코딩하는 유전자 구조체로 변형된, 변형된 중쇄 좌위; (중양) 항-RSV 항체의 경쇄 가변 영역을 인코딩하는 유전자 구조체로 변형된, 변형된 경쇄 좌위; 그리고 (하부) 항-RSV 항체의 경쇄 (즉, IgL), 및 항-RSV 항체의 중쇄 가변 영역을 인코딩하는 유전자 구조체, 이러한 경쇄와 중쇄 가변 영역 사이의 링커 (Strep-Tag 포함)로 변형된, 변형된 중쇄 좌위.

도 17. 본 명세서에 개시된 바와 같이, 변형된 기억 B 세포 및 변형된 항체-분비 B 세포에 의한 다중 병원체에 대한 동시 보호의 도식도.

도 18A-18C. 마우스 및 인간 B 세포들에서 표적된 인트론 영역의 효과적인 Cas9 절단. Cas9/sgRNA 리보핵 단백질 복합체를 이용한 전기천공은 마우스 및 인간 B 세포에서 효과적인 절단을 매개하였다. 세포를 Cas9/sgRNA 복합체로 전기천공하였다. 편집 효율은 전기천공 후 3일차에 다음에서의 분해에 의한 삽입결손(Indels)의 추적 (TIDE)에 의해 평가되었다: (도 18A) 마우스 B 세포주 (A20); (도 18B) 일차 B 세포; 및 (도 18C) 인간 B 세포주 (Ramos).

도 19. RSV-특이적 항체를 인코딩하는 유전자 구조체의 마우스 B 세포로의 삽입.

도 20. 유전자-변형 B 세포들의 농축 및 분석.

도 21. 유전자-변형된 B 세포들은 RSV 결합 항체를 분비한다.

도 22A, 22B. 비-상동성 단부 연결 (NHEJ) 및 마이크로-상동성 매개 단부 연결 (MMEJ) 접근법은 일차 마우스 B 세포들의 게놈 조작을 위한 긴-상동 재조합 (HDR)에 대한 대안을 제공한다. (도 22A) 일차 B 세포들은 24 시간 프라이밍되고, 아데노-연관 바이러스 (AAV)와 함께 12시간 동안 공동배양되고, 세정되고, 전기천공되거나 mCherry 발현 분석 전 3일 동안 이차 배양에 곧바로 옮겨졌다. (도 22B) 일차 B 세포들은 24시간 동안 프라이밍되고, 모의 전기천공되고, 또는 템플릿 + Cas9/sgRNA로 전기천공되고, mCherry 발현 분석 전 5일 동안 이차 배양으로 옮겨졌다.

도 23A-23E. 기능적 항체를 인코딩하는 신규한 유전자 구조체의, 마우스 및 인간 B 세포주 내부로의 삽입은 표면 결합되어 분비되는 항체의 발현을 가능하게 한다. (도 23A) 부분 항체 구조체의 삽입을 위한 부위를 보여주는, 뿐만 아니라 표면 결합되어 분비되는 항체를 도시하는 IgH 좌위의 다이어그램. emAb = 합성 상체, 본 명세서에서 synAb와 호환적으로 사용됨. (도 23B) RSV-선융합-F 단백질 사랑체 (RSV-사랑체) 및 항-스트랩태그 II 사랑체 ( $\alpha$ TagAb 사랑체)를 이용한 비변형된 또는 항-RSV 합성 항체 ( $\alpha$ RSV synAb) 변형된 마우스 A20 B 세포주의 염색. (도 23C) RSV-선융합 사랑체 및 항-스트랩태그 II 항체 사랑체로 비변형된 또는 항-RSV synAb 변형된 인간 RAMOS B 세포주의 염색. (도 23D) 비변형된 또는 항-RSV synAb 변형된 A20 세포 배양물의 배양 배지로부터

의 RSV 선융합 F 단백질에 대한 항체의 결합에 관한 ELISA. 팔리비주맵을 양성 대조로 사용하였다. (도 23E) 비변형된 또는 항-RSV synAb 변형된 RAMOS 세포 배양물의 배양 배지로부터의 RSV 선융합 F 단백질에 대한 항체의 결합에 관한 ELISA. 팔리비주맵을 양성 대조로 사용하였다.

도 24A-24C. 신규한 특이성을 가지는 일차 마우스 B 세포의 생성. (도 24A) 농축 전 (왼쪽 패널) 항-스트렙타그 II 사량체로, 및 농축 및 확장 후 항-스트렙타그 II 사량체로 (중앙 패널) 및 RSV-선-융합 바이러스 단백질 사량체로 (오른쪽 패널) 모의 처리된 (상부) 또는 항-RSV synAb 변형된 마우스 B 세포주 (하부)의 표면 염색. (도 24B) 비변형된 또는 항-RSV synAb 변형된 마우스 B 세포 배양물의 배양 배지로부터의 RSV 선융합 F 단백질에 대한 항체의 결합에 관한 ELISA. 팔리비주맵을 양성 대조로 사용하였다. 항체 결합은 HRP에 결합된 항-마우스 Ig 및 다클론 항-인간 Ig의 1:1 혼합물로 검출하였다. (24C) 3T3-CD40L 피더(feeder) 세포 및 IL-21과의 배양에서 농축 B synAb 세포의 급속한 확장.

도 25A-25I. 예시 서열들. (도 25A) 예시 sgRNA 서열들 (서열 번호: 87, 88, 89), 게놈 상동성 영역 (서열 번호: 90-95), 및 스플라이싱 올리고뉴클레오티드 (서열 번호: 96-101); (도 25B) 인간 항-RSV-emAb AAV (2531 bp (서열 번호: 102) 및 관련 뉴클레오티드 및 단백질 서열들 (서열 번호: 110-126, 280, 285)); (도 25C) 마우스 항-RSV-emAb AAV (3134 bp (서열 번호: 103) 및 관련 뉴클레오티드 및 단백질 서열들 (서열 번호: 127-141, 281, 286)); (도 25D) 마우스 emAb-RSV-dsDNA (1736 bp (서열 번호: 104) 및 관련 뉴클레오티드 및 단백질 서열들 (서열 번호: 142-144)); (도 25E) 인간 emAb-VRC01-AAV (2551 bp (서열 번호: 105) 및 관련 뉴클레오티드 및 단백질 서열들 (서열 번호: 145-152, 282, 287)); (도 25F) 인간-emAb-Medi8852-AAV (2544 bp (서열 번호: 106) 및 관련 뉴클레오티드 및 단백질 서열들 (서열 번호: 153-160, 283, 288)); (도 25G) 인간-emAb-AMM01-AAV (2555 bp (서열 번호: 107) 및 관련 뉴클레오티드 및 단백질 서열들 (서열 번호: 161-169, 284, 289)); (도 25H) Balb/C mRSV-스플라이스 통합 서열 (2261 bp (서열 번호: 108) 및 관련 뉴클레오티드 및 단백질 서열들 (서열 번호: 170-172)); 및 (도 25I) TT-hRSV-T7-통합 서열 (1707 bp (서열 번호: 109) 및 관련 뉴클레오티드 및 단백질 서열들 (서열 번호: 173-175)).

도 26A-26D. (도 26A) 새로운 항체 카세트의 삽입을 위한 E $\mu$  인핸서 상류의 표적화된 영역; 이 영역을 표적화함으로써, 삽입된 emAb 유전자는 고유한 (그러나 삽입된) IgH 프로모터에 의해 유도되고, 면역글로빈 발현의 고유 제어를 최대화할 수 있다. 원-히트 삽입을 가능하게 하고 오프-타겟 상호작용을 최소화하기 위하여, emAb 구조체들은 단일쇄 융합물로서 발현되었다. 이러한 융합물은 57개 아미노산 글리신-세린 링커로 중쇄의 가변 영역에 연결되는 전장 경쇄 서열로 구성된다. 경쇄와 중쇄의 물리적 연결은 삽입되는 emAb와 내인성 경쇄 간의 짝짓기 오류 가능성을 최소화한다. 최적화된 스플라이스 접합은 emAbs가 내인성 IgH 불변 영역들의 하류로 스플라이스 하게 한다. 이에 의해 emAbs는 임의의 중쇄 아이소형 클래스로서 발현될 수 있다. (도 26B) 버킷-림프종 유래 B 세포주는 람다 경쇄와 쌍을 이룬 IgM의 표면 및 분비된 형태를 자연적으로 발현한다. 팔리비주맵으로부터 유도된 조작된  $\alpha$ RSV-emAb의 발현은 단량체 RSV-F 단백질 및 링커에서 스트렙타그 II 모티프에 대한 높은 친화성을 갖는 변형된 스트렙타비딘인 스트렙타틴을 사용하여 검출되었다.  $\alpha$ RSV-emAb 변형된 RAMOS 세포들은 조작된 RSV-특이적 항체를 발현시켰으며, 이는 세포 표면에서 검출될 수 있다. (도 26C) 조작된 RSV-특이적 항체는 또한 상청액에서 분비된 형태로 검출되었다. (도 26D) 대조 세포가 아닌  $\alpha$ RSV-emAb 변형된 세포는 단백질 항원에 반응하여 신속하고 지속적인 칼슘 신호전달을 나타내었다.

도 27A-27G. 인간 B 세포는 짝지은 cas9-sgRNA 및 AAV 템플릿 전달에 의해 단일 사슬 emAb를 발현하도록 효율적으로 유전자-변형된다. (도 27A) 인간 세포 조작 공정의 도식적 설명. 0일차: B 세포는 PBMC로부터 분리되고 CD40L, IL2, IL10, IL15 및 CpG 올리고뉴클레오티드로 프라임된다. 2일차: 세포를 cas9/sgrRNA RNP로 전기천공하고 전기천공 1 시간 후 emAb HR 템플릿을 인코딩하는 AAV로 처리 한 후, 0일차에 기재된 바와 같이 배양하였다. 4일차: 세포들은 항원 결합 또는 태그 발현에서 선택된다. 4-15일차: 선택된 세포는 IL15가 보충된 CD40L, IL2 및 IL21을 발현하는 조사된 피더 세포상에서 확장된다. 15-18일차: 세포들은 IL6, IL15, 및 IFN $\gamma$ 를 이용한 무-피더 분화 배양으로 전이되었다. (도 27B) emAb-표적화 Cas9/sgrRNA RNP로 처리된 6개의 독립 PBMC 공여자로부터의 B 세포에서의 삽입결실 빈도. (도 27C) 표적화 sgRNA 부위 전반에서 보고된 빈도를 갖는 모든 인간 SNP. (도 27D) 배양 4일차의 대조 배양된 또는 RSV-emAb 유전자-변형된 인간 B 세포들에 대한 RSV-F 선융합 단량체의 결합에 관한 대표적인 FACS. (도 27E) 6개의 독립 공여자로부터의 B 세포를 조작한 후 RSV-emAb B 세포의 빈도. (도 27F) 프라임된 세포 (2일차) 및 시험관내 분화된 세포 (18일차)에서 혈장 세포 마커 (CD19, CD27, CD38 및 CD138)에 대한 FACS. (도 27G) 배양 18일차에 대조군 B 세포 또는 인플루엔자 표적화된 MEDI8852-emAb B 세포의 배양 배지에서 분비된 항-HA-줄기 항체에 대한 ELISA.

도 28. 단일쇄 emAb는 항바이러스 항체의 발현을 위한 유연한 플랫폼이다. 인간 B 세포를 모의 전기천공 (대조



B, 상단 줄) 또는 지시된 광범위한 중화 항체 구조체 및 인간 카파 (팔리비주맵, VRC01 및 MEDI8852) 또는 람다 (AMM01) 경쇄의 가변 영역으로부터 유래한 emAb 구조체 (하단 줄)로 유전자-변형시켰다. 대조 및 emAb 조작된 세포들을 지시된 병원체: RSV-F 단량체, 또는 HIV-ENV, EBV GH/GL, 또는 HA-줄기의 사량체로부터 유래한 매칭 항원으로 염색하였다.

도 29A-29D. 생성 IgH 대립유전자에 대한 emAb 삽입은 내인성 IgH 생성을 차단할 수 있다. (도 29A) RAMOS IgH 대립 유전자의 다이어그램: emAb 표적 부위를 함유하는 하나의 생산적 대립유전자 및 emAb 표적 부위를 제거하는 c-myc 전위를 갖는 하나의 대립유전자. (도 29B) 투입 RAMOS 세포 (CD79b+에 대해 지정됨), 및 aRSV-emAb 조작된 RAMOS 세포 (CD79b+/RSV-F+에 대해 지정됨)에서 람다 경쇄의 표면 발현 및 RSV-F 항원 결합을 보여주는 유세포 분석. (도 29C) 일차 IgH 대립유전자의 다이어그램: 하나의 생산적 대립유전자 및 기능적 재조합 VDJ가 없는 하나의 비생산적 대립유전자, 둘 모두 emAb 표적 부위를 함유함. (도 29D) 투입 분류된  $\lambda$  경쇄 + B 세포 (CD79b+에 대하여 지정됨) 및 aRSV-emAb 조작된 B 세포 (CD79b+/RSV-F+에 대하여 지정됨)에 대한  $\lambda$  경쇄의 표면 발현 및 RSV-F 항원 결합을 보여주는 유세포분석.

도 30A-30E. aRSV-emAb 카세트를 이용한 일차 마우스 B 세포의 유전자조작 (도 30A). 마우스 B 세포 유전자조작 과정의 도식적 설명. 0일차: B 세포들을 음성 선택을 통해 비장 및 말초 림프절 (PLN)로부터 단리하고 CD40L-HA, 항-HA mAb, 및 IL4로 프라이밍하였다. 1일차: 세포들을 dsDNA와 함께 cas9/sgRNA RNP로 전기천공 하거나 (dsDNA 조건), 또는 cas9/sgRNA RNP 단독으로 전기천공하고, 전기천공 1시간 후에 emAb HR 템플릿 함유 AAV로 처리한다 (AAV 조건). 이후 세포들을 0일차에 기재한 바와 같이 배양 상태로 유지시켰다. 3일차: 세포들은 항원 결합 또는 태그 발현에 대해 선택된다. 4-8일차: 선택된 세포는 IL-21이 보충된, CD40L을 발현하는 조사된 피더 세포상에서 확장된다. (도 30B) IgH 표적화 cas9/sgRNA RNP로 처리된 B 세포들에서의 삽입결실 백분율. (도 30C) 대조 B 세포, 또는 dsDNA 또는 AAV 템플릿을 사용하여 유전자조작된 emAb B 세포에서 단량체 선융합-RSV-F 단백질에 대한 결합에 관한 대표적인 FACS. (도 30D) dsDNA 또는 AAV 템플릿으로 조작된 B 세포에서 emAb 세포의 빈도. (도 30E) 대조 B 세포, 또는 dsDNA 또는 AAV 템플릿을 사용하여 조작된 B 세포의 상정액에서 항-RSV 특이적 분비 항체.

도 31A-31D. 조작된 aRSV-emAb B 세포에 의한 바이러스 감염으로부터의 보호. (도 31A) 전달된 emAb 세포들에 의한 항바이러스 보호에 대한 도식적 설명. 0일차:  $1.5 \times 10^7$  개 농축된 RSV-emAb B 세포들이 I.P. 주사를 통해 전달된다. 5일차: 15 mg/kg으로 팔리비주맵 I.P. 주사. 6일차: 항바이러스 Ab 역가를 측정하기 위한 혈액 채취. 7일차:  $10^6$  pfu RSV 바이러스로 비강내 접종. 12일차: 폐의 바이러스 역가 측정. (도 31B) RSV-F 단량체 및 스트렙타빈 태그 결합으로 측정된 RSV-emAb 세포의 전달 전 또는 전달 24시간 후 RSV-emAb 수용체의 표면 발현. (도 31C) 6일차 마우스에서 aRSV-F 항체의 혈장 역가. (도 31D) 감염 48시간 전에 세포가 전달되지 않은, aRSV-emAb B 세포, 대조 B 세포, 또는 15 mg/kg 팔리비주맵이 I.P. 전달된 마우스의 폐에서 RSV의 바이러스 역가.

도 32A, 32B. 인간 항체 분비 세포의 NSG 마우스로의 다회 전달 (도 32A) 인간 emAb B 세포의 NSG 마우스로의 전달의 개략도. 0일차:  $5 \times 10^6$  개 항-Flu emAb B 세포 및 도 27에 기재된 바와 같이 생성된  $5 \times 10^6$  개 항-RSV emAb B 세포를 I.P. 주사로 전달하였다. 7일차: 혈청에서의 항체 생성을 위한 혈액 채취. (도 32B) emAb 세포 (이중 전이) 대 대조군 혈청 (이전 없음)을 받은 마우스에서 항-RSV-F 및 항-HA 줄기 항체의 혈청 역가에 대한 ELISA.

도 33A, 33B. 마우스 (도 33A) 및 인간 (도 33B) IgH 좌위로의 emAb 카세트의 긴 삽입을 위한 템플릿. 각 게놈의 상단 줄에는 최종 J 영역, E $\mu$  인트론 인핸서 요소 및  $\mu$  불변 도메인의 시작을 포함한 생식계열 IgH 유전자 좌의 요소 위치가 표시되어 있다. cas9/sgRNA 표적 부위의 위치가 표시된다 (절단 부위). 하기는 마우스 AAV 및 dsDNA 구조체 (도 33A) 및 인간 AAV 구조체 (도 33B)에 포함된 상동성 아암을 표적으로하는 표적화 아암의 위치를 나타낸다. 또한 게놈에 삽입된 emAb 카세트가 도시되어 있다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

상세한 설명

백신은 표적된 감염 물질에 대한 항체를 생성하는 B 세포를 자극함으로써 특정 감염원에 대한 대상체의 면역력을 증가시키도록 설계되어 있다. 항체는 병원체로부터의 보호를 제공할 수 있는 단백질이다. 항체는 병원체에 결합할 수 있으며 이 결합이 병원체의 정상적인 기능을 방해할 때 보호적이다. 예를 들어, 많은 보호 항체는 병원체의 일부에 결합하여 병원체가 세포로 유입되는 것을 차단한다. 항체는 B 세포 (B 세포 수용체로 알려짐)의



표면에 부착 될 수 있지만 혈액으로 분비될 때 보호 기능의 대부분을 발휘한다.

- [0025] 병원체는 질병을 일으킬 수있는 물질을 지칭 할 수 있으며, 병원성은 질병을 유발하는 물질의 능력을 의미 할 수 있다. 병원체의 예에는 숙주를 감염시키고 질병을 일으킬 수있는 바이러스, 박테리아 및 곰팡이가 포함된다. 병원체의 다른 예는 질병을 유발하는 숙주 유래 단백질 또는 다른 숙주 유래 물질, 가령, 수많은 자가면역 병태 (예를 들어, 관절염) 및 알츠하이머 병 중에 뇌에 축적되는 섬유 단백질인 베타 아밀로이드 플라크와 관련된 염증성 분자인 종양 괴사 인자 알파 (TNF $\alpha$ )를 포함한다. 특정 구체예에서, 암 세포 및/또는 종양은 또한 질환을 유발하는 능력에 기초하여 병원체 또는 병원성 물질로 지칭 될 수 있다.
- [0026] 백신 또는 천연 병원체에 노출시, 백신에 제공되는 및/또는 병원체에 존재하는 에피토프는 나이브 B 세포에 존재하는 B 세포 수용체에 결합 할 수 있다. 이러한 결합은 B 세포의 활성화 및 보호 항체의 생성을 가져올 수 있다.
- [0027] 나이브 B 세포는 에피토프와 접촉하기 전의 B 세포를 지칭한다. 각각의 나이브 B 세포는 독특한 에피토프 특이성을 갖는 독특한 항체를 발현한다. 각각의 나이브 B 세포에 의해 발현된 독특한 항체는 유전자 재조합을 통해 무작위로 생성된다. 나이브 B 세포는 막-결합 항체 (즉, B 세포 수용체)를 발현하고 에피토프 결합시 빠르게 증식 할 수 있다. 증식 및 성숙 동안, 항체 유전자는 체세포 돌연변이를 거치고, 이는 에피토프 결합의 친화성을 증가시키는 역할을 한다. B 세포 성숙 동안 발생하는 에피토프 결합의 친화력의 증가는 병원체에 대한 효과적인 보호를 위해 필요하다. 단일 나이브 B 세포는 수십 개의 세포 분열을 거쳐 수천 개의 항체-분비 B 세포 및 동일한 항체를 발현하는 기억 B 세포 (도 1) 또는 병원체에 대한 결합을 개선하기 위해 돌연변이된 관련 항체를 생성 할 수 있다.
- [0028] 활성화 항체-분비 B 세포 이외에, 기억 B 세포는 병원체에 대한 보호에 중요하다. 기억 B 세포는 일반적으로 항체를 능동적으로 분비하지 않지만 항체 분비 세포로 빠르게 분화 될 수 있다. 기억-B 세포의 항체-분비 세포로의 빠른 분화는 면역계가 2차 감염 또는 예방접종을 통해 이전에 발견된 병원체에 대한 신속한 반응을 촉진시키는 것을 도울 수 있다 (McHeyzer-Williams 외, Nat Rev Immunol. 2011;12(1):24-34; Taylor 외, Trends Immunol. 2012;33(12):590-7). 예를 들어, 기억 B 세포는 항체 분비 B 세포에 의해 생성된 항체의 수준이 감소 할 때 B형 간염 바이러스에 대한 보호를 유지한다 (Williams 외, Vaccine. 2001;19(28-29):4081-5; Bauer 외, Vaccine. 2006;24(5):572-7). 따라서, 성공적인 백신은 항체-분비 B 세포 및 긴-수명의 기억 B 세포 생성을 자극하며, 이들 세포 모두는 병원체 상의 에피토프에 높은 친화도로 결합하는 항체들을 발현할 수 있다.
- [0029] 불행히도, 백신을 이용할 수 없는 감염원들이 많이 존재한다. 이용가능한 효과적인 백신 전략이 없는 감염원의 예에는 RSV, HIV 및 Zika 바이러스가 포함된다.
- [0030] RSV와 관련하여, 1960년대 포르말린-비활성화 RSV 백신의 비참한 실패는 RSV를 표적으로하는 항체-분비 B 세포 및 기억 B 세포의 유도 실패로 인한 것이 아니었다. 백신은 RSV를 중화시키지 않고 RSV 감염을 강화시키는 항체의 생성을 유도했을 가능성이 있다 (도 2A) (Blanco 외, Hum Vaccin. 2010;6(6):482-92; Broadbent 외, Influenza Other Respir Viruses. 2015;9(4):169-78). 이것은 백신에 의해 구현되어야 하는 섬세한 균형을 강조한다: 부정확한 에피토프를 표적하는 "병원성" 항체의 생성을 자극하지 않으면서 특정 에피토프를 표적하는 "보호" 항체의 생성을 유도한다 (도 2A).
- [0031] 세계 보건기구 국제 임상 시험 등록 플랫폼의 2015년 분석에 따르면 2008년 이후 임상적으로 평가된 9개의 후보 RSV 백신이 확인되었으며 이 중 어느 것도 2 상 시험 이후로 진행되지 않았다 (Broadbent 외, Influenza Other Respir Viruses. 2015;9(4):169-78). 이 중 세 번의 시험만 완료되었으며 한 번만 결과가 보고 되었다. MEDI-559라고하는 이 백신은 RSV 감염을 감소시키는 것으로 보이지만, 추가 시험을 하기에는 호흡기 증상이 너무 과했다 (Malkin 외, PLoS One. 2013; 8 (10) : e77104). 이들 데이터는 MEDI-559가 보호성 항체의 생성을 유도하면서, 또한 병원성 항체의 생성을 유도하였음을 시사한다 (도 2B).
- [0032] 다른 "개선된" 예방접종 전략은 환자에게 투여되는 제형을 변화시키는 것을 포함한다. 여기에는 바이러스를 비활성화/약화시키는 대안적인 방법과 염증 반응 증가를 목표로 하는 보조제 변경이 포함된다 (Broadbent 외, Influenza Other Respir Viruses. 2015;9(4):169-78; Garg 외, The Journal of general virology. 2014;95(Pt 5):1043-54; Swanson 외, J Virol. 2014;88(20):11802-10; Widjaja 외, PLoS One. 2015;10(6):e0130829; Stewart-Jones 외, PLoS One. 2015;10(6):e0128779). 이들 접근법 중 일부는 동물 모델에서 보호 항체를 증가시켰지만, 병원성 항체를 유도할 가능성으로 인해 이러한 "개선된" RSV 백신은 MEDI-559와 동일한 결과를 가져올 수 있다.

- [0033] 보호 항체에 의해 표적화된 에피토프에 대한 면역 반응에 중점을 두기 위한 노력으로, 최근의 접근법은 단일 RSV 에피토프를 비-RSV 스캐폴드에 이식하는 것이었다 (도 2C). 이 접근법은 다른 RSV 에피토프가 스캐폴드에 없기 때문에 다른 RSV 에피토프에 특이적인 병원성 항체의 가능성을 제거한다. 레서스 원숭이의 RSV 에피토프 스캐폴드 예방접종으로 일부 동물이 중화 항체를 생성하였으나, 3-5회 주사 후에만 그러하였다 (Correia 외, Nature. 2014;507(7491):201-6).
- [0034] 예방접종을 우회하고 보호 항체를 직접 제공하는 접근법도 개발되었다. RSV에 대해 임상적으로 승인된 유일한 예방치료는 고 친화성 RSV-특이적 보호 항체 팔리비주맙의 주사이다 (도 3A) (The PREVENT Study Group. Pediatrics. 1997;99(1):93-9; The IMPact-RSV Study Group. Pediatrics. 1998;102(3 Pt 1):531-7). 불행히도, 5개월 일련의 팔리비주맙의 \$10,000 비용은 심각한 RSV 감염으로 인해 고 위험 어린이에 대한 사용이 제한되었다 (Meissner & Kimberlin, Pediatrics. 2013;132(5):915-8). 최대 1년간 지속되도록 설계된 다른 RSV-특이적 항체들은 현재 임상 평가 중이다 (Influenza Other Respir Viruses. 2015;9(4):169-78). 그러나 매년 항체 재주사는 평생의 보호에 적합하지 않다.
- [0035] 평생 주사의 필요성을 제거하기 위해, 아데노바이러스 벡터를 사용하여 보호 항체를 인코딩하는 유전자를 근육 세포로 전달하는 방법이 개발되었다 (도 3B) (Schnepf & Johnson, Curr Opin HIV AIDS. 2014;9(3):250-6). 전 도유망하게는, 팔리비주맙의 아데노바이러스-매개 발현은 RSV 감염으로부터 마우스를 부분적으로 보호하였다 (Skaricic 외, Virology. 2008;378(1):79-85). 그러나 이 접근법의 한계는 보호 수준의 항체를 구현하는 데 필요한 고 용량의 바이러스를 제조함에 비용이 많이 든다는 것이다 (24). 근육 세포에 의한 항체의 발현이 단일 B 세포에 의해 초당 분비되는 추정된 10,000 개의 항체에 비해 낮기 때문에 고용량이 필요하다 (Helmreich 외, J Biol Chem. 1961; 236 : 464-73; Hibi & Dosch, Eur J Immunol.1986; 16 (2) : 139-45). B 세포들은 항체 분비시 집중되는 이들의 단백질 생성 기전을 완전히 재프로그래밍함으로써 높은 분비율을 구현한다. 제조 성능에 있어서의 혁명 없이, 근육 세포로의 아데노바이러스-매개 항체 유전자 전달은 RSV 예방을 위한 현실적인 선택방안이 아니다.
- [0036] 다른 접근법은 보호 항체를 인코딩하는 유전자를 조혈 줄기 세포의 계통에 도입하기 위해 렌티 바이러스 벡터를 사용하며, 이는 후속적으로 항체-분비 B 세포로 분화되도록 유도 될 것이다 (도 3C). 이 접근법의 한 가지 한계는 항체 유전자 삽입이 무작위적이어서, 이는 오프-타겟 유전자 효과로 인해 질병을 유발할 위험이 있다는 것이다. 이 접근법의 두 번째 한계는 조혈 줄기 세포로부터 항체-분비 세포의 분화를 유도하는데 필요한 2개월의 긴 시험관내 배양 조건이다 (Luo 외, Blood. 2009;113(7):1422-31). 마지막 한계는 이러한 전략이 감염시 증대될 수 있는 항체 공급원을 생성하지 않을 것이라는 점이다. 따라서 항체-분비 세포가 많지 않거나 수명이 길지 않으면 감염에 대한 보호가 불충분 할 것이다.
- [0037] 특정 구체예들에서, 본 발명은 선택 항체 (예컨대, 감염원에 대한 항체 (예를 들어, 팔리비주맙;도 4A))를 발현 하도록 B 세포들을 유전자 조작함으로써 반복적인 치료 항체 주사 필요성을 없애고 및/또는 예방접종을 우회하는 것을 제공한다. 유전자 조작에 특히 유용한 B 세포의 유형은 기존의 항체-분비 B 세포, 기억 B 세포, 나이브 B 세포, B1 B 세포 및 가장자리 구역 B 세포를 포함한다. 나이브 B 세포는 가장 큰 증식성 및 기능적 잠재력을 가지며 종자 중심 반응에 진입하여 그들의 결합 능력을 향상시킬 수 있다. B1 B 세포는 BCR을 발현하고 복강과 같은 다른 위치로 이동한다. B1 B 세포는 BCR을 통한 자극시 항체-분비 세포로 빠르게 분화되며, 최적의 기능을 위해 T 세포에 대한 신호를 필요로하지 않는다. 가장자리 구역 B 세포는 대부분 비장의 가장자리 구역에 위치하고 BCR을 통한 자극시 항체 분비 세포로 빠르게 분화된다. 가장자리 구역 B 세포는 또한 최적의 기능을 위해 T 세포로부터의 신호를 필요로하지 않는다. 이러한 B 세포의 서브세트 중 하나 이상의 유전자 조작은 진행중인 또는 즉각적인 감염을 치료하기 위한 기준 수준의 항체 및 차후 재감염시 유도 항체의 장기 공급원을 생성 할 수 있다. 도 4b는 본 발명 내용을 이용하여 수많은 병원체에 대한 동시 보호를 위한 관련 전략을 설명하며, 도 5는 감염의 존재 및 부재하에 예시적인 B 세포 아형에 의한 팔리비주맙의 분비 가설을 도시한다.
- [0038] 본 발명은 내인성 B 세포 계통의 구조 및 기능을 이용하도록 특이적으로 선택된 내인성 항체 유전자좌에 트랜스진을 포함하는 유전자 구조체를 삽입함에 의한 B 세포의 유전자 조작을 제공한다. 예를 들어, 선택 항체의 적어도 일부를 인코딩하는 트랜스진을 내인성 항체 유전자좌로 삽입하면 내인성 항체 발현 조절 기전을 이용함으로써 선택 항체의 강력한 생산을 가능하게 할 수 있다. 트랜스진은 외래 (즉, 외인성) 단백질을 인코딩하는 DNA 구획을 지칭 할 수 있다. 유전자 구조체는 외래 단백질의 발현을 가능하게 하기 위해 세포내로 도입하고자 하는 인공적으로 구성된 핵산 분절을 지칭할 수 있다.
- [0039] 특정 구체예에서, 본 발명은 선택된 항체를 발현하도록 변형된 B 세포를 제공한다. 항체는 중쇄 유전자 및 경

쇄 유전자의 2개 유전자로부터 생성된다. 일반적으로, 항체는 2개의 동일한 중쇄 카피 및 2개의 동일한 경쇄 카피를 포함한다 (예컨대, 도 6B 참고). 중쇄는 상기 2개 중 더 큰 소단위이고 각각의 중쇄는 VDJ 분절 및 불변 영역 (도 6B에서 “ ” 로 제시됨)을 포함한다. VDJ 분절 (또는 VDJ)는 병원체상의 에피토프에 결합하는 항체 중쇄의 고유 부분을 인코딩하는 V, D 및 J 유전자 분절의 고유한 쌍을 지칭한다. 따라서, V는 D 및 J 분절과 무작위로 쌍을 이루어 병원체상의 에피토프에 결합하는 항체 중쇄의 고유 부분을 인코딩하는 유전자 분절들 중 하나를 지칭한다. 유사하게, D는 V 및 J 분절과 무작위로 쌍을 이루어 병원체상의 에피토프에 결합하는 항체 중쇄의 고유 부분을 인코딩하는 유전자 분절들 중 하나를 지칭한다. 마지막으로, J는 V 및 D 분절과 무작위로 쌍을 이루어 병원체상의 에피토프에 결합하는 항체 중쇄의 고유 부분을 인코딩하는 유전자 분절들 중 하나를 지칭한다. 특정 중쇄의 특정 VDJ 분절을 형성하기 위해 다양한 별개의 조합으로 함께 존재할 수 있는 몇 가지 V 분절, D 분절 및 J 분절이 있다 (예를 들어, 도 7 참조).

[0040] 각각의 B 세포는 보존적 불변, C, 영역을 가지는 단 하나의 VDJ 조합과 쌍을 이루어 전장 중쇄를 형성한다. 중쇄 C 영역은 다른 면역 단백질, 가령, Fc 수용체와 상호작용하여 다른 면역 세포를 활성화시킬 수 있다. 모든 나이브 B 세포는 동일한 C 영역 분절을 발현하지만, 활성화 후 상이한 C 영역 분절들을 발현하도록 변경될 수 이으며, 상이한 C 영역들은 항체들에게 상이한 기능들을 제공한다. 예를 들어, 하나의 C 유전자 절편은  $\epsilon$  을 인코딩하며,  $\epsilon$  을 발현하는 항체는 "IgE"이다. IgE-형 항체는 체세포에 결합하여 종종 알레르기 반응을 매개한다.  $\alpha$  C 영역을 발현하는 항체는 IgA 항체이고;  $\gamma$  C 영역을 발현하는 항체는 IgG 항체이고,  $\mu$  C 영역을 발현하는 항체는 IgM 항체이다. 인간 게놈은 염색체 14에 존재하는 단일 중쇄 좌위를 포함한다.

[0041] 다시 도 6B를 보면, 항체의 경쇄 (IgL)는 가변 영역 및 불변 영역을 포함한다. 경쇄 가변 영역은 V 및 J 유전자 분절을 포함하고, 경쇄 불변 영역은 단일 면역글로불린 불변 도메인을 포함 할 수 있다. 인간은 다음 2가지 상이한 경쇄를 발현한다: 염색체 2 상의 면역글로불린 카파 유전자좌에 의해 인코딩되는 Ig $\kappa$  및 염색체 22 상의 면역글로불린 람다 유전자좌에 의해 인코딩되는 Ig $\lambda$ .

[0042] 도 6A는 IgH 사슬 및 IgL 사슬을 인코딩하는 내인성 B 세포 게놈의 개략도를 도시한다. 도 8A 및 8B는 본 발명에 따른 외인성 유전자 구조체들이 삽입되어 선택 항체를 발현시킬 수 있는 경우에 관한 초기 개략도를 도시한다. 도 8A는 [정지 신호, 선택 항체의 IgL 사슬 (여기서, PV), 스킵 요소 (여기서, 2A), 및 중쇄의 VDJ 분절]을 포함하는 유전자 구조체를 내인성 VDJ 분절과 내인성 C 영역 코딩 분절들 사이의 내인성 IgH 게놈에 삽입하는 것을 도시한다. 이러한 접근법은 전체 외인성 IgL 사슬, 중쇄의 외인성 VDJ 분절, 및 중쇄의 내인성 C 영역의 발현을 초래한다. 내인성 C 영역을 포함하는 항체의 발현은, 예를 들어, 이것이 변형된 B 세포로 하여금 자연 B 세포 활성화 및 성숙 상태에 기초하여 C 영역 발현을 조절할 수 있게 하기 때문에 유용 할 수 있다. 예를 들어, 중쇄 유전자좌의 불변 영역에서의 대안적 스플라이싱은 변형된 B 세포로 하여금 막-결합 항체의 발현과 분비된 항체의 발현 사이를 전환하게 할 수 있다. 이 접근법은 또한 내인성 VDJ의 절제없이 외인성 VDJ의 발현을 허용한다. 이러한 특징은 VDJ가 비교적 큰 DNA 분절이고 이의 절제는 세포 기능에 부정적인 영향을 줄 수 있기 때문에 유익하다.

[0043] 도 9는 내인성 B 세포 게놈의 구조 및 기능, 및 본 발명이 선택 항체를 발현시키기 위해 이러한 구조 및 기능을 어떻게 이용하는지에 관하여 보다 상세히 설명한 유사한 개략도를 도시한다. 프로모터 영역은 유전자 분절의 전사를 구현하는데 필요하다. 중쇄 가변 영역 ( $V_H$ ) 프로모터는 B 세포 계통에서 선택적으로 활성화되며, 전사 개시 부위의 100 염기쌍 (bp) 내의 TATA 박스, Inr 요소 및 옥타머 요소를 포함한다.  $V_H$  프로모터 활성화는 내인성 B 세포 게놈의  $E_{\mu}$  인핸서 요소 (회색 타원) 및 중쇄  $\alpha$  불변 유전자에 근접하게, 중쇄 유전자좌의 3' 단부에 위치한 인핸서 요소 (회색 원)에 의하여 근접-의존적으로 조절된다.  $E_{\mu}$  인핸서 요소는 면역글로불린 중쇄 유전자좌의 J 중쇄 분절과 C  $\mu$  ( $\mu$ ) 분절 사이의 700-bp 인트론 내부에 있는 DNA의 인트론 영역 (40 내지 1500 bp 길이)이다. 그것은 활성화제 단백질에 결합하여 중쇄 유전자의 전사를 증가시키거나 활성화시킬 수 있다. 인간  $E_{\mu}$  인핸서 요소의 서열은 서열 번호: 85로 도 11A에 제공되어 있다. 마우스  $E_{\mu}$  인핸서 요소의 서열은 서열 번호: 86으로 도 13A에 제공되어 있다.

[0044] 내인성 중쇄 가변 영역과 내인성  $E_{\mu}$  인핸서 사이에  $V_H$  프로모터를 포함하는 유전자 구조체를 삽입하면 내인성  $V_H$  프로모터로부터의 전사 활성화를 감소시키거나 차단할 수 있는데, 그 이유는  $E_{\mu}$  인핸서는 가장 근접한 상류 프로모터에서 전사를 개시하기 때문이다. 이러한 방식으로, 내인성 VDJ의 발현은 이러한 큰 DNA 분절 (표시된 바와 같이, 이것은 세포 기능 및 생존에 문제가 될 수 있음)을 제거할 필요없이 차단 될 수 있다. 특정 구체예에서, VDJ 재조합은  $V_H$  프로모터와  $E_{\mu}$  인핸서 사이의 유전 물질을 제거하며, 본 명세서에 개시된 유전자 구조



체의 외인성 프로모터로부터 적절한 거리에 인헨서를 위치시켜, 삽입되는 유전자 구조체 내의 프로모터로부터 시작하는 전사를 활성화시킨다. 특정 구체예들에서, 내인성 유전 물질은 제거되지 않는다. 특정 구체예에서, 50 개 미만의 염기쌍들이 제거된다. 특정 구체예들에서, 외인성 유전자 구조체 내부의 V<sub>H</sub> 프로모터들은 IgK 또는 IgL의 고유 경쇄 프로모터, 고유 인간 IgH 프로모터, 비장 병소 형성 바이러스 프로모터 SFFV, J558 h10 프로모터 또는 IgVH1-69 프로모터를 포함한다.

[0045] 도 10은 유전자 구조체 삽입을 위한 표적 영역에 대한 또 다른 개략도를 제공한다. 이들 표적 영역은 모든 B 세포에 존재하는 다음 2가지 보존된 영역을 포함한다: 말단 J 유전자 분절 (인간에서 IGHJ6, 마우스에서 IGHJ4)로부터 중쇄 인트론 인헨서 (E<sub>μ</sub>)까지, 및 E<sub>μ</sub>로부터 DNA 전환 재조합과 관련된 반복 서열까지.

[0046] 특정 구체예에서, 유전자 구조체의 삽입을 위해 표적되는 내인성 B 세포 게놈 영역은 서열 번호: 85 또는 86의 E<sub>μ</sub> 인헨서 상류에 있다. 도 11A-14B는 본 명세서에 개시된 선택 항체의 발현을 구현하기 위한 유전자 구조체 삽입을 위해 표적될 수 있는 특정 서열을 제공한다.

[0047] 도 11A는 IGHJ6 내지 E<sub>μ</sub> 인트론 인헨서의 인간 DNA 서열을 제공한다 (서열 번호: 1; >hg38\_dna 범위=chr14:105862523-105863244 5'pad=0 3'pad=0 가닥=- 반복마스킹=없음). 도 11B는 서열 번호: 5-24 및 관련 gRNA 서열들 (서열 번호: 88, 89, 및 290-307)을 비롯하여 이러한 서열 내부의 예시 표적 범위들 (예컨대, gRNA 부위들)을 제공한다. 예로서, 특정 구체예들에서, 서열 번호: 88의 sgRNA (또한 도 25A 참고)가 서열 번호: 7의 gRNA 부위를 표적하기 위해 사용될 수 있다. 특정 구체예들에서, 서열 번호: 89의 sgRNA (또한 도 25A 참고)가 서열 번호: 10의 gRNA 부위를 표적하기 위해 사용될 수 있다.

[0048] 도 12A는 영역 2: E<sub>μ</sub> 인트론 인헨서 내지 전환 영역까지에 대한 인간 DNA 서열을 제공한다 (서열 번호: 2; >hg38\_dna 범위=chr14:105860383-105861690 5'pad=0 3'pad=0 가닥=-). 도 12B는 서열 번호: 25-44 및 관련 gRNA 서열 (서열 번호: 308-327)을 비롯하여 이러한 서열 내부의 예시 표적 범위들 (예를 들어, gRNA 부위)을 제공한다.

[0049] 도 13A는 영역 1: IGHJ4로부터 E<sub>μ</sub> 인트론 인헨서까지에 대한 마우스 DNA 서열을 제공한다 (서열 번호: 3; >mm10\_dna 범위=chr12:113427973-113428554 5'pad=0 3'pad=0 가닥=- 반복마스킹=없음). 도 13B는 서열 번호: 45-64 및 관련 gRNA 서열 (서열 번호: 87 및 328-346)을 비롯하여 이러한 서열 내부의 예시 표적 범위들 (예를 들어, gRNA 부위)을 제공한다. 예로서, 특정 구체예들에서, 서열 번호: 87의 sgRNA (또한 도 25A 참고)가 서열 번호: 46의 gRNA 부위를 표적하기 위해 사용될 수 있다.

[0050] 도 14A는 영역 2: E<sub>μ</sub> 인트론 인헨서로부터 전환 영역까지에 대한 마우스 DNA 서열을 제공한다 (서열 번호: 4; >mm10\_dna 범위=chr12:113425446-113426973 5'pad=0 3'pad=0 가닥=- 반복마스킹=없음). 도 14B는 서열 번호: 65-84 및 관련 gRNA 서열 (서열 번호: 347-366)을 비롯하여 이러한 서열 내부의 예시 표적 범위들 (예를 들어, gRNA 부위)을 제공한다.

[0051] 그러므로, 특정 구체예들에서, 본 발명은 (i) 프로모터 및 (ii) 모든 B 세포들에서 불변인 인트론 영역에서 선택 항체의 일부를 인코딩하는 트랜스진 (재조합 전 및 후)을 포함하며 그리고 (i) 상기 프로모터와 상호작용하는 인헨서 요소에 대해 배치되고; 그리고 (ii) B 세포들의 내인성 중쇄 VDJ 서열이 발현되지 않게 하는 구조의 유전자 구조체의 표적화된 삽입을 제공한다. 특정 구체예들에서, 선택 항체의 인코딩된 부분은 항체의 전체 경쇄 및 중쇄의 VDJ 분절을 포함한다. 이러한 선택 항체 부분들은 임의의 주어진 시간에 변형된 B 세포에 의해 발현되는 중쇄 불변 영역과 함께 발현될 수 있다. 유전자 구조체의 특정 구체예는 또한 신호 펩티드, 가요성 링커, 스킵 요소 및/또는 스플라이스 접합을 포함하거나 인코딩 할 수 있다.

[0052] 본 발명의 하나의 기술적 과제는 항체가 2개의 별개의 유전자 생성물, 중쇄 (IgH) 및 경쇄 (IgL)로 제조된 단백질이라는 것이다 (도 6A, 6B). 이는, 특정 구체예에서, 선택 항체를 적절히 발현시키기 위해 두 유전자 위치 모두가 동시에 변형되어야 한다는 것을 의미한다. 그러나, 본 발명은 또한 두 유전자 위치 모두를 변형시킬 필요 없이 기능적으로 선택된 항체를 생성하는 전략을 제공한다. 이를 가능하게 하는 한 가지 접근법은 단일 구조체를 통한 항체 발현을 가능하게 하는 서열들의 사용에 의한 것이다. 특정 구체예에서, 이것은 유전자 구조체 내에 스킵 요소를 포함시킴으로써 구현된다. 스킵 요소의 한 예는 자기-절단 펩티드, 가령, 자기-절단 “” 펩티드이다. 2A 펩티드는 리보솜으로 하여금 정의된 위치에서 펩티드 결합의 합성을 건너뛰도록 기능하여, 하나의 mRNA로부터 2개의 단백질을 생성하게 한다. 2A 서열들은 짧아서 (예컨대, 20개 아미노산), 크기-제한된 구조체들에서의 사용을 용이하게 하고, 단백질을 1:1 비율로 생성한다. 특정 예는 T2A (GSG)EGRGSLTLCGDVEENPGP (서열 번호: 176); P2A (GSG)ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호: 177); E2A (GSG)QCTNYALLKLAGDVES NPGPP (서열 번호:

178); 및 F2A (GSG)VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호: 179)를 포함한다.

- [0053] 특정 구체예들에서, 유전자 구조체들은 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 서열을 포함한다. IRES는 유전자 구조체의 중쇄 VDJ의 상류에 위치 될 수 있다. IRES는 비-코딩 구조화 된 RNA 서열로서, 리보솜이 mRNA 분자상의 제 2 내부 부위에서 번역을 개시하게 하여 하나의 mRNA로부터 2 개의 단백질을 생성시킨다. 그러나, IRES 유도된 번역은 2A 유도된 번역보다 덜 효율적이므로, 전사체에서 제 2 단백질의 발현이 저하된다.
- [0054] 특정 구체예에서, 유전자 구조체는 선택 항체의 경쇄 부분과 선택 항체의 중쇄 부분 사이의 가요성 링커를 인코딩한다. 링커는 연결된 서열이 상호작용하여 기능적 단위를 형성하게 하는 방식으로 하나의 단백질 도메인을 또 다른 단백질 도메인에 유연하게 연결시키는 일련의 아미노산 일 수 있다.
- [0055] 특정 서열에서, 가요성 링커는 글리신 및 세린의 하나 이상의 일련의 조합을 포함 할 수 있으며, 이러한 조합은 링커 서열에 가요성을 제공한다. 예시 Gly-Ser 링커는 (GGS)<sub>n</sub> (서열 번호: 180), (GGGS)<sub>n</sub> (서열 번호: 181), 및 (GGGGS)<sub>n</sub> (서열 번호: 182)을 포함하며 이 때 n = 1 - 100 및 이들 사이의 모든 정수이다. 특정 구체예들에서, n = 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30이다. 특정 구체예들에서, Gly-Ser 링커는 50-80개 아미노산을 포함한다. 특정 구체예들에서, Gly-Ser 링커는 54, 57, 또는 60개 아미노산을 포함한다. 특정 구체예들에서, Gly-Ser 링커는 서열 번호: 116에 의해 인코딩된다. 특정 구체예들에서, Gly-Ser 링커는 서열 번호: 122를 포함한다.
- [0056] 가요성 링커의 또 다른 예들은 (KESGVSSEQLAQFRSLD)<sub>n</sub> (서열 번호: 183) 및 (EGKSSGSGSESKST)<sub>n</sub> (서열 번호: 184)을 포함한다. 이들 링커에서, 링커 내의 Gly 및 Ser 잔기는 가요성을 제공하도록 설계된 반면, Glu 및 Lys는 용해도를 향상시키기 위해 첨가되었다. Bird, RE 외 Science, 1988;242:423-426. 특정 구체예들에서, n = 1 - 100 및 이들 사이의 모든 정수이다. 특정 구체예들에서, n = 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 또는 30이다. 특정 구체 예에서, 이들 링커는 50-80개 아미노산을 포함한다.
- [0057] 특정 구체예는 유전자 구조체에 의해 인코딩되는 RNA와 내인성 중쇄 불변 영역에 의해 인코딩되는 RNA 사이의 스플라이싱을 허용하는 스플라이스 접합을 포함한다. 특정 구체예들에서, 유전자 구조체들은 3' 단부에 스플라이스 접합 서열을 포함한다. 스플라이싱은 스플라이세오좀으로 알려진 RNA/단백질 복합체에 의한 인트론의 제거 및 엑손의 결합을 의미 할 수 있다. 스플라이스 접합은 엑손에 직접 연결하는 인트론 서열을 지칭한다. 엑손의 3' 단부의 스플라이스 접합은 스플라이스 공여자 부위를 포함 할 수 있다. 스플라이스 공여자 부위 서열은 일반적으로 "GU"로 시작한다. 특정 구체예들에서, 스플라이스 접합은 40-80 bp의 인트론, 이어서 VDJ의 마지막 엑손을 포함할 수 있다. 특정 구체예들에서, 스플라이스 접합은 인간 IGHI1 유전자 분절 또는 마우스 IGHI3 유전자의 3' 단부에 연결한 40-80 bp의 인트론을 포함한다. 특정 구체예에서, 스플라이스 접합은 CAG/gtaagt를 포함하며, 절단 및 스플라이스는 대문자 G 이후에 발생한다 ("스플라이스" 주석으로 표시). 특정 구체예들에서, 스플라이스 접합은 CAG/gtgagt를 포함한다. CA는 세린 코돈의 단부를 형성하고, G는 불변 영역에서 첫 번째 코돈을 시작한다. 특정 구체예들에서, 연결 서열을 가지는 스플라이스 접합은 인간 유전자좌에 삽입하기 위한 유전자 구조체에 서열 번호: 124 또는 151을 포함한다. 특정 구체예들에서, 연결 서열을 가지는 스플라이스 접합은 마우스 유전자좌에 삽입하기 위한 유전자 구조체에 서열 번호: 139를 포함한다.
- [0058] 본 명세서에 개시된 유전자 구조체들은 또한 신호 펩티드를 인코딩 할 수 있다. 예시 신호 펩티드는 인간 Igh 중쇄에서 유래한 신호 펩티드, 가령, MELGLSWIFLLAILKGVQC (서열 번호: 185); MELGLRWVFLVAILEGVQC (서열 번호: 186); MKHLWFFLLLVAAAPRWVLS (서열 번호: 187); MDWTWRILFLVAAATGAHS (서열 번호: 188); MDWTWRFLFVVAATGVQS (서열 번호: 189); MEFGLSWFLVAILKGVQC (서열 번호: 190); MEFGLSWVFLVALFRGVQC (서열 번호: 191); 및 MDLLHKNMKHLWFFLLLVAAAPRWVLS (서열 번호: 192); 그리고 인간 Igl 경쇄에서 유래한 신호 펩티드, 가령, MDMRVPAAQLGLLLWLSGARC (서열 번호: 193); 및 MKYLLPTAAAGLLLLAAQPAMA (서열 번호: 194)를 포함한다. 특정 구체예들에서, 신호 펩티드는 서열 번호: 112에 의해 인코딩되고 인간 유전자좌에 삽입하기 위한 유전자 구조체에 서열 번호: 118을 포함한다. 특정 구체예들에서, 신호 펩티드는 서열 번호: 129에 의해 인코딩되고 마우스 유전자좌에 삽입하기 위한 유전자 구조체에 서열 번호: 134를 포함한다. 또한 도 25B-25I 및 Haryadi R 외, tPLoS One v.10(2); 2015 PMC4338144를 참고하라.
- [0059] 나타낸 바와같이, 본 발명의 특정 구체예는 내인성 B 세포 계능 내부의 표적된 위치에서 외인성 유전자 구조체들의 삽입을 이용한다. 특정 구체예들에서, 이러한 표적된 삽입은 유전자 구조체의 한 쪽 또는 양쪽 단부들 모두에 상동성 영역을 포함함으로써 용이해질 수 있다. 상동성 영역 (즉, 상동성 스티치 또는 상동성 아암)은 원하는 삽입 부위의 서열들에 상동성이다. 특정 구체예들에서, 상동성 아암은 변형되는 DNA 영역에 100% 동일한,

유전자 구조체에 포함된 DNA 분절들을 지칭한다. 특정 구체예에서, 표적화된 삽입을 구현함에 100% 동일성이 필요하지 않을 수 있다 (예를 들어, 적어도 90% 동일성이 충분할 수 있음).

[0060] 상동성 영역들은 유전자 구조체를 표적된 유전자 영역 옆에 정렬되게 하고, 유전자 구조체의 DNA 부분들은 유전자 편집 기술에 의해 절단된 영역으로 교체된다. 특정 구체예들에서, 유전자 구조체는 20 내지 1,500 bp의 게놈 상동성을 가지는 상류 게놈 상동성 단부, 및 20 내지 1,500 bp의 게놈 상동성을 가지는 하류 게놈 상동성 단부를 포함할 수 있다. 상동성 영역은 예를 들어 도 15A에 도시된 바와 같이 "상동성 스티치"를 제공 할 수 있는데, 이는 표적화된 삽입 부위 내부로의 유전자 구조체의 삽입을 매개 할 수 있다. 특정 구체예에서, 상류 게놈 상동성 단부 및 하류 게놈 상동성 단부는 중쇄 VDJ 영역과 중쇄 E $\mu$  인핸서 요소 사이의 게놈 서열에 상동성을 갖는 서열을 포함 할 수 있다. 특정 구체예에서, 상동성 영역은 특히 20-50개의 염기쌍; 300-500개 염기쌍; 350-550개 염기쌍; 900-1,000개 염기쌍 또는 400-600개 염기쌍을 포함할 수 있다. 특정 구체예들에서, 상동성 영역은 특히 30-40개 염기쌍 (예컨대, 36개 염기쌍); 445-455개 염기쌍 (예컨대, 450개 염기쌍); 495-510개 염기쌍 (예컨대, 503개 염기쌍); 및/또는 960-980개 염기쌍 (예컨대, 968개 염기쌍)을 포함할 수 있다. 특정 구체예들에서, 마우스 유전자 구조체에 사용하기 위한 상동성 영역은 서열 번호: 90, 91, 96, 97, 127, 140, 142, 143, 170, 및 171을 포함한다. 특정 구체예들에서, 인간 유전자 구조체에 사용하기 위한 상동성 영역은 서열 번호: 92-95, 98-101, 110, 125, 153, 173, 및 174를 포함한다.

[0061] 특정 구체예들에서, 유전자 구조체는 또한 태그 서열을 인코딩한다. 태그 서열은, 예를 들어, 유전자 구조체를 발현하는 세포가 유전자 변형 과정 동안 확인 및/또는 분류 될 수 있게 하고 및/또는 대상체에게 투여 후 제어 될 수 있으므로 유용 할 수 있다. 예를 들어, 특정 구체예에서, 대상체에게 투여 후 유전자 변형된 세포를 추적 및/또는 종결시키는 것이 유용 할 수 있다. 예시 태그들에는 STREPTAG<sup>®</sup> (GmbH, LLC, Gottingen, DE), STREP<sup>®</sup> 태그 II (WSHPQFEK (서열 번호: 195)), 또는 이의 임의의 변이체; *예컨대*, 미국 특허 제 7,981,632 참조), His 태그, Flag 태그 (DYKDDDDK (서열 번호:196)), Xpress 태그 (DLYDDDDK (서열 번호: 197)), Avi 태그 (GLNDIFEAQKIEWHE (서열 번호: 198)), 칼모듈린 태그 (KRRWKKNFIAVSAANRFKKISSSGAL (서열 번호: 199)), 폴리글루타메이트 태그, HA 태그 (YPYDVPDYA (서열 번호: 200)), Myc 태그 (EQKLISEEDL (서열 번호: 201)), Nus 태그, S 태그, SBP 태그, Softag 1 (SLAELLNAGLGGS (서열 번호: 202)), Softag 3 (TQDPSRVG (서열 번호: 203)), 및 V5 태그 (GKPIPNPLLGLDST (서열 번호: 204))가 포함된다.

[0062] 특정 구체예들에서, 본 발명은 (i) 중쇄 프로모터, 및/또는 (ii) 번역글로불린 경쇄, 및/또는 (iii) 중쇄 가변 영역, 및/또는 (iv) 정지 코돈; 및/또는 (v) 스킵 요소 및/또는 (vi) 스플라이스 접합 및/또는 (vii) 상동성 아암 및/또는 (viii) 링커 및/또는 (ix) 태그를 포함 또는 인코딩하는 선택 항체 발현을 위한 유전자 구조체를 제공한다.

[0063] 특정 구체예는 다음을 포함 또는 인코딩한다: (i) 중쇄 프로모터; (ii) 신호 펩티드; (iii) 선택 항체의 전체 경쇄; (iv) 가요성 링커 또는 스킵 요소; (v) 선택 항체 중쇄의 가변 영역; 및 (vi) 스플라이스 접합.

[0064] 특정 구체예는 다음을 포함 또는 인코딩한다: (i) 중쇄 프로모터; (ii) 신호 펩티드; (iii) 선택 항체의 전체 경쇄; (iv) 가요성 링커 또는 스킵 요소; (v) 선택 항체 중쇄의 가변 영역; (vi) 스플라이스 접합, 및 (vii) 상동성 아암.

[0065] 특정 구체예는 다음을 포함 또는 인코딩한다: (i) 중쇄 프로모터; (ii) 신호 펩티드; (iii) 선택 항체의 전체 경쇄; (iv) 가요성 링커 또는 스킵 요소; (v) 선택 항체 중쇄의 가변 영역; (vi) 스플라이스 접합, (vii) 상동성 아암; 및 (viii) 태그.

[0066] 도 15B는 DNA 복구 템플릿의 또 다른 예를 도시한다. 또한 사용될 수 있는 DNA 복구 템플릿의 예들에는 합성 DNA 템플릿 및 아데노-연관 바이러스가 포함된다. 특정 구체예들에서, 합성 DNA 템플릿은 프로모터 및 게놈의 표적 부위에 상동성인 20-1,500개 염기쌍에 의해 연결된 선택 항체 부분을 포함 또는 인코딩하는 이중 가닥 DNA (dsDNA)를 포함할 수 있다. 특정 구체예들에서, 합성 DNA 템플릿은 프로모터 및 게놈의 표적 부위에 상동성인 10-80개 염기쌍, 또는 400-1000개 염기쌍에 의해 연결된 선택 항체 부분을 포함 또는 인코딩하는 단일 가닥 DNA (ssDNA)를 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 합성 DNA 템플릿은 DNA 결합 효율을 증가시키기 위해 인산화에 의해 말단 변형된 dsDNA 및 ssDNA 둘 모두를 포함 할 수 있다. 특정 구체예에서, dsDNA 및 ssDNA는 모두 포스포로티오에이트 결합으로 말단 변형되어 안정성을 증가시키고 엔도뉴클레아제 소화를 방지 할 수 있다.

[0067] 특정 구체예들에서, 아데노-연관 바이러스는 게놈의 표적 부위에 상동성인 20-1,500개 염기쌍에 의해 연결된 합성 항체 부분을 인코딩하는 분절을 포함할 수 있다. 특정 구체예에서, 프로모터 및 합성 항체 부분 인코딩 서열

은 상동성 서열을 게놈의 표적 부위에 매칭시킴으로써 연결될 수 있다.

- [0068] 특정 구체예들에서, DNA 복구 메커니즘 (예컨대, 상동성 스티치, 합성 DNA 템플릿)을 포함하는 유전자 구조체는 하기 보다 상세히 기재된 바와 같은 유전자 편집 시스템, 가령, CRISPR, TALENs, 메가TALs, 징크 핑거 뉴클레아제 및/또는 아데노-연관 바이러스를 이용하여 전달될 수 있다. 예를 들면, 본 명세서에 기재된 게놈 표적화 요소, 게놈 절단 요소, 및 유전자 구조체가 B 세포에 투여될 수 있다.
- [0069] 본 발명 응용의 특정 예로서, B 세포는 팔리비주맵 항체를 발현하도록 변형될 수 있다. B 세포는 2A 펩티드에 의해 분리된 팔리비주맵으로부터의 완전 경쇄 (IgLPV) 및 VDJ 중쇄 유전자 분절들 (VDJPV)의 상류에 중쇄 프로모터에 연결한 80 bp의 상동성 아암을 포함하는 유전자 구조체로 변형될 수 있다. 여기서, 2A 펩티드는 리보솜 스킵 발생을 유도하기 위해 포함되며 (Donnelly 외, The Journal of general virology, 2001;82(Pt 5):1013-25), 이는 중쇄와 경쇄가 일반적으로 결합하여 선택 항체를 형성하게 되는 별도의 소단위체로서 생성되게 한다. 특정 구체예들에서, 정지 코돈은 내인성 중쇄 가변 영역의 임의의 가능한 전사를 정지시키기 위해 삽입된 중쇄 프로모터의 상류에 포함될 수 있다.
- [0070] 도 16은 "변형된" B 세포 게놈의 예를 도시한 반면, 도 17은 선택 항체를 발현하는 생성된 B 세포 집단을 도시한다.
- [0071] 하기 단락은 (i) 예시적 선택 항체 및 서열들; (ii) 유전자 편집 기술 및 세포 분류; (iii) 변형 B 세포의 제조; 및 (iv) 사용방법에 관하여 보다 상세한 설명을 제공한다.
- [0072] (i) 예시적 선택 항체 및 서열들. 특정 구체예들에서, 선택 항체는 병원체 또는 병태 (예를 들어, 자가면역 질환)에 대한 보호 효과를 제공 할 수 있는 항체이다. 특정 실시 양태에서, 선택 항체는 항-RSV 항체, 항-HIV 항체, 항-댕기 바이러스 항체, 항-보르다텔라 페르투스스 항체, 항-C 형 간염 항체, 항-인플루엔자 바이러스 항체, 항-파라인플루엔자 바이러스 항체, 항-메타뉴모바이러스 (MPV) 항체, 항-사이토메갈로바이러스 항체, 항-엡스타인 바 바이러스 항체; 항-단순 헤르페스 바이러스 항체, 항-클로스트리디움 디피실레 박테리아 독소 항체, 또는 항-종양 괴사 인자 (TNF) 항체이다.
- [0073] 특정 구체예들에서, 선택 항체는 키메라 항체이다. 특정 구체예들에서, 키메라 항체는 다음을 포함하는 합성 상체를 지칭한다: (i) B 세포의 내인성 게놈에 의해 인코딩되는 최소한 하나의 부분, 및 (ii) 삽입된 유전자 구조체에 의해 인코딩되는 최소한 하나의 부분. 특정 구체예들에서, 키메라 항체는 내인성 중쇄 불변 도메인, 외인성 면역글로불린 가변 및 불변 경쇄 및 외인성 가변 중쇄를 포함한다.
- [0074] 다음의 항체 및 서열들은 관심 병원체 또는 항원들에 대한 표적화된 결합을 선택 항체에 제공함에 유용하다 (달리 언급이 없는 한, 카뎀 넘버링을 의미한다):
- [0075] 예시 항-RSV 항체는 팔리비주맵이며, 이는 RSV 융합 단백질을 표적하며 RSV 감염을 예방 또는 감소시키기 위해 사용된다.
- [0076] 특정 구체예들에서, 항-RSV 항체는 다음을 포함하는 가변 중쇄 서열:
- [0077] QVELQESGPGILQPSQTLSTLCSFSGFSLSTSGMSVGWIRQPSGEGLEWLADIWDDKKDYNPSLKSRLTISKDTSSNQVFLKITGVDTADTATYYCARSMITNWFYFDVWGAGTTTVSS (서열 번호: 138); 및 다음을 포함하는 가변 경쇄 서열:
- [0078] DIQLTQSPAIMASPGKEKVTMTCSASSSVGYMHYQQLSTSPKLQIYDTSKLASGVPGRFSGSGSGNSYSLTISSIQAEADVATYYCFRSGYPFTFGQGTLLEIK (서열 번호: 205)을 포함하는 마우스 팔리비주맵이다.
- [0079] 추가의 예시 항-RSV 항체는 인간 팔리비주맵이며 다음을 포함하는 가변 경쇄 서열:
- [0080] DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCKCQLSVGYMHYQKPKGKAPKLLIYDTSKLASGVPGRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDFATYYCFQSGYPFTFGGGTKLEIKR (서열 번호: 206); 및 다음을 포함하는 가변 중쇄 서열:
- [0081] QVTLRSGPALVKPTQLTLTCTFSGFSLSTSGMSVGWIRQPPGKALEWLADIWDDKKDYNPSLKSRLTISKDTSKNQVVLKVTNMDPADTATYYCARSMITNWFYFDVWGAGTT (서열 번호: 123)을 포함한다.
- [0082] 가변 중쇄 및 가변 경쇄 내부에서, 상보성 결정 영역 (CDR)으로 지칭되는 분절들은 에피토프 결합을 지시한다. 각각의 중쇄는 3개의 CDR (즉, CDRH1, CDRH2 및 CDRH3)을 갖고, 각각의 경쇄는 3개의 CDR (즉, CDRL1, CDRL2 및 CDRL3)을 갖는다.
- [0083] 또 다른 예시적 항-RSV 항체는 미국 특허 제 9,403,900에 기재되어 있다. 이러한 항-RSV 항체는 GASINSDNYWT



(서열 번호: 207)을 포함하는 CDRH1 서열, HISYTGNTYYTPSLKS (서열 번호: 208)을 포함하는 CDRH2 서열, 및 CGAYVLISNCGWFDS (서열 번호: 209)을 포함하는 CDRH3 서열을 포함하는 가변 중쇄; 및 QASQDISTYLN (서열 번호: 210)을 포함하는 CDRL1 서열, GASNLET (서열 번호: 211)을 포함하는 CDRL2 서열, 및 QQYQYLPYT (서열 번호: 212)을 포함하는 CDRL3 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함한다.

[0084] 예시 항-RSV 항체들은 또한 AB1128 (MILLIPORE로부터 구입가능) 및 ab20745 (ABCAM으로부터 구입가능)를 포함한다.

[0085] 항-HIV 항체의 예는 10E8이며, 이는 gp41에 결합하는 광범위 중화 항체이다. 10E8 항-HIV 항체는 GFDFDNAW (서열 번호: 213)을 포함하는 CDRH1 서열, ITGPGEWSV (서열 번호: 214)를 포함하는 CDRH2 서열, 및 TGKYDFWSGYPPGEEYFQD (서열 번호: 215)를 포함하는 CDRH3 서열을 포함하는 가변 중쇄; 및 TGDLSRSHYAS (서열 번호: 216)을 포함하는 CDRL1 서열, GKNNRPS (서열 번호: 217)을 포함하는 CDRL2 서열, 및 SSRDKSGSRLSV (서열 번호: 218)을 포함하는 CDRL3 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함한다.

[0086] 항-HIV 항체의 또 다른 예는 VRC01로서, 이는 gp120의 CD4 결합 부위에 결합하는 광범위 중화 항체이다. VRC01 항체는 GYEFIDCT (서열 번호: 219)를 포함하는 CDRH1 서열, KPRGGAVN (서열 번호: 220)을 포함하는 CDRH2 서열, 및 RGKNCYNDWDFEHW (서열 번호: 221)을 포함하는 CDRH3 서열을 포함하는 가변 중쇄; 및 QYGS를 포함하는 CDRL1 서열, SGS를 포함하는 CDRL2 서열, 및 QQYEF (서열 번호: 222)를 포함하는 CDRL3 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함한다.

[0087] 예시 항-HIV 항체는 또한 ab18633 및 39/5.4A (ABCAM로부터 구입가능); 및 H81E (THERMOFISHER로부터 구입가능)를 포함한다.

[0088] 항-덴기 바이러스 항체의 한 예는 미국 출원 20170233460에 기재된 항체 55로서 EVQLHQSGAELVKPGASVKLSCTVSGFNIK (서열 번호: 223)를 포함하는 CDRH1 서열, WVKQRPEQGLEWI (서열 번호: 224)를 포함하는 CDRH2 서열, 및 ATIKADTSSNTAYLQLISLTSEDAVYYCAF (서열 번호: 225)를 포함하는 CDRH3 서열을 포함하는 가변 중쇄; 및 DIQMTQSPASLSVSVGETVTITC (서열 번호: 226)을 포함하는 CDRL1 서열, WYQKQKGKSPQLLVY (서열 번호: 227)을 포함하는 CDRL2 서열, 및 GVPSRFSGSGGTQYSLKINSLQSEDFGTYIC (서열 번호: 228)을 포함하는 CDRL3 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함한다.

[0089] 항-덴기 바이러스 항체의 또 다른 예는 미국 특허 제 8,637,035에 기재된 DB2-3이며 YTFTDYAIT (서열 번호: 229)를 포함하는 CDRH1 서열, GLISTYYGDSFYNQKFKG (서열 번호: 230)을 포함하는 CDRH2 서열, 및 TIRDGKAMDY (서열 번호: 231)을 포함하는 CDRH3 서열을 포함하는 가변 중쇄; 및 RSSQSLVHSGNTYLH (서열 번호: 232)를 포함하는 CDRL1 서열, KVSNRFS (서열 번호: 233)을 포함하는 CDRL2 서열, 및 SQSTHVPYT (서열 번호: 234)를 포함하는 CDRL3 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함한다. 항-덴기 바이러스 항체들의 예는 또한 ab155042 및 ab80914를 포함한다 (둘 모두 ABCAM로부터 구입가능).

[0090] 항-백일해 항체의 한 예는 미국 특허 제 9,512,204에 기재되어 있으며 QVQLQQPGSELVRPGASVKLSCKASGYKFTSYWMHWVKRPGQGLEWIGNIFPGSGSTNYDEKFNKATLTVDTSSNTAYMQLSSLTSEDSAVYYCTRWLSGAYFDYWGGQTTVTVSS (서열 번호: 235)를 포함하는 가변 중쇄 및 QIVLTQSPALMSASPGEKVTMTCSASSVSFMYWYQQKPRSSPKPWIIYLTSLNPSGVPARFSGSGSGTSYSLTISSEAEADAATYYCQQWSSHPPTFGSGTKLEIK (서열 번호: 236)을 포함하는 가변 경쇄를 포함한다.

[0091] 항-C형 간염 항체의 한 예는 SYGMHW (서열 번호: 237)을 포함하는 CDRH1 서열, VIWLDGSNTYYADSVKGR (서열 번호: 238)를 포함하는 CDRH2 서열, 및 ARDIFTVARGVIIYFDY (서열 번호: 239)를 포함하는 CDRH3 서열을 포함하는 가변 중쇄; 및 RASQSVSSYLA (서열 번호: 240)을 포함하는 CDRL1 서열, DASNRAT (서열 번호: 241)을 포함하는 CDRL2 서열, 및 QQRSNWVT (서열 번호: 242)를 포함하는 CDRL3 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함한다. Examples of 항-C형 간염 항체들의 예는 또한 MAB8694 (MILLIPORE로부터 구입가능) 및 C7-50 (ABCAM으로부터 구입가능)를 포함한다.

[0092] 항-인플루엔자 바이러스 항체의 한 예는 미국 특허 제 9,469,685에 기재되어 있으며 GMTSNSLA (서열 번호: 243)를 포함하는 CDRH1 서열, IIPVFETP (서열 번호: 244)를 포함하는 CDRH2 서열, 및 ATSAGGIVNYYLSFNI (서열 번호: 245)를 포함하는 CDRH3 서열을 포함하는 가변 중쇄; 및 QTITTW (서열 번호: 246)을 포함하는 CDRL1 서열, KTS를 포함하는 CDRL2 서열, 및 QQYSTYSGT (서열 번호: 247)을 포함하는 CDRL3 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함한다. 항-인플루엔자 바이러스 항체의 한 예는 또한 C102 (THERMOFISHER로부터 구입가능)를 포함한다.



- [0093] 예시 항-MPV 항체는 MPE8을 포함한다.
- [0094] 예시 항-CMV 항체는 MCMV5322A, MCMV3068A, LJP538, 및 LJP539를 포함한다. RG7667은 MCMV5322A와 MCMV3068A의 혼합물을 포함하고 CSJ148은 LJP538와 LJP539의 혼합물을 포함한다. 또한, 예를 들어, Deng 외, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 62(2) e01108-17 (2018년 2월); 및 Dole 외, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 60(5) 2881-2887 (2016년 5월)을 참고하라.
- [0095] 항-EBV 항체의 한 예는 YTFIHFGISW (서열 번호: 248)을 포함하는 AMM01 CDRH1 서열, IDTNNGNTNYAQLQG (서열 번호: 249)를 포함하는 AMM01 CDRH2 서열, 및 RALEMGHRSGFPFDY (서열 번호: 250)을 포함하는 AMM01 CDRH3 서열을 포함하는 가변 중쇄; 및 GGHNIGAKNVH (서열 번호: 251)을 포함하는 AMM01 CDRL1 서열, YDSRPS (서열 번호: 252)를 포함하는 AMM01 CDRL2 서열, 및 CQVWDSGRGHPLYV (서열 번호: 253)를 포함하는 AMM01 CDRL3 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함한다.
- [0096] 항-HSV 항체의 한 예는 HSV8-N 및 MB66을 포함한다.
- [0097] 예시 항-클로스트리디움 디피실레 항체는 액톡수맙 및 베즐로톡수맙을 포함한다. 또한, 예를 들면, Wilcox 외, *N Engl J Med* 376(4) 305-317 (2017)를 참고하라.
- [0098] 시판중인 항-TNF 항체들은 인플릭시맙 (Remicade®Centocor, Inc., Malvern, PA와 바이오시밀러 Inflectra®Pfizer, Kent, UK and Ixifi®Pfizer, New York, NY), 아달리무맙 (Humira®Abbott Laboratories, Abbott Park, IL와 바이오시밀러 Amjevita®Amgen, Thousand Oaks, CA 및 Cyltezo®Boehringer Ingelheim Int'l, Ingelheim, DE), 골리무맙 (Simponi®Johnson & Johnson Corp., New Brunswick, NJ), 에타네르셉트 (Enbrel®Immunex Corp, Thousand Oaks, CA와 바이오시밀러 Erelzi®Novartis AG, Basel, CH), 및 세르톨리주맙-페골 (Cimzia®UCB Pharma, Brussels, BE)을 포함한다.
- [0099] 특정 구체예들에서, 인플릭시맙의 CDR은 다음을 포함한다: 중쇄 잔기 26-37, 52-70, 및 103-116 및 경쇄 잔기 24-39, 55-61, 및 94-102. 특정 구체예들에서, 인플릭시맙의 중쇄는 EVKLEESGGGLVQPGGSMK (서열 번호: 254)로 시작하고 경쇄는 DILLTQSPAILSVSPGER (서열 번호: 255)로 시작한다.
- [0100] 특정 구체예들에서, 인플릭시맙은 IFSNHW (서열 번호: 256)을 포함하는 CDRH1 서열, RSKSINSATH (서열 번호: 257)을 포함하는 CDRH2 서열, 및 NYYGSTY (서열 번호: 258)을 포함하는 CDRH3 서열을 포함하는 가변 중쇄; 및 FVGSSIH (서열 번호: 259)을 포함하는 CDRL1 서열, KYASESM (서열 번호: 260)을 포함하는 CDRL2 서열, 및 QSHSW (서열 번호: 261)을 포함하는 CDRL3 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함한다.
- [0101] 특정 구체예들에서, 아달리무맙은 TFDDYA (서열 번호: 262)을 포함하는 CDRH1 서열, TWNSGHID (서열 번호: 263)을 포함하는 CDRH2 서열, 및 VSYLSTASSL (서열 번호: 264)을 포함하는 CDRH3 서열을 포함하는 가변 중쇄; 및 GIRNYLA (서열 번호: 265)을 포함하는 CDRL1 서열, YAASTLQ (서열 번호: 266)을 포함하는 CDRL2 서열, 및 RYNRA (서열 번호: 267)을 포함하는 CDRL3 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함한다.
- [0102] 특정 구체예들에서, 세르톨리주맙은 VFTDYG (서열 번호: 268)을 포함하는 CDRH1 서열, NTYIGEPY (서열 번호: 269)을 포함하는 CDRH2 서열, 및 GYRSYAM (서열 번호: 270)을 포함하는 CDRH3 서열을 포함하는 가변 중쇄; 및 NVGTNVA (서열 번호: 271)을 포함하는 CDRL1 서열, YSASFLY (서열 번호: 272)을 포함하는 CDRL2 서열, 및 QYNIY (서열 번호: 273)을 포함하는 CDRL3 서열을 포함하는 가변 경쇄를 포함한다.
- [0103] 본 명세서의 개시내용에 속하는, 해당 분야의 숙련된 기술자들에게 공지된 수많은 또 다른 항체 서열들을 사용할 수 있다. 시판 항체들에 대한 서열 정보는 약물 은행 데이터베이스, CAS 레지스트리, 및/또는 RSCB 단백질 데이터 은행에서 찾을 수 있다. 또한, 본 명세서에 기재된 선택 항체의 일부들을 인코딩하는 핵산 서열은 해당 분야의 숙련된 기술자에 의해 용이하게 유도 될 수 있다.
- [0104] (ii) 유전자 편집 기술 및 세포 분류. 유전자 편집 시스템은 유전자 요법의 표적 부위에 대한 제어를 가능하게 한다. 본 발명의 내용에 속하는, 정확한 서열 표적화 및 변형이 가능한 임의의 유전자 편집 시스템이 사용될 수 있다. 이들 시스템은 전형적으로 정확한 표적화를 위한 표적화 요소 및 표적화된 유전자 부위를 절단하기 위한 절단 요소를 포함한다. 가이드 RNA는 표적화 요소의 일레이며, 다양한 뉴클레아제들은 절단 요소의 예를 제공한다. 표적화 요소 및 절단 요소는 별개의 분자이거나, 예를 들어, 나노입자에 의해 연결될 수 있다. 대안적으로, 표적화 요소 및 절단 요소는 하나의 이중 목적 분자에 함께 연결될 수 있다. 치료적 핵산 서열을 삽입하고자 할 때, 상기 시스템은 또한 유전자 구조체와 관련된 상동 제조합 템플릿 (즉, 상기 설명한 상동성 아암)을 포함할 수 있다. 그러나, 아래에 더 상세히 설명되는 바와 같이, 상이한 유전자 편집 시스템은 선택된 게

놈 부위를 정확하게 표적화, 절단 및 변형하는 능력을 유지하면서 상이한 성분 및 구성을 채택 할 수 있다.

- [0105] 특정 구체예는 유전자 편집 물질로서 징크 핑거 뉴클레아제 (ZFN)를 사용한다. ZFN은 특정 위치들에서 DNA에 결합하여 이를 절단하도록 조장된 부위-특이적 뉴클레아제의 일 클래스이다. ZFN은 DNA 서열의 특정 부위에서 이중 가닥 절단 (DSB)를 도입하는데 사용되며, 이는 ZFN이 다양한 상이한 세포에서 게놈 내 고유한 서열을 표적화 할 수 있게 한다. 또한, 이중-가닥 절단 후, 상동 재조합 (HDR) 또는 비-상동성 단부 연결 (NHEJ)이 발생하여 DSB를 복구하고, 그리하여 게놈 편집이 가능해진다.
- [0106] ZFN은 징크 핑거 DNA-결합 도메인을 DNA 절단 도메인에 융합시켜 합성된다. DNA-결합 도메인은 전사 인자인 3 내지 6개의 징크 핑거 단백질을 포함한다. DNA 절단 도메인은, 예를 들어, FokI 엔도뉴클레아제의 촉매 도메인을 포함한다. FokI 도메인은 표적 서열상의 부위에 대해 고유한 DNA 결합 도메인을 가지는 2개의 구조체를 필요로 하는 이량체로서 기능한다. FokI 절단 도메인은 2개의 반전된 절반-부위를 분리하는 5개 또는 6개의 염기쌍 스페이스 서열내에서 절단된다.
- [0107] ZFN에 관한 추가 정보에 관하여, Kim, 외 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 93, 1156-1160 (1996); Wolfe, 외 Annual review of biophysics and biomolecular structure 29, 183-212 (2000); Bibikova, 외 Science 300, 764 (2003); Bibikova, 외 Genetics 161, 1169-1175 (2002); Miller, 외 The EMBO journal 4, 1609-1614 (1985); 및 Miller, 외 Nature biotechnology 25, 778-785 (2007)을 참고하라.
- [0108] 특정 구체예들은 유전자 편집 물질로서 전사 활성화제 유사 이펙터 뉴클레아제 (TALENs)를 사용할 수 있다. TALEN 은 전사 활성화 제-유사 이펙터 (TALE) DNA 결합 단백질 및 DNA 절단 도메인을 포함하는 융합 단백질을 지칭한다. TALEN은 DNA에서 DSB를 유도함으로써 유전자와 게놈을 편집하는데 사용되며, 이는 세포에서 복구 메커니즘을 유도한다. 일반적으로, 2개의 TALEN은 DNA 절단 도메인이 이량체화되고 DSB를 유도하기 위해 표적 DNA 부위의 각 측면에 결합하고 연결하여야 한다. 외인성 이중 가닥 공여자 DNA 단편이 존재하는 경우, DSB는 NHEJ 또는 HDR에 의해 세포에서 복구된다.
- [0109] 지시된 바와 같이, TALEN은 예를 들어 내인성 게놈의 표적 서열에 결합하고 표적 서열의 위치에서 DNA를 절단하도록 조작되었다. TALEN의 TALE은 잔토모나스 박테리아에 의해 분비되는 DNA 결합 단백질이다. TALE의 DNA 결합 도메인은 고도로 보존된 33 또는 34개의 아미노산 반복을 포함하며, 각 반복의 12번째 및 13번째 위치에 분기 잔기가 존재한다. 반복 가변 이잔기 (RVD)라 지칭되는 이 두 위치들은 특이적 뉴클레오티드 인식과 강한 상관관계를 보여준다. 따라서, RVD에서 아미노산을 변화시키고 비전통적인 RVD 아미노산을 포함시킴으로써 표적화 특이성을 개선 할 수 있다.
- [0110] TALEN 융합에 사용될 수 있는 DNA 절단 도메인의 예들은 야생형 및 변이체 FokI 엔도뉴클레아제이다. TALEN에 관한 추가 정에 관하여, Boch, 외 Science 326, 1509-1512 (2009); Moscou, & Bogdanove, Science 326, 1501 (2009); Christian, 외 Genetics 186, 757-761 (2010); 및 Miller, 외 Nature biotechnology 29, 143-148 (2011)을 참고하라.
- [0111] 특정 구체예들은 유전자 편집 물질로서 MegaTAL을 이용한다. MegaTAL은 TALE이 메가뉴클레아제의 DNA 절단 도메인과 융합된 단일 사슬 회귀-절단 뉴클레아제 구조를 갖는다. 귀소 엔도뉴클레아제로도 알려진 메가뉴클레아제는 동일한 도메인에서 DNA 인식 및 뉴클레아제 기능을 모두 갖는 단일 펩티드 사슬이다. TALEN과 달리, megaTAL은 기능적 활성을 위해 단일 펩티드 사슬의 전달만을 필요로 한다.
- [0112] 특정 구체예들에서, 내인성 B 세포 게놈은 CRISPR 유전자 편집 시스템을 사용하여 표적화 될 수 있다. CRISPR 뉴클레아제 시스템은 원핵생물 면역계로, 외부의 유전자 요소들, 가령, 플라스미드 및 파지에 대한 내성을 부여하며 후천 면역의 형태를 제공한다. CRISPR은 짧은 염기 서열의 반복을 포함하는 DNA 유전자좌이다. 원핵생물 면역 시스템과 관련하여, 각 반복에는 원핵생물이 노출된 외부 유전자 요소에 속하는 스페이스 DNA의 짧은 분절들이 이어진다. 스페이스가 사이에 분포된 반복부들의 이러한 CRISPR 어레이는 RNA로 전사될 수 있다. RNA는 성숙한 형태로 가공 될 수 있고, 뉴클레아제, 가령, cas (CRISPR-관련) 뉴클레아제와 연관 될 수 있다. 외래 유전자 요소에 혼성화 할 수 있는 서열을 갖는 RNA 및 Cas 뉴클레아제를 포함하는 CRISPR-Cas 시스템은 게놈에서 이러한 외인성 유전자 요소를 인식하고 절단 할 수 있다.
- [0113] CRISPR-Cas 시스템은 특정 서열을 표적으로 하는 맞춤형 단백질의 생성을 요구하지 않지만, 특정 DNA 표적을 인식하기 위해 짧은 가이드 RNA 분자 (crRNA)로 단일 Cas 효소를 프로그래밍 할 수 있다. 박테리아 및 고생물 적응 면역의 CRISPR-Cas 시스템은 매우 다양한 단백질 구성 및 게놈 유전자좌 구조를 보여준다. CRISPR-Cas 시

템 유전자좌에는 50개 이상의 유전자 패밀리가 있으며 엄격하게 보편적 유전자는 없는데, 이는 유전자좌 구조의 빠른 진화와 극단적인 다양성을 나타내는 것이다. 지금까지, 여러 갈래의 접근법을 채택하여, 93개 Cas 단백질에 대한 395개 프로파일의 포괄적인 cas 유전자 식별이 존재한다. 분류에는 특징적 유전자 프로파일과 유전자좌 구조의 특징이 포함된다. CRISPR-Cas 시스템의 새로운 분류가 제안되는데, 여기서 이들 시스템들은 크게 두 가지 클래스, 다중-소단위 이펙터 복합체를 가지는 클래스 1과 Cas9 단백질에 의해 예시되는 단일-소단위 이펙터를 가지는 클래스 2로 나뉜다.

[0114] 게놈 편집을 위해 적어도 3가지 상이한 Cas9 뉴클레아제가 개발되었다. 첫 번째는 특정 DNA 부위에 이중 가닥 절단 (DSB)을 도입하는 야생형 Cas9로서, DSB 복구 메커니즘을 활성화시킨다. DSB는 비-상동성 단부 연결 (NHEJ), 상동 재조합 (HDR), 또는 마이크로상동성 매개 복구 (MMEJ)에 의해 복구될 수 있다. NHEJ는 복구 동안 연결되는 두 단부들 사이에 상동성이 없는 (<5 bp) DSB의 복구에 관여할 수 있고; HDR은 복구 동안 연결되는 두 단부들 사이에 큰 상동성 영역(100개 이상의 뉴클레오티드)을 가지는 DSB의 복구에 관여할 수 있으며; 그리고 MMEJ는 복구 동안 연결되는 두 단부들 사이에 작은 (5 내지 50 bp) 상동성 영역을 가지는 DSB의 복구에 관여할 수 있다. Cas9의 또 다른 유형은 Cas9D10A로 알려진, 단지 니카아제 활성만을 가지는 돌연변이체 Cas9를 포함하는데, 이는 하나의 DNA 가닥만 절단하고 NHEJ를 활성화시키지 않음을 의미한다. 따라서 DNA 복구는 HDR 경로를 통해서만 진행된다. 세 번째는 절단 활성은 없지만 DNA에 결합 할 수 있는 뉴클레아제-결합 Cas9 (dCas9)이다. 따라서, dCas9는 절단없이 게놈의 특정 서열을 표적으로 할 수 있다. dCas9를 다양한 이펙터 도메인과 융합함으로써 dCas9를 유전자 침묵 또는 활성화 도구로 사용할 수 있다.

[0115] 클래스 1 및 클래스 2 CRISPR-Cas 시스템 이외에도, 보다 최근에는 Cpf1로 예시되는 추정 클래스 2, 유형 V CRISPR-Cas 클래스가 Zetsche 외 (2015) Cell 163(3): 759-771에서 확인된 바 있다. Cpf1 뉴클레아제는 특히 프로토스페이서-인접 모티프 또는 PAM으로 알려진 짧은 3개의 염기쌍 인식 서열 (TTN)에 의해 표적 부위 선택에 추가적인 유연성을 제공 할 수 있다. Cpf1의 절단 부위는 PAM 서열로부터 적어도 18bp 떨어져 있어서, 이 효소는 삽입결실 (삽입 및 결실) 형성 후 지정된 유전자좌를 반복적으로 절단 할 수 있어 HDR의 효율을 증가시킨다. 더욱이, 끈끈한 단부를 가진 스테거드 (staggered) DSB는 방향-특정된 공여체 템플릿 삽입을 허용한다.

[0116] CRISPR-Cas 시스템 및 이의 성분들에 관한 추가 정보는, US8697359, US8771945, US8795965, US8865406, US8871445, US8889356, US8889418, US8895308, US8906616, US8932814, US8945839, US8993233 및 US8999641 그리고 이의 관련 출원들; 그리고 WO2014/018423, WO2014/093595, WO2014/093622, WO2014/093635, WO2014/093655, WO2014/093661, WO2014/093694, WO2014/093701, WO2014/093709, WO2014/093712, WO2014/093718, WO2014/145599, WO2014/204723, WO2014/204724, WO2014/204725, WO2014/204726, WO2014/204727, WO2014/204728, WO2014/204729, WO2015/065964, WO2015/089351, WO2015/089354, WO2015/089364, WO2015/089419, WO2015/089427, WO2015/089462, WO2015/089465, WO2015/089473 및 WO2015/089486, WO2016205711, WO2017/106657, WO2017/127807 및 이의 관련 출원들에 기재되어 있다.

[0117] 특정 구체에는 tracrRNA 및 crRNA를 단일 합성 단일 가이드 RNA (예를 들어, 서열: 87-89 또는 290-366을 사용하는 sgRNA)로 결합시킨다. 특정 구체예에서, sgRNA는 crRNA와 유사한 20 개의 뉴클레오티드 서열 및 tracrRNA 서열을 포함 할 수 있다. 특정 유전자 편집 시스템의 경우, 표적 서열은 PAM (예컨대, 5'-20nt 표적 -NGG-3')에 인접 할 수 있다. 특정 구체예에서, 표적 서열은 PAM (서열 번호: 5-84)을 포함 할 수 있다. 특정 구체예에서, 가이드 RNA (gRNA)는 게놈 편집 복합체에 의해 표적화된 PAM에 인접한 표적 부위를 포함한다. gRNA는 PAM에 인접한 적어도 16, 17, 18, 19, 20, 21 또는 22개의 뉴클레오티드를 포함 할 수 있다.

[0118] 특정 구체예들에서, 절단 요소는 조작된 gRNA의 도움으로 표적된 DNA 위치로 지시된다 (도 25A (Sternberg 외, Mol Cell. 2015;58(4):568-74)). 절단된 게놈 영역에 연결한 상동성 아암을 가지는 유전자 구조체는 DNA 상동 재조합 메커니즘에 의해 이 위치에 효율적으로 삽입된다 (예컨대, 도 15B (Elliott 외, Mol Cell Biol. 1998;18(1):93-101) 참조). 이러한 접근법을 사용하면 내인성 항체의 발현이 제거되고 선택 항체를 인코딩하는 유전자가 표적화된 유전자 위치에 삽입 될 것이다. 이러한 표적화된 삽입은 무작위 유전자 삽입으로 인한 오프 타겟 효과의 가능성을 제거하거나 현저하게 감소시킨다.

[0119] 특정 구체예에서, 각각의 내인성 항체의 마우스 또는 인간 IgH를 표적으로하는 sgRNA는 J 영역의 하류 100 bp 영역을 표적으로 한다 (도 9). 실험 예에서, 이 영역은 내인성 게놈의 C 영역을 함유하는 버전의 선택된 항체 팔리비주마를 발현하도록 표적화되었다 (도 7 및 9). crispr.mit.edu 알고리즘 (Hsu 외, Nat Biotechnol. 2013;31(9):827-32)은 이 영역에 대해 오프타겟 결합이 거의 없을 것으로 예측되는 22개의 표적화 서열을 확인 하였다. 개별 표적화 서열은 전장 sgRNA에 삽입 될 수 있고 기재된 바와 같이 배양 직전에 Cas9와 같은 뉴클레

아제와 혼합되고 (Schumann 외, Proc Natl Acad Sci U S A. 2015;112(33):10437-42) B 세포들 내부로 전기천공 될 수 있다 (Kim 외, J Immunol. 1979;122(2):549-54). Cas9에 의해 절단된 DNA의 세포 복구는 종종 유전자 기능의 상실을 초래하기 때문에 (Symington & Gautier, Annu Rev Genet. 2011; 45:247-71), 항체 코딩 영역을 표적하는 효율적인 sgRNA는 항체가 없는 일부 B 세포의 출현을 초래할 것으로 예상되며, 이는 유세포 분석법으로 쉽게 평가할 수 있다. 인트론 서열을 표적하는 sgRNA의 활성은 시퀀싱 또는 효소 분석, 가령, T7 엔도뉴클레아제 분석을 통해 평가 될 수 있다.

[0120] 특정 구체예들에서, 게놈 표적화 및 절단 요소는 전기천공, 나노입자-매개 전달 및/또는 바이러스 벡터 전달을 통해 투여 될 수 있다. 전기천공은 예를 들어 세포의 막이 이러한 외래 분자를 세포내에 정상적으로 허용하지 않기 때문에 표적화 요소 및/또는 절단 요소를 전달하는데 유용 할 수 있다. 전기천공법은 세포에 전기 충격을 보내서 외부 물질이 세포막을 일시적으로 통과하게 한다.

[0121] 특정 구체예들에서, 삽입을 위한 유전자 구조체는 전기천공, 나노입자-매개 전달 및/또는 바이러스 벡터 전달을 통해 투여 될 수 있다. 아데노-연관 바이러스 벡터는 예컨대, 아데노바이러스 5 (Ad5), 아데노바이러스 35 (Ad35), 아데노바이러스 11 (Ad11), 아데노바이러스 26 (Ad26), 아데노바이러스 48 (Ad48) 또는 아데노바이러스 50 (Ad50)으로부터 유도된 것들, 그리고 아데노-연관 바이러스 (AAV; 예컨대, 미국 특허 제 5,604,090; Kay 외, Nat. Genet. 24:257 (2000); Nakai 외, Blood 91:4600 (1998) 참고)를 포함한다.

[0122] 특정 구체예에서, 게놈 표적화 및 절단 요소는 전기천공을 통해 투여 될 수 있고 삽입을 위한 유전자 구조체는 AAV-매개 전달을 통해 투여 될 수 있다. 특정 구체예에서, 게놈 표적화 및 절단 요소는 나노입자-매개 전달을 통해 투여 될 수 있고 삽입을 위한 유전자 구조체는 AAV-매개 전달을 통해 투여 될 수 있다.

[0123] 특정 구체예에서, 트랜스젠을 포함하는 유전자 구조체는 전기천공 바로 전 또는 직전에 표적화 요소 (예를 들어, sgRNA) 및 절단 요소 (예를 들어, Cas9 또는 cpf1)와 혼합 될 수 있다. 선택 항체 발현은 유세포 분석법에 의해 형광 태그된 표적 단백질에 대한 세포 결합을 측정함으로써 나중에 (예를 들어, 3일 후) 확인 될 수 있다. 에피토프-특이적 B 세포를 검출 및 분석하기 위한 농축 및 분석방법이 사용될 수 있다. Pape 외, Science. 2011;331(6021):1203-7; Taylor 외, J Exp Med. 2012;209(3):597-606; Taylor 외, J Exp Med. 2012;209(11):2065-77; Haasken 외, J Immunol. 2013;191(3):1055-62; Taylor 외, J Immunol Methods. 2014;405:74-86; Nanton 외, Eur J Immunol. 2015;45(2):428-41; Hamilton 외, J Immunol. 2015;194(10):5022-34; Taylor 외, Science. 2015;347(6223):784-7). 이들 방법들은 전체 B 세포 집단의 0.00002%만큼 매우 낮은 빈도로 선택 항체-발현 B 세포의 검출을 가능하게 한다 (Taylor 외, Science. 2015; 347 (6223) : 784-7).

[0124] 특정 구체예에서, 세포는 유전자 구조체를 전달하기 전 또는 후 마커 발현에 기초하여 식별 및/또는 분류 될 수 있다. 예를 들어, 유전자 구조체를 전달하기 전에 특정 유형의 B 세포 (예를 들어, 기억 B 세포, 항체-분비 B 세포, 나이브 B 세포, B1 B 세포, 가장자리 영역 B 세포)를 샘플로부터 분리하는 것이 유용 할 수 있다. 다른 예로서, 혈액 샘플에 존재하는 다른 세포로부터 B 세포를 분리하는 것이 유용 할 수 있다. CD19는 B 세포에 의해 발현되지만 신체의 다른 세포에 의해서는 거의 발현되지 않는 단백질의 예이다. CD19를 형광 분자로 표시함으로써 B 세포를 특이적으로 식별할 수 있다. B220은 마우스 B 세포를 식별함에 유용한 마커이다.

[0125] CD27은 기억에 의해 발현되지만 나이브 인간 B 세포에 의해서는 발현되지 않는 단백질의 예이다. CD27을 형광 분자로 표시함으로써 기억 B 세포가 식별 될 수 있다.

[0126] CD21은 감염 후 항체를 신속하게 분비하는 능력을 가진 일부 기억 인간 B 세포에 의해 발현되지 않는 (또는 낮은 정도로 발현된) 단백질의 예이다. 낮은 CD21 발현은 혈장 세포 분화를 위해 프라이밍된 B 세포를 정의하는데 사용될 수 있다. CD21을 형광 분자로 표시함으로써, 이들 B 세포는 예를 들어 음성 선택에 의해 특이적으로 식별 될 수 있다.

[0127] 인간 나이브 B 세포는 마커 프로파일 IgM+ IgD+ CD27-로 식별 될 수 있다. 마우스 나이브 B 세포는 마커 프로파일 CD38+ GL7- IgM+ IgD+로 식별 될 수 있다. 인간 B1 B 세포는 마커 프로파일 CD5+ CD43+로 식별 될 수 있다. 마우스 B1 B 세포는 마커 프로파일 CD43+ B220LOW로 식별 될 수 있다. 인간 가장자리 구역 B 세포는 마커 프로파일 CD21+++ IgM++ IgD- CD27+로 식별 될 수 있다. 마우스 가장자리 구역 B 세포는 마커 프로파일 CD21+++ IgM++ IgD-로 식별 될 수 있다.

[0128] 특정 구체예는 CD19<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>CD21<sup>lo</sup> 마커 프로파일을 이용할 수 있다.



- [0129] CD45는 본원에 기재된 실험에 사용된 세포 유형을 식별 및/또는 분리하는데 사용되는 마커이다. 상이한 마우스 균주는 CD45.1 및 CD45.2로 명명된 CD45라 불리는 상이한 버전의 단백질을 발현한다. 본원에 개시된 실험에서, CD45.2를 발현하는 마우스의 B 세포를 채취하여 CD45.1을 발현하는 마우스에 전달할 것이다. 상이한 형광 분자로 CD45.1 및 CD45.2를 표시함으로써 공여자 동물로부터 유래된 세포가 식별될 수 있는데, 이는 이들이 CD45.2를 발현하지만 CD45.1은 발현하지 않기 때문이다.
- [0130] 특정 구체예는 외인성 경쇄의 발현에 기초하여 유전자 변형 후 B 세포를 분류하는 것을 포함한다. 예를 들어, 카파 경쇄를 자연적으로 발현하는 B 세포는 람다 경쇄를 포함하는 선택 항체를 발현하도록 변형 될 수 있다. 람다 경쇄를 자연적으로 발현하는 B 세포는 카파 경쇄를 포함하는 선택 항체를 발현하도록 변형 될 수 있다. 외인성 경쇄의 발현에 기초한 분류는 선택 항체를 발현하는 이들 B 세포만을 분리되게 할 것이다. 특정 구체예들에서, 내인성 경쇄의 표면 발현이 완전히 결여된 B 세포들만이 제제화를 위해 분리되고 대상체에게 투여된다.
- [0131] 특정 구체예들에서, 세포는 유세포 분석법을 사용하여 식별 및/또는 분리될 수 있다. 유세포 분석은 레이저를 사용하여 수백만 개의 개별 세포를 표시하는 형광 분자를 개별적으로 분석하는 민감하고 강력한 분석 방법이다. 각 세포가 표시된 형광 분자의 조합을 분석함으로써, 상이한 B 세포 아형이 식별 될 수 있다. 유세포 분석법을 사용하여 B 세포 서브셋을 식별하고 이들 세포 내에서 선택 항체 (예를 들어, 팔리비주맙)의 발현을 분석 할 수 있다.
- [0132] 특정 구체예에서, B 세포의 변형 방법은 조혈 줄기 세포 (HSC)를 수득하는 단계 및/또는 유전자 구조체를 HSC에 전달하는 단계를 포함 할 수 있다. HSC는 B 세포 뿐만 아니라 면역계의 다른 모든 세포를 자연적으로 생성하는 줄기 세포의 유형을 지칭 할 수 있다. HSC는 예를 들어, 제대혈로부터 얻을 수 있다.
- [0133] 본원에 기재된 특정 실험 결과는 새로-분리된 B 세포로 이동하기 전에 유전자 변형 방법을 개발하기 위해 A20 세포를 이용하였다. A20은 마우스 B 세포로부터 만들어진 불멸화 세포주이다.
- [0134] 특정 구체예에서, B 세포는 인간 대상체로부터 수득 될 수 있고 수득된 B 세포 또는 이의 서브셋은 생체외에서 변형 될 수 있다.
- [0135] 변형된 B 세포의 제조. 변형되면, 세포는 배양 배지로부터 수확되고, 세척되어, 치료 유효량으로 담체에 농축 될 수 있다. 예시 담체에는, 식염수, 완충 식염수, 생리 식염수, 물, 행크스 용액, 링거 용액, 논노솔-R (Nonnosol-R, Abbott Labs), PLASMA-LYTE A<sup>®</sup> (Baxter Laboratories, Inc., Morton Grove, IL), 글리세롤, 에탄올, 및 이의 조합이 포함된다.
- [0136] 특정 구체예에서, 담체에는 인간 혈청 알부민 (HSA) 또는 다른 인간 혈청 성분 또는 소 태아 혈청이 보충 될 수 있다. 특정 구체예에서, 주입용 담체는 5% 히알루론산 소듐 염 (HAS) 또는 텍스트로스를 갖는 완충 식염수를 포함한다. 추가 등장화제는 3가 이상의 당 알콜, 가령, 글리세린, 에리쓰리톨, 아라비톨, 자일리톨, 소르비톨, 또는 만니톨을 비롯한 다가 당 알콜을 포함한다.
- [0137] 담체는 완충제, 예컨대, 시트레이트 완충제, 숙시네이트 완충제, 타르트레이트 완충제, 푸마레이트 완충제, 글루코네이트 완충제, 옥살레이트 완충제, 락테이트 완충제, 아세테이트 완충제, 포스페이트 완충제, 히스티딘 완충제 및 / 또는 트리메틸아민 염을 포함 할 수 있다.
- [0138] 안정화제는 증량제로부터 용기 벽에 대한 세포의 부착을 방지함에 도움을 주는 첨가제에 이르기까지 다양한 기능을 할 수 있는 광범위한 부형제를 지칭한다. 전형적인 안정화제는 다가 당 알코올; 아미노산, 가령, 아르기닌, 리신, 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 알라닌, 오르니틴, L-류신, 2- 페닐알라닌, 글루탐산 및 트레오닌; 유기 당 또는 당 알코올, 가령, 락토오스, 트레할로스, 스타키오스, 만니톨, 소르비톨, 자일리톨, 리비톨, 미오이니시톨, 갈락티톨, 글리세롤, 및 사이클리톨, 가령, 이노시톨; PEG; 아미노산 중합체; 황-함유 환원제, 가령, 우레아, 글루타티온, 티옉 산, 소듐 티옉글리콜레이트, 티옉글리세롤, 알파-모노티옉글리세롤 및 소듐 티옉설페이트; 저 분자량 폴리펩티드 (즉, <10 잔기); 단백질, 가령, HSA, 소 혈청 알부민, 젤라틴 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 가령, 폴리비닐피롤리돈; 단당류, 가령, 자일로스, 만노스, 프럭토스 및 글루코스; 이당류, 가령, 락토스, 말토스 및 수 크로스; 삼당류, 가령, 라피노스 및 다당류, 가령, 텍스트란이 포함된다.
- [0139] 필요하거나 유익한 경우, 제제는 주사 부위에서 통증을 완화시키기 위해 리도카인과 같은 국소 마취제를 포함 할 수 있다.
- [0140] 예시적 보존제에는 페놀, 벤질 알코올, 메타-크레졸, 메틸 파라벤, 프로필 파라벤, 옥타데실디메틸벤질 암모늄

클로라이드, 벤잘코늄 할라이드, 헥사메토늄 클로라이드, 알킬 파라벤, 가령, 메틸 또는 프로필 파라벤, 카테콜, 레조르시놀, 시클로헥산을 및 3-펜탄올이 포함된다.

- [0141] 제제는, 예를 들면,  $10^2$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^3$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^4$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^5$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^6$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^7$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^8$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^9$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^{10}$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^{11}$ 개 이상의 변형된 B 세포를 포함할 수 있다.
- [0142] 사용 방법. 본원에 개시된 방법은 대상체 (예를 들어, 인간, 수의 동물 (개, 고양이, 파충류, 조류) 가축 (예를 들어, 말, 소, 염소, 돼지, 닭) 및 연구 동물 (예를 들어, 원숭이, 랫트, 마우스, 어류)을 본원에 개시된 제제를 사용하여 치료하는 것을 포함한다. 대상체를 치료하는 것은 치료 유효량을 전달하는 것을 포함한다. 치료 유효량은 유효량, 예방적 치료 및/또는 치료적 치료를 제공하는 양을 포함한다.
- [0143] "유효량"은 대상체에서 원하는 생리학적 변화를 초래하기 위해 필요한 조성물의 양이다. 유효량은 종종 연구 목적으로 투여된다. 본원에 개시된 유효량은 병태의 발달, 진행 및/또는 해결의 평가와 관련된 동물 모델 또는 시험관내 분석에서 통계적으로 유의한 효과를 유발할 수 있다.
- [0144] "예방적 치료"는 병태의 징후 또는 증상을 나타내지 않거나 병태의 초기 징후 또는 증상만을 나타내는 대상체에 투여되는 치료를 포함하므로, 치료는 병태를 발병할 위험을 감소 또는 저하하기 위해 투여된다. 따라서, 예방 치료는 병태에 대한 저해 치료로서 기능한다. 특정 구체예들에서, 예방 치료는 상태의 악화를 감소, 지연 또는 예방한다. 특정 구체예에는 현재 효과적인 백신이 없는 경우 예방적 보호로서 본원에 기재된 제제의 투여를 포함한다. 특정 구체예에는 통상적인 예방접종 전략의 대체물로서 예방적 보호로서 본 명세서에 기재된 제제의 투여를 포함한다. 특정 구체예에는 통상적인 예방접종 전략의 보충제로서 예방적 보호로서 본 명세서에 기재된 제제의 투여를 포함한다.
- [0145] "치료적 치료"는 병태의 증상 또는 징후를 나타내는 대상체에 투여되는 치료를 포함하며 병태의 이러한 징후 또는 증상을 감소시키거나 제거하기 위해 대상체에게 투여된다. 치료적 치료는 병태의 존재 또는 활성을 감소, 제어, 또는 제거할 수 있고 및/또는 병태의 부작용을 감소, 제어 또는 제거할 수 있다.
- [0146] 특정 구체예들에서, 병태는 감염이다.
- [0147] 유효량, 예방 치료 또는 치료적 치료로서의 기능은 상호 배타적이지 않으며, 특정 구체예에서, 투여량은 하나 이상의 치료 유형을 달성 할 수 있다.
- [0148] 특정 구체예들에서, 치료 유효량은 항-병원체 효과를 제공한다. 항-병원체 효과는 항-감염 효과를 포함할 수 있다. 항-감염 효과는 감염 발생의 감소, 감염 중증도의 감소, 감염 기간의 감소, 감염된 세포수의 감소, 감염된 조직 부피의 감소, 기대 수명의 증가, 면역 제거에 대한 감염된 세포의 민감성 유도, 감염-관련 통증의 감소, 및/또는 치료되는 감염과 관련된 증상의 감소 또는 제거를 포함할 수 있다.
- [0149] 특정 구체예들에서, 치료 유효량은 항-염증 효과를 제공한다. 항-염증 효과는 감소된 염증 관련 통증, 열, 발적, 부기 및/또는 기능 상실을 포함 할 수 있다.
- [0150] 특정 구체예들에서, 치료 유효량은 항-크론병 효과 또는 항-궤양성 대장염 효과를 제공한다. 항-크론병 효과 또는 항-궤양성 대장염 효과는 설사 감소, 직장 출혈 감소, 설명 할 수 없는 체중 감소, 발열 감소, 복통 및 경련 감소, 피로 및 저에너지 느낌 감소, 및/또는 식욕 회복을 포함 할 수 있다.
- [0151] 특정 구체예들에서, 치료 유효량은 항-관절염 효과를 제공한다. 항-관절염 효과는 관절에서의 통증, 뻣뻣함, 부기, 발적의 감소 및/또는 회복된 운동 범위를 포함할 수 있다. 관절염의 유형에는 류마티스 관절염 (RA), 강직성 척추염 및 건선성 관절염이 포함된다.
- [0152] 특정 구체예들에서, 치료 유효량은 항-플라크 건선 효과를 제공한다. 항-플라크 건선 효과는 붉은 반점, 스케일링 발진, 가려움, 화상, 쓰라림, 손발톱 바닥 이상 및/또는 부어오른 또는 뻣뻣한 관절의 감소를 포함할 수 있다.
- [0153] 특정 구체예들에서, B 세포는 대상체로부터 수득 될 수 있으며, B 세포의 서브세트는 생체외에서 변형될 수 있고, 이어서 변형된 B 세포는 제제화되어 대상체에게 투여될 수 있다. 특정 구체예에서, 대상체의 B 세포의 제 1 서브세트는 제 1 병원체에 대한 선택 항체를 생성하기 위해 제 1 유전자 구조체로 변형 될 수 있고, 대상체의 B

세포의 제 2 서브세트는 제 2 병원체에 대한 선택 항체를 생성하기 위해 제 2 유전자 구조체로 변형될 수 있으며, 이로써 2개의 병원체에 대한 보호 항체를 제공한다. 지시된 바와 같이, 임의의 수의 병원체에 대한 B 세포가 형성되어 대상체에게 투여 될 수 있다. 특정 구체예에서, 선택 항체는 항-RSV 항체, 항-HIV 항체, 항-덴기 바이러스 항체, 항-보르다텔라 페르투스 항체, 항-C 형 간염 항체, 항-인플루엔자 바이러스 항체, 항-파라인플루엔자 바이러스 항체, 항-MPV 항체, 항-사이토메갈로바이러스 항체, 항-엡스타인 바 바이러스 항체; 항-단순 헤르페스 바이러스 항체, 항-클로스트리디움 디피실레 박테리아 독소 항체, 또는 항-TNF 항체이다. 특정 구체예들에서, 선택 항체는 항-RSV 항체, 항-인플루엔자 바이러스 항체, 항-파라인플루엔자 바이러스 항체 및/또는 항-MPV 항체 중 하나 이상일 수 있다. 특정 구체예들에서, 선택 항체는 항-RSV 항체, 항-인플루엔자 바이러스 항체, 항-파라인플루엔자 바이러스 항체 및/또는 항-MPV 항체 중 하나 이상일 수 있다. 특정 구체예들에서, 선택 항체는 팔리비주맙이다.

[0154] 특정 구체예들에서, B 세포는 수용자와 면역학적으로 매칭된 골수 공여자 또는 조혈 줄기 세포 공여자로부터 수득 될 수 있다. 특정 구체예에서, 공여자의 B 세포의 제 1 서브세트는 제 1 병원체에 대한 선택 항체를 생성하기 위해 제 1 유전자 구조체로 변형 될 수 있고, 공여자의 B 세포의 제 2 서브세트는 제 2 병원체에 대한 선택 항체를 생성하기 위해 제 2 유전자 구조체로 변형될 수 있으며, 이로써 2개의 병원체에 대한 보호 항체를 제공한다. 지시된 바와 같이, 임의의 수의 병원체에 대한 B 세포가 형성되어 대상체에게 투여 될 수 있다. 특정 구체예에서, 선택 항체는 항-RSV 항체, 항-HIV 항체, 항-덴기 바이러스 항체, 항-보르다텔라 페르투스 항체, 항-C 형 간염 항체, 항-인플루엔자 바이러스 항체, 항-파라인플루엔자 바이러스 항체, 항-MPV 항체, 항-사이토메갈로바이러스 항체, 항-엡스타인 바 바이러스 항체; 항-단순 헤르페스 바이러스 항체, 항-클로스트리디움 디피실레 박테리아 독소 항체, 또는 항-TNF 항체이다. 특정 구체예들에서, 선택 항체는 항-RSV 항체, 항-인플루엔자 바이러스 항체, 항-파라인플루엔자 바이러스 항체 및/또는 항-MPV 항체 중 하나 이상일 수 있다. 특정 구체예들에서, 선택 항체는 항-RSV 항체, 항-인플루엔자 바이러스 항체, 항-파라인플루엔자 바이러스 항체 및/또는 항-MPV 항체 중 하나 이상일 수 있다. 특정 구체예들에서, 선택 항체는 팔리비주맙이다. 유전자-변형된 B 세포는 이식된 세포가 수용자 자신의 면역 시스템을 다시 채울 때까지 감염에 대한 보호 (예를 들어, 항-감염 효과)를 제공하기 위해 수용자에게 투여 될 수 있다.

[0155] 특정 구체예들에서, 수용자는 혈액 악성종양의 치료로서 공여자로부터 골수 또는 조혈 줄기 세포 이식을 받고 있다. 혈액 악성종양의 예들에는 급성 림프구성 백혈병, B-세포 전림프구성 백혈병, 버킷 림프종/백혈병, 만성 림프구성 백혈병 (CLL), 미만성 거대 B-세포 림프종, 소포 림프종 (I, II, III, 또는 IV 등급), 호지킨 림프종, 혈관내 거대 B-세포 림프종, 림프종, 림프형질세포 림프종, 외투 세포 림프종, 가장자리 구역 림프종 (림프절외 및 림프절), 종격 (흉선) 거대 B-세포 림프종, 다발성 골수종, 비-호지킨 림프종, POEMS 증후군 / 골경화성 골수종, 일차성 삼출 림프종, 비장 가장자리 구역 림프종, 소 림프구성 림프종, 무증상 다발성 골수종 (SMM), 및 발덴스트롬 거대글로불린혈증이 포함된다.

[0156] 특정 구체예에서, 수용자는 수용자에게 결핍된 유전자를 제공하는 유전자-변형된 조혈 줄기 세포를 받고 있다. 이들 수용자는 조혈 줄기 세포를 통한 치료 유전자의 제공으로 치료 될 수 있는 일차 또는 이차 면역 결핍을 가질 수 있다. 세계 보건 기구 (WHO)는 80가지가 넘는 일차 면역 결핍성 질환을 인지하고 있다. 이들 질병들은, 일부 경우에, 신체가 감염에 대한 항체를 전혀 또는 충분히 생성할 수 없는 면역 시스템의 본질적 결함으로 특징된다. 다른 경우에서, 감염과 싸우기 위한 세포 방어가 적절히 작동하지 못한다. 일반적으로, 일차 면역 결핍은 유전 장애이다. X-연관 중증 복합 면역결핍증 (SCID-X1)은 일차 면역 결핍증의 다른 예이다. X-연관 SCID는 공통 감마 쇠 유전자 (gC)의 돌연변이에 의해 유발된 세포성 및 체액성 면역 고갈을 초래하고, 이는 T 및 자연 살해 (NK) 림프구의 부재를 초래한다.

[0157] 이차 또는 후천적 면역 결핍증은 유전되는 유전자 이상의 결과가 아니라 면역 시스템 외부의 요인에 의해 면역 시스템이 손상되는 개체에서 발생한다. 예에는 외상, 바이러스, 화학요법, 독소 및 오염이 포함된다. 후천성 면역결핍 증후군 (AIDS)은 바이러스, 인간 면역결핍 바이러스 (HIV)로 인한 이차 면역결핍 장애의 한 예이며, 이때 T 림프구의 고갈로 인해 신체가 감염과 싸울 수 없게 된다.

[0158] 특정 구체예들에서, B 세포는 대상체로부터 수득 될 수 있으며, B 세포의 서브세트는 생체외에서 변형될 수 있고, 이어서 변형된 B 세포는 제제화되어 대상체에게 투여될 수 있다. 특정 구체예에서, 대상체의 B 세포의 제 1 서브세트는 염증성 사이토카인과 같은 염증성 분자에 대한 선택 항체를 생성하는 제 1 유전자 구조체로 변형되어, 이로써 염증으로부터 보호하는 항체를 제공 할 수 있다. 특정 구체예들에서, 선택 항체들은 항-TNF 항체 및/또는 항-IL-1 항체일 수 있다. 특정 구체예들에서, 선택 항체는 인플릭시맙, 아달리무맙, 및/또는 골리무맙 및

/또는 이의 승인된 바이오시밀러이다.

- [0159] 투여를 위해, 치료 유효량 (본 명세서에서 투여량으로도 지칭됨)은 시험관내 분석 및/또는 동물 모델 연구 결과에 기초하여 초기에 추정 될 수 있다. 이러한 정보를 사용하여, 관심 대상체에서 유용한 투여량을 보다 정확하게 결정할 수 있다. 특정 대상체에게 투여되는 실제 투여량은 연령, 선행 예방접종 (존재시), 표적, 체중, 병태의 중증도, 병태의 유형, 병태의 단계, 선행 또는 현재 치료적 개입, 대상체의 특발성 질환 및 투여 경로를 비롯한 신체 및 생리학적 요인들과 같은 파라미터들을 고려하여 담당의, 의사 또는 연구자에 의해 결정될 수 있다.
- [0160] 설명한 바와 같이, 특정 구체예들에서, 변형된 B 세포는, 예를 들어, 대상체에게 투여 후 추적 및/또는 제거를 가능하게 하는 태그를 발현한다.
- [0161] 예시 투여량은,  $10^2$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^3$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^4$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^5$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^6$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^7$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^8$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^9$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^{10}$ 개 이상의 변형된 B 세포,  $10^{11}$ 개 이상의 변형된 B 세포를 포함할 수 있다.
- [0162] 특정 구체예에서, 선택 항체의 효과는 바이러스 역가를 사용하여 측정 될 수 있다. 바이러스 역가는 검출될 수 있는 바이러스의 양을 지칭한다. 높은 바이러스 역가는 높은 수준의 감염을 의미한다. 역가가 0으로 떨어지면 최적의 보호 반응이 관찰된다.
- [0163] 해당 분야의 숙련된 기술자가 이해하는 바와 같이, 특정 구체예들을 설명하였으나, 본 발명의 범위에 속하는 또 다른 구체예들 또한 이용될 수 있다. 하기 설명은 대표적인 추가 구체예들의 설명 및 구현예를 제공한다.
- [0164] 예시 구체예.
- [0165] 1. (i) 프로모터 및 (ii) 모든 B 세포들에서 불변인 인트론 영역에서 선택 항체의 일부를 인코딩하는 트랜스젠을 포함하며 그리고 (i) 상기 프로모터와 상호작용하는 인핸서 요소에 대해 배치되고; 그리고 (ii) B 세포들의 내인성 항체-인코딩 게놈의 일부가 발현되지 않게 하는 구조의 유전자 구조체의 표적화된 삽입을 포함하는, 선택 항체를 발현시키기 위한 B 세포의 유전자 조작 방법.
- [0166] 2. (i) 중쇄 프로모터, (ii) 신호 펩티드, (iii) 선택 항체의 전장 경쇄; (iv) 가요성 링커 또는 스킵 요소; (v) 선택 항체 중쇄의 가변 영역; 및 (vi) 스플라이스 집합을 포함하는 또는 인코딩하는 유전자 구조체를, 서열 번호: 1, 서열 번호: 2, 서열 번호: 3, 또는 서열 번호: 4에 삽입하는 것을 포함함으로써, B 세포를 유전자 조작하여 선택 항체를 발현시키는, 선택 항체를 발현시키기 위한 B 세포의 유전자 조작 방법.
- [0167] 3. 구체예 1 또는 2에 있어서, B 세포의 내인성 가변 중쇄 인코딩 게놈은 유전자 변형 동안 절제되지 않음을 특징으로 하는, 방법.
- [0168] 4. 구체예 1-3 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 선택 항체는 항-호흡기 세포융합 바이러스 (RSV) 항체, 항-인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 항체, 항-덴기 바이러스 항체, 항-보르다텔라 페르투스 항체, 항-C형 간염 항체, 항-인플루엔자 바이러스 항체, 항-파라인플루엔자 바이러스 항체, 항-메타뉴모바이러스 (MPV) 항체, 항-사이토메갈로바이러스 항체, 항-엡스타인 바 바이러스 항체; 항-단순 헤르페스 바이러스 항체, 항-콜로스트리디움 디피실레 박테리아 독소 항체, 또는 항-종양 괴사 인자 (TNF) 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0169] 5. 구체예 1-4 중 어느 한 구체예에 있어서, 유전자 구조체는 서열 번호: 102-175, 278, 279, 또는 280-289를 포함함을 특징으로 하는, 방법.
- [0170] 6. 구체예 2-5 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 가요성 링커는 선택 항체의 전장 경쇄와 선택 항체의 중쇄 가변 영역 사이에 존재함을 특징으로 하는, 방법.
- [0171] 7. 구체예 2-6 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 가요성 링커는 서열 번호: 180-184에서 선택됨을 특징으로 하는, 방법.
- [0172] 8. 구체예 2-7 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 가요성 링커는 50-80개 아미노산을 포함하는 Gly-Ser 링커임을 특징으로 하는, 방법.
- [0173] 9. 구체예 2-8 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 가요성 링커는 57개 아미노산을 포함하는 Gly-Ser 링커임을 특징으로 하는, 방법.



- [0174] 10. 구체예 2-6, 8 또는 9 중 어느 한 구체예에 있어서, 가요성 링커는 서열 번호: 122임을 특징으로 하는, 방법.
- [0175] 11. 구체예 2-10 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 스킵 요소는 선택 항체의 전장 경쇄와 선택 항체의 중쇄 가변 영역 사이에 존재함을 특징으로 하는, 방법.
- [0176] 12. 구체예 2-11 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 스킵 요소는 자기-절단 펩티드임을 특징으로 하는, 방법.
- [0177] 13. 구체예 12에 있어서, 상기 자기-절단 펩티드는 서열 번호: 176-179에서 선택됨을 특징으로 하는, 방법.
- [0178] 14. 구체예 2-13 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 스킵 요소는 내부 리보솜 진입 부위 (IRES)임을 특징으로 하는, 방법.
- [0179] 15. 구체예 2-14 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 중쇄 프로모터는 서열 번호: 111 및 128로부터 선택됨을 특징으로 하는, 방법.
- [0180] 16. 구체예 2-15 중 어느 한 구체예에 있어서, 중쇄 프로모터는 IgVH1-69 또는 J558H10임을 특징으로 하는, 방법.
- [0181] 17. 구체예 2-16 중 어느 한 구체예에 있어서, 신호 펩티드는 서열 번호: 118, 134 및 185-194에서 선택됨을 특징으로 하는, 방법.
- [0182] 18. 구체예 2-17 중 어느 한 구체예에 있어서, 신호 펩티드는 인간 IgH 중쇄 또는 인간 IgL 경쇄로부터 유래됨을 특징으로 하는, 방법.
- [0183] 19. 구체예 1-18 중 어느 한 구체예에 있어서, 유전자 구조체는 상동성 아암을 포함함을 특징으로 하는, 방법.
- [0184] 20. 구체예 19에 있어서, 상기 상동성 아암은 서열 번호: 90-101, 110, 125, 127, 140, 142, 143, 153, 170, 171, 173, 174, 278, 또는 279를 포함함을 특징으로 하는, 방법.
- [0185] 21. 구체예 1-20 중 어느 한 구체예에 있어서, 유전자 구조체는 태그를 인코딩함을 특징으로 하는, 방법.
- [0186] 22. 구체예 21에 있어서, 태그는 STREPTAG<sup>®</sup>, STREP<sup>®</sup> 태그 II, His 태그, Flag 태그, Xpress 태그, Avi 태그, 칼모듈린 태그, 폴리글루타메이트 태그, HA 태그, Myc 태그, Nus 태그, S 태그, SBP 태그, Softag 1, Softag 3 또는 V5 태그를 포함함을 특징으로 하는, 방법.
- [0187] 23. 구체예 21 또는 22에 있어서, 태그는 서열 번호: 122 또는 195-204를 포함함을 특징으로 하는, 방법.
- [0188] 24. 구체예 1-23 중 어느 한 구체예에 있어서, 서열 번호: 87-89, 및 290-366 중 하나 이상에서 선택된 가이드 RNA (gRNA) 서열, 및 뉴클레아제를 B 세포에 전달하는 것을 추가로 포함하는, 방법.
- [0189] 25. 구체예 24에 있어서, 상기 전달은 전기천공, 나노입자 또는 바이러스-매개 전달에 의함을 특징으로 하는, 방법.
- [0190] 26. 구체예 1-25 중 어느 한 구체예에 있어서, 유전자 구조체는 아데노-연관 바이러스 벡터의 일부임을 특징으로 하는, 방법.
- [0191] 27. 구체예 24-26 중 어느 한 구체예에 있어서, gRNA 및 뉴클레아제는 전기천공을 통해 전달되고 유전자 구조체는 아데노-연관 바이러스 벡터의 일부로서 전달됨을 특징으로 하는, 방법.
- [0192] 28. 구체예 24-27 중 어느 한 구체예에 있어서, 뉴클레아제는 Cas9 또는 Cpf1임을 특징으로 하는, 방법.
- [0193] 29. 구체예 24-28 중 어느 한 구체예에 있어서, 하나 이상의 gRNA 서열에 의해 표적되는 표적 서열은 서열 번호: 5-84 중 하나 이상에서 선택되고 gRNA는 서열 번호: 87-89, 및 290-366 중 하나 이상에서 선택됨을 특징으로 하는, 방법.
- [0194] 30. 구체예 1-29 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 팔리비주맵, AB1128, 또는 ab20745를 비롯한 항-RSV 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0195] 31. 구체예 1-30 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 선택 항체는 다음과 같음을 특징으로 하는, 방법: 서열

번호: 138을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 136을 포함하는 경쇄를 포함하는 팔리비주맵; 서열 번호: 138을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 205를 포함하는 경쇄를 포함하는 팔리비주맵; 서열 번호: 123을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 120을 포함하는 경쇄를 포함하는 항-RSV 항체; 또는 서열 번호: 123를 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 206을 포함하는 경쇄를 포함하는 항-RSV 항체.

- [0196] 32. 구체예 1-30 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 서열 번호: 207을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 208을 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 209를 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 210을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 211을 포함하는 CDRL2 및 서열 번호: 212를 포함하는 CDRL3를 포함하는 항-RSV 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0197] 33. 구체예 1-29 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 선택 항체는 10E8, VRC01, ab18633 또는 39/5.4A를 비롯한 항-HIV 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0198] 34. 구체예 1-29 또는 33 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 선택 항체는 서열 번호: 150을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 149를 포함하는 경쇄를 포함하는 항-HIV 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0199] 35. 구체예 1-29 또는 33 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 선택 항체는 서열 번호: 213을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 214를 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 215를 포함하는 CDRH3, 서열 번호: 216을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 217을 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 218을 포함하는 CDRL3을, 또는 서열 번호: 219를 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 220을 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 221을 포함하는 CDRH3, QYGS를 포함하는 CDRL1, SGS를 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 222를 포함하는 CDRL3을 포함하는 항-HIV 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0200] 36. 구체예 1-29 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 선택 항체는 항체 55, DB2-3, ab155042 또는 ab80914를 비롯한 항-헵기 바이러스 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0201] 37. 구체예 1-29 또는 36 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 선택 항체는 서열 번호: 223을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 224를 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 225를 포함하는 CDRH3, 서열 번호: 226을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 227을 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 228을 포함하는 CDRL3을, 또는 서열 번호: 229를 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 230을 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 231을 포함하는 CDRH3, 서열 번호: 232를 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 233을 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 234를 포함하는 CDRL3을 포함하는 항-헵기 바이러스 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0202] 38. 구체예 1-29 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 선택 항체는 서열 번호: 235를 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 236을 포함하는 경쇄를 포함하는 항-페르투시스 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0203] 39. 구체예 1-29 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 선택 항체는 MAB8694 또는 C7-50을 비롯한 항-C형 간염 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0204] 40. 구체예 1-29 또는 39 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 서열 번호: 237을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 238을 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 239를 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 240을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 241을 포함하는 CDRL2 및 서열 번호: 242를 포함하는 CDRL3를 포함하는 항-C형 간염 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0205] 41. 구체예 1-29 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 C102를 비롯한 항-인플루엔자 바이러스 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0206] 42. 구체예 1-29 또는 41 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 선택 항체는 서열 번호: 159를 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 158을 포함하는 경쇄를 포함하는 항-인플루엔자 바이러스 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0207] 43. 구체예 1-29 또는 41 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 서열 번호: 243을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 244를 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 245를 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 246을 포함하는 CDRL1, KTS를 포함하는 CDRL2 및 서열 번호: 247을 포함하는 CDRL3를 포함하는 항-인플루엔자 바이러스 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0208] 44. 구체예 1-29 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 MPE8을 비롯한 항-MPV 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0209] 45. 구체예 1-29 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 MCMV5322A, MCMV3068A, LJP538, 또는 LJP539를 비롯한 항-CMV 항체임을 특징으로 하는, 방법.

- [0210] 46. 구체예 1-29 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 선택 항체는 서열 번호: 168을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 166을 포함하는 경쇄를 포함하는 항-EBV 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0211] 47. 구체예 1-29 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 서열 번호: 248을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 249를 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 250을 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 251을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 252를 포함하는 CDRL2 및 서열 번호: 253을 포함하는 CDRL3를 포함하는 항-EBV 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0212] 48. 구체예 1-29 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 HSV8-N 및 MB66을 비롯한 항-HSV 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0213] 49. 구체예 1-29 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 액토수맵 또는 베즐로톡수맵을 비롯한 항-클로스트리디움 디피실레 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0214] 50. 구체예 1-29 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 인플릭시맵, 아달리무맵, 에타네르셉트, 세르톨리주맵, 또는 이의 허용되는 바이오시밀러를 비롯한 항-TNF 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0215] 51. 구체예 1-29 또는 50 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 서열 번호: 254를 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 255를 포함하는 경쇄; 서열 번호: 256을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 257을 포함하는 CDRH2, 및 서열 번호: 258을 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 259를 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 260을 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 261을 포함하는 CDRL3; 서열 번호: 262를 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 263을 포함하는 CDRH2, 및 서열 번호: 264를 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 265를 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 266을 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 267을 포함하는 CDRL3; 서열 번호: 268을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 269를 포함하는 CDRH2, 및 서열 번호: 270을 포함하는 CDRH3; 또는 서열 번호: 271을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 272를 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 273을 포함하는 CDRL3를 포함하는 항-TNF 항체임을 특징으로 하는, 방법.
- [0216] 52. 구체예 1-51 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 유전자 변형은 서열 번호: 87, 88, 89, 90-175, 278-366 중 어느 하나를 포함하는 서열을 이용함을 특징으로 하는, 방법.
- [0217] 53. 구체예 1-52 중 어느 한 구체예에 있어서, B 세포는 항체-생성 B 세포, 기억 B 세포, 나이브 B 세포, B1 B 세포 또는 가장자리 영역 B 세포임을 특징으로 하는, 방법.
- [0218] 54. 구체예 1-53 중 어느 한 항의 방법에 따라 변형된 B 세포.
- [0219] 55. 구체예 54에 있어서, 상기 B 세포는 항체-분비 B 세포, 기억 B 세포, 나이브 B 세포, B1 B 세포 또는 가장자리 영역 B 세포임을 특징으로 하는, B 세포.
- [0220] 56. 구체예 54 또는 55의 치료 유효량의 B 세포를 대상체에 투여함으로써, 항-감염 효과를 제공하는 것을 포함하는, 필요로 하는 대상체에서 항-감염 효과를 제공하는 방법.
- [0221] 57. 구체예 56에 있어서, 상기 제공은 예방접종 필요성을 제거함을 특징으로 하는, 방법.
- [0222] 58. 구체예 56 또는 57에 있어서, 상기 투여는 예방접종 프로토콜을 대체함을 특징으로 하는, 방법.
- [0223] 59. 구체예 56-58 중 어느 한 구체예에 있어서, 대상체는 면역-억제됨을 특징으로 하는, 방법.
- [0224] 60. 구체예 56-59 중 어느 한 구체예에 있어서, 대상체는 골수 이식, 조혈 줄기 세포 이식, 또는 유전자 변형 조혈 줄기 세포의 투여를 포함하는 치료 요법의 일부로서 면역-억제됨을 특징으로 하는, 방법.
- [0225] 61. 구체예 54 또는 55의 치료 유효량의 B 세포를 대상체에 투여함으로써, 항-염증 효과를 제공하는 것을 포함하는, 필요로 하는 대상체에서 항-염증 효과를 제공하는 방법.
- [0226] 62. (i) 중쇄 프로모터, (ii) 신호 펩티드, (iii) 선택 항체의 전장 경쇄; (iv) 가요성 링커 또는 스킵 요소; (v) 선택 항체 중쇄의 가변 영역; 및 (vi) 스플라이스 접합을 포함하는 또는 인코딩하며, 선택 항체를 발현하도록 B 세포를 변형하기 위한 유전자 구조체.
- [0227] 63. 구체예 62에 있어서, 서열 번호: 102-175, 또는 280-289를 포함함을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0228] 64. 구체예 62 또는 63 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 가요성 링커는 선택 항체의 전장 경쇄와 선택 항체의 중쇄 가변 영역 사이에 존재함을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0229] 65. 구체예 62-64 중 어느 한 구체예에 있어서, 상기 가요성 링커는 서열 번호: 180-184에서 선택됨을 특징

으로 하는, 유전자 구조체.

- [0230] 66. 구체에 62-65 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 가요성 링커는 50-80개 아미노산을 포함하는 Gly-Ser 링커임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0231] 67. 구체에 62-66 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 가요성 링커는 57개 아미노산을 포함하는 Gly-Ser 링커임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0232] 68. 구체에 62-64, 66 또는 67 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 가요성 링커는 서열 번호: 122임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0233] 69. 구체에 62-68 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 스킵 요소는 선택 항체의 전장 경쇄와 선택 항체의 중쇄 가변 영역 사이에 존재함을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0234] 70. 구체에 62-69 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 스킵 요소는 자기-절단 펩티드임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0235] 71. 구체에 70에 있어서, 상기 자기-절단 펩티드는 서열 번호: 176-179에서 선택됨을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0236] 72. 구체에 62-69 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 스킵 요소는 내부 리보솜 진입 부위 (IRES)임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0237] 73. 구체에 62-72 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 중쇄 프로모터는 서열 번호: 111 및 128로부터 선택됨을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0238] 74. 구체에 62-73 중 어느 한 구체에 있어서, 중쇄 프로모터는 IgVH1-69 또는 J558H10임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0239] 75. 구체에 62-74 중 어느 한 구체에 있어서, 신호 펩티드는 서열 번호: 118, 134 및 185-194에서 선택됨을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0240] 76. 구체에 62-75 중 어느 한 구체에 있어서, 신호 펩티드는 인간 IgH 중쇄 또는 인간 IgL 경쇄로부터 유래됨을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0241] 77. 구체에 62-76 중 어느 한 구체에 있어서, 유전자 구조체는 상동성 아암을 포함함을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0242] 78. 구체에 77에 있어서, 상기 상동성 아암은 서열 번호: 90-101, 110, 125, 127, 140, 142, 143, 153, 170, 171, 173, 174, 278, 또는 279를 포함함을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0243] 79. 구체에 62-78 중 어느 한 구체에 있어서, 유전자 구조체는 태그를 인코딩함을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0244] 80. 구체에 79에 있어서, 태그는 STREPTAG<sup>®</sup>, STREP<sup>®</sup> 태그 II, His 태그, Flag 태그, Xpress 태그, Avi 태그, 칼모듈린 태그, 폴리글루타메이트 태그, HA 태그, Myc 태그, Nus 태그, S 태그, SBP 태그, Softag 1, Softag 3 또는 V5 태그를 포함함을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0245] 81. 구체에 79 또는 80에 있어서, 태그는 서열 번호: 122 또는 195-204를 포함함을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0246] 82. 구체에 62-81 중 어느 한 구체에 있어서, 선택 항체는 팔리비주맵, AB1128, 또는 ab20745를 비롯한 항-RSV 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0247] 83. 구체에 62-82 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 선택 항체는 다음과 같음을 특징으로 하는, 유전자 구조체: 서열 번호: 138을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 136을 포함하는 경쇄를 포함하는 팔리비주맵; 서열 번호: 138을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 205를 포함하는 경쇄를 포함하는 팔리비주맵; 서열 번호: 123을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 120을 포함하는 경쇄를 포함하는 항-RSV 항체; 또는 서열 번호: 123를 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 206을 포함하는 경쇄를 포함하는 항-RSV 항체.
- [0248] 84. 구체에 62-82 중 어느 한 구체에 있어서, 선택 항체는 서열 번호: 207을 포함하는 CDRH1, 서열 번호:

208을 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 209를 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 210을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 211을 포함하는 CDRL2 및 서열 번호: 212를 포함하는 CDRL3를 포함하는 항-RSV 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.

- [0249] 85. 구체에 62-81 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 선택 항체는 10E8, VRC01, ab18633 또는 39/5.4A를 비롯한 항-HIV 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0250] 86. 구체에 62-81 또는 85 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 선택 항체는 서열 번호: 150을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 149를 포함하는 경쇄를 포함하는 항-HIV 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0251] 87. 구체에 62-81 또는 85 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 선택 항체는 서열 번호: 213을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 214를 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 215를 포함하는 CDRH3, 서열 번호: 216을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 217을 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 218을 포함하는 CDRL3을, 또는 서열 번호: 219를 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 220을 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 221을 포함하는 CDRH3, QYGS를 포함하는 CDRL1, SGS를 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 222를 포함하는 CDRL3을 포함하는 항-HIV 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0252] 88. 구체에 62-81 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 선택 항체는 항체 55, DB2-3, ab155042 또는 ab80914를 비롯한 항-헵기 바이러스 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0253] 89. 구체에 62-81 또는 88 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 선택 항체는 서열 번호: 223을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 224를 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 225를 포함하는 CDRH3, 서열 번호: 226을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 227을 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 228을 포함하는 CDRL3을, 또는 서열 번호: 229를 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 230을 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 231을 포함하는 CDRH3, 서열 번호: 232를 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 233을 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 234를 포함하는 CDRL3을 포함하는 항-헵기 바이러스 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0254] 90. 구체에 62-81 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 선택 항체는 서열 번호: 235를 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 236을 포함하는 경쇄를 포함하는 항-페르투시스 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0255] 91. 구체에 62-81 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 선택 항체는 MAB8694 또는 C7-50을 비롯한 항-C형 간염 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0256] 92. 구체에 62-81 또는 91 중 어느 한 구체에 있어서, 선택 항체는 서열 번호: 237을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 238을 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 239를 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 240을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 241을 포함하는 CDRL2 및 서열 번호: 242를 포함하는 CDRL3를 포함하는 항-C형 간염 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0257] 93. 구체에 62-81 중 어느 한 구체에 있어서, 선택 항체는 C102를 비롯한 항-인플루엔자 바이러스 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0258] 94. 구체에 62-81 또는 93 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 선택 항체는 서열 번호: 159를 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 158을 포함하는 경쇄를 포함하는 항-인플루엔자 바이러스 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0259] 95. 구체에 62-81 또는 93 중 어느 한 구체에 있어서, 선택 항체는 서열 번호: 243을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 244를 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 245를 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 246을 포함하는 CDRL1, KTS를 포함하는 CDRL2 및 서열 번호: 247을 포함하는 CDRL3를 포함하는 항-인플루엔자 바이러스 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0260] 96. 구체에 62-81 중 어느 한 구체에 있어서, 선택 항체는 MPE8을 비롯한 항-MPV 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0261] 97. 구체에 62-81 중 어느 한 구체에 있어서, 선택 항체는 MCMV5322A, MCMV3068A, LJP538, 또는 LJP539를 비롯한 항-CMV 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0262] 98. 구체에 62-81 중 어느 한 구체에 있어서, 상기 선택 항체는 서열 번호: 168을 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 166을 포함하는 경쇄를 포함하는 항-EBV 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.



- [0263] 99. 구체예 62-81 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 서열 번호: 248을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 249를 포함하는 CDRH2, 서열 번호: 250을 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 251을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 252를 포함하는 CDRL2 및 서열 번호: 253을 포함하는 CDRL3를 포함하는 항-EBV 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0264] 100. 구체예 62-81 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 HSV8-N 및 MB66을 비롯한 항-HSV 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0265] 101. 구체예 62-81 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 액토수맙 또는 베즐로톡수맙을 비롯한 항-클로스트리디움 디피실레 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0266] 102. 구체예 62-81 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 인플릭시맙, 아달리무맙, 에타네르셉트, 세르톨리주맙, 또는 이의 허용되는 바이오시밀러를 비롯한 항-TNF 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0267] 103. 구체예 62-81 또는 102 중 어느 한 구체예에 있어서, 선택 항체는 서열 번호: 254를 포함하는 중쇄 및 서열 번호: 255를 포함하는 경쇄; 서열 번호: 256을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 257을 포함하는 CDRH2, 및 서열 번호: 258을 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 259를 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 260을 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 261을 포함하는 CDRL3; 서열 번호: 262를 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 263을 포함하는 CDRH2, 및 서열 번호: 264를 포함하는 CDRH3; 서열 번호: 265를 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 266을 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 267을 포함하는 CDRL3; 서열 번호: 268을 포함하는 CDRH1, 서열 번호: 269를 포함하는 CDRH2, 및 서열 번호: 270을 포함하는 CDRH3; 또는 서열 번호: 271을 포함하는 CDRL1, 서열 번호: 272를 포함하는 CDRL2, 및 서열 번호: 273을 포함하는 CDRL3를 포함하는 항-TNF 항체임을 특징으로 하는, 유전자 구조체.
- [0268] 104. 구체예 62-103 중 어느 한 구체예의 유전자 구조체 및 서열 번호: 1, 서열 번호: 2, 서열 번호: 3, 또는 서열 번호: 4를 표적하는 gRNA를 포함하는, B 세포의 유전자 변형을 위한 키트.
- [0269] 105. 구체예 104에 있어서, gRNA는 서열 번호: 87, 88, 89, 및 290-366 중 하나 이상에서 선택됨을 특징으로 하는, 키트.
- [0270] 106. 구체예 104 또는 105에 있어서, 뉴클레아제를 추가로 포함함을 특징으로 하는, 키트.
- [0271] 107. 구체예 106에 있어서, 뉴클레아제는 Cas9 또는 Cpf1임을 특징으로 하는, 키트.
- [0272] 108. 구체예 104-107 중 어느 한 구체예에 있어서, 나노입자 또는 아데노-연관 바이러스 벡터를 추가로 포함함을 특징으로 하는, 키트.
- [0273] 109. 구체예 104-108 중 어느 한 구체예에 있어서, gRNA 및 뉴클레아제는 나노입자와 결합됨을 특징으로 하는, 키트.
- [0274] 구체예 104-109 중 어느 한 구체예에 있어서, 유전자 구조체는 아데노-연관 바이러스 벡터의 일부임을 특징으로 하는, 키트.
- [0275] 실시예 1. 백신없이 호흡기 세포융합 바이러스 감염에 대해 평생 보호를 제공. 호흡기 세포융합 바이러스 (RSV)는 소아, 특히, 만성 폐 질환, 선천성 심장 질환이 있거나 조기에 태어난 유아에서 심각한 호흡기 질환의 주요 원인이다. 체액 면역은 재조합 항체 Synagis®(MedImmune, Inc.)/팔리비주맙의 치료 효과에 의해 입증되는, RSV에 대한 효과적인 보호를 매개 할 수 있다. 그러나, 자연 감염 및 이전의 백신 시험 모두 RSV에 대한 완전한 보호 면역 반응을 유도하지 못했다.
- [0276] RSV 및 질병에 대한 예방접종이 어려운 다른 경우에, 일차 B 세포 조작을 통해 예방접종을 우회하여 원하는 치료용 항체의 발현을 유도하는 것이 매우 좋다. 면역글로빈 (Ig) 유전자좌는 매우 크고 다양하며 광범위한 게놈 재조합 및 편집을 거친다. 또한, 막 및 분비된 형태 모두를 생성하기 위한 면역글로빈 유전자의 전사는 조절 DNA 요소에 의한 mRNA 스플라이싱 및 폴리아데닐화의 조절에 의존한다. 이러한 복잡성으로 인해 림프구의 세포 조작을 위한 전통적인 접근 방식인 바이러스 형질도입은 치료적 B 세포의 생성을 위해서는 기술적으로 비실용적이게 되었다.
- [0277] 특정 구체예는 단일 히트(hit) 면역유전자 조작으로 일차 B 세포 항체 특이성을 신속하고 선택적으로 재프로그래밍하기 위한 플랫폼을 포함한다. 이 플랫폼은 Cas9/sgRNA 리보 단백질에 의한 DNA 절단 생성 후 전체 합성 하이드리드 이중 가닥/단일 가닥 DNA 템플릿을 삽입하기 위해 일차 B 세포에서의 미세상동 매개 단부 연결 DNA 복구 경로의 높은 활성을 이용한다. 이러한 접근법의 핵심은 내인성 조절 요소의 보존이며, 이는 표면 결합되어

분비된 항체 발현의 고유 제어를 가능하게 한다. 또한 이 전략은 RSV에 제한되지 않는다. 수일 후 단 한 번의 혈액 채취 및 후속한 세포 주입으로 사실상 모든 병원체에 대하여 보호성인 항체를 발현 할 수 있다.

- [0278] 재료 및 방법. sgRNA의 설계. 마우스 및 인간 IgH 유전자좌에서 인트론 서열들을 표적하는 sgRNA들을 CrispRGold (crisprgold.mdc-berlin.de)을 사용하여 설계하고 처음 3개의 5' 및 3' 말단 RNA 잔기들에 2'-O-메틸 유사체 및 3' 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 링키지를 혼입시킨 합성 형태 (Synthego)로 제조하였다. 게놈 표적 서열들은 다음과 같다:
- [0279] 마우스: UUAUACAGUAUCCGAUGCAU (서열 번호: 87)
- [0280] 인간: GUCUCAGGAGCGGUGUCUGU (서열 번호: 89)
- [0281] 템플릿 서열들의 설계 및 조립.
- [0282] 인간: 항체 구조체는 IgVH1-69 중쇄 프로모터 영역 (서열 번호: 111), 팔리비주맙의 전장 코돈 최적화 경쇄 (서열 번호: 113 (뉴클레오티드) 및 서열 번호: 120 (아미노산)), 스트랩태그 II 모티프의 3개 탠덤 카피를 함유하는 57-아미노산 글리신-세린 링커 (서열 번호: 116 (뉴클레오티드) 및 서열 번호: 122 (아미노산)), 팔리비주맙 중쇄의 코돈 최적화 가변 영역 (서열 번호: 117 (뉴클레오티드) 및 서열 번호: 123 (아미노산)), 및 인간IGHJ1 유전자 분절로부터 유래한 60 bp의 연결 서열을 가지는 스플라이스 접합 (서열 번호: 124)를 포함하였다.
- [0283] 마우스: mCherry 템플릿에는 J5558H10 중쇄 프로모터, 전장 코돈 최적화 mCherry 오픈 리딩 프레임 및 sv40 폴리아데닐화 부위가 포함되었다. 항체 구조체는 J5558H10 중쇄 프로모터 (서열 번호: 128, V.A Love 외, Molecular Immunology 2000), 전장 코돈 최적화 항체 경쇄 (서열 번호: 130 (뉴클레오티드) 및 서열 번호: 135 (아미노산)), 스트랩태그 II 서열의 2개 탠덤 카피를 함유하는 57개 아미노산 글리신-세린 링커 (서열 번호: 116 (뉴클레오티드) 및 서열 번호: 122 (아미노산)), 항체 중쇄의 코돈 최적화 가변 영역 (서열 번호: 133 (뉴클레오티드) 및 서열 번호: 138 (아미노산)), 및 마우스 IGHJ3 유전자 분절에서 유래한 60 bp의 연결 서열을 가지는 스플라이스 접합 (서열 번호: 139)를 포함하였다.
- [0284] 스티칭 올리고뉴클레오티드의 어닐링 (즉, 스플라이싱 올리고뉴클레오티드). pam-원위 및 pam-근위 비-표적 DNA 가닥에 대해 36 bp의 상보성 및 삽입된 템플릿에 대한 50-100 bp의 상보성을 갖는 스티칭 올리고뉴클레오티드를 합성하여 제조하였으며, 사용 전 DNA 템플릿으로 사전 어닐링되었다 (예컨대, 서열 번호: 96-101). 스플라이싱 올리고뉴클레오티드는 도 15에 도시된 "상동성 스티치"를 제공할 수 있다.
- [0285] 아데노-연관 바이러스 (AAV)의 바이러스 벡터 템플릿 전달. AAV 바이러스 벡터는 MND 프로모터, 전장 코돈 최적화된 mCherry 오픈 리딩 프레임, 그리고 2개의 마우스 sgRNA 인식 부위 또는 400 bp의 상동성이 연결한 sv40 폴리아데닐화 부위를 함유하였다. AAV 비리온은 AAV6 바이러스 캡시드로 슈도타입화된 293T 세포에서 생성되었고, 수크로스 농도구배 원심분리에 의해 정제되고 -80°C에서 보관되었다. 템플릿 DNA의 바이러스 전달을 위해, 전기천공 12시간 전에 농축된 AAV 바이러스를 총 배양 부피의 10%의 최종 부피에 첨가하였다.
- [0286] 마우스 B 세포 배양 및 전기천공. 기본 B 세포 배지는, 상기 설명한 바와 같이 무 항생제 단계에서를 제외하고, 10% 우태 혈청 (Hyclone), 10mM HEPES (Gibco), 1 mM 소듐 피루베이트, (Gibco), 55  $\mu$ M  $\beta$  머캅토에탄올 (Sigma), 및 100 U/ml 페니실린 그리고 100  $\mu$ g/mL 스트렙토마이신 (Gibco)이 있는 RPMI 배지를 포함하였다.
- [0287] B 세포를 자성 비드 (Miltenyi)를 이용한 음성 선택을 통해 비장 및 림프절로부터 단리하고, 100 ng/ml 재조합 담체 무 HA-태그된 마우스 CD40L (R&D systems), 100 ng/ml 항-HA 항체 (클론 543851, R&D systems), 및 4 ng/ml 마우스 IL-4 (R&D systems)가 보충된 B 세포 배지에서  $2 \times 10^6$  /ml로 24시간 동안 배양되었다. 이어서, 다음과 같이 네온 형질감염 시스템 및 10- $\mu$ l 팁을 사용하여 B 세포를 전기천공시켰다. Cas9 단백질 (Invitrogen) 및 합성 sgRNA (Synthego)를 3  $\mu$ g Cas9/900 ng sgRNA의 비율로 혼합하고 실온에서 10분 이상 배양하였다. B 세포를 PBS로 세척하고 Cas9/sgRNA 및 사전-조립된 DNA 템플릿과 함께  $2.5 \times 10^7$  개 세포/ml의 최종 밀도로 네온 완충제 T에 현탁시켰다. 세포를 전기천공하고 (1675 V, 10 밀리초, 3 펄스), 예열된 무 항생제 배지에 즉시 분배하였다.
- [0288] 세포 확장을 위해, B 세포를 20 ng/ml 마우스 IL-21의 존재하에서 방사선조사된 (80 Gy) 3T3-CD40L 피더 세포와 공동-배양하였다.
- [0289] 분해에 의한 삽입결실 추적 (TIDE)에 의한 sgRNA 활성의 평가. 전기천공 후 3-5 일에 모의 및 Cas9 처리된 세포

로부터 총 게놈 DNA를 단리하였다. 절단 부위에 연결한 500-600 bp 영역을 다음 올리고를 사용하여 PCR로 증폭시켰다:

[0290] 마우스: 정방향: GGCTCCACCAGACCTCTCTA (서열 번호: 274)

[0291] 역방향: AACCTCAGTCACCGTCTCCT (서열 번호: 275)

[0292] 인간: 정방향: ACAGTAAGCATGCCTCCTAAG (서열 번호: 276)

[0293] 역방향: GCCACTCTAGGGCCTTTGTT (서열 번호: 277)

[0294] 결과. 결과를 도 18A-18C, 도 22A & 22B, 도 23B-23E, 및 도 24A -24C에 도시한다. 도 18A, 18B 및 18C는 Cas9/sgRNA 리보핵 단백질로 세포를 전기천공한 후 표적 IgH 유전자좌에서 각각 마우스 B 세포주 A20, 일차 마우스 B 세포 및 인간 B 세포주 RAMOS의 성공적인 절단을 입증한다. 도 22A 및 22B는 일차 마우스 B 세포의 IgH 유전자좌 내부로의 mCherry 형광 단백질 리포터 삽입을 도시한다. 도 23B 및 23C는 A20 마우스 B 세포주 (도 23B) 및 RAMOS 인간 B 세포주 (도 23C)에 부분 항체 카세트의 삽입 후 항-RSV 항체의 표면 발현을 입증한다. 도 23D 및 23E는 A20 마우스 B 세포주 (도 23D) 및 RAMOS 인간 B 세포주 (도 23E)에 부분 항체 카세트의 삽입 후 항-RSV 항체의 분비를 입증한다. 도 24A는 부분 항체 카세트를 일차 마우스 B 세포에 삽입 후, 초기 (왼쪽 패널) 및 시험관내 농축 및 확장 후 (오른쪽 패널)의 항-RSV 항체의 표면 발현을 입증한다. 도 24B는 일차 마우스 B 세포주 내부로의 부분 항체 카세트의 삽입 후 항-RSV 항체의 분비를 입증한다. 도 24C는 조작된 B 세포의 시험관내 증식 가능성을 입증한다.

[0295] 실시예 2. 본 실시예의 목적은 IgH 유전자좌의 게놈 조작을 통해 분비된 및 표면 Ig 발현의 고유 제어를 유지하는 정의된 특이성을 갖는 유전자 변형된 B 세포를 생성하는 것이었다. B 세포에서 IgH 유전자좌는 B 세포에 존재하는 매우 가변적인 서열로 인해 게놈 조작을 위해 표적하기 어려운 영역이다. B 세포 발달은 1 메가베이스 이상의 DNA에서 V, D 및 J 요소의 재조합을 일으켜 항체 다양성에 기본이 되는 VDJ 가변 영역을 생성한다. 차후 B 세포 개체발생에서, 상이한 불변 영역들 사이의 클래스 전환은 유사한 서열 범위에 걸쳐 DNA의 손실을 초래한다 (Reviewed in Watson, 외, (2017). Trends Immunol 38(7): 459-470).

[0296] 이러한 서열 가변성으로 인해 항체 코딩 영역을 직접 표적할 수 없게 된다. 그러나, 마지막 J 유전자 분절과 클래스 전환에 관여하는 전환 영역들 사이의 작은 DNA 영역은 모든 B 세포에 존재한다. 이러한 범용 표적은 약한 프로모터에도 불구하고, 협력하여 IgH 유전자들의 높은 발현을 유도하는 몇 가지 강력한 인핸서 요소들 중 하나인 중요한 인트론 E $\mu$  인핸서를 함유한다. 이들 인핸서의 활성은 E $\mu$  인핸서에 대한 프로모터의 근접성에 의해 부분적으로 조절되며, 재조합된 VDJ 분절과 E $\mu$  인핸서 사이에 트랜스진의 삽입은 VDJ 전사를 완전히 차단할 수 있다 (Delpy, 외, (2002) J. Immunol 169 (12): 6875-6882). 이러한 이유로, 본 실시예에서 사용된 방법은 새로운 항체 카세트의 삽입을 위해 E $\mu$  인핸서의 상류 영역을 표적으로 하였다 (도 26A). 이 영역을 표적함으로써, 삽입된 emAb 유전자는 고유의 (그러나 삽입된) IgH 프로모터에 의해 구동되어 면역글로빈 발현의 고유한 제어를 최대화 할 수 있다.

[0297] 원-히트 삽입을 가능하게 하고 오프-타겟 상호작용을 최소화하기 위하여, emAb 구조체들은 단일쇄 융합물로서 발현되었다. 이러한 융합물은 단일쇄 F(ab) 단편에서 설명했던 바와 같이 57개 아미노산 글리신-세린 링커로 중쇄의 가변 영역에 연결되는 전장 경쇄 서열로 구성된다. (Koerber, 외, (2015). J Mol Biol 427(2): 576-586) (도 26A). 이 링커는 유전자 변형 세포의 검출 및 농축을 용이하게 하기 위해 스트랩태그II 모티프의 3개의 텐덤 반복을 포함한다 (Schmidt & Skerra (2007). Nat Protoc 2 (6): 1528-1535). 경쇄와 중쇄의 물리적 연결은 삽입되는 emAb와 내인성 경쇄 간의 짝짓기 오류 가능성을 최소화한다. 최적화된 스플라이스 접합은 emAbs가 내인성 IgH 불변 영역들의 하류로 스플라이스 하게 한다. 이에 의해 emAbs는 임의의 중쇄 아이소형 클래스로서 발현될 수 있다.

[0298] 이 전략은 RAMOS 인간 B 세포주에서 테스트되었다. 이 버킷-림프종 유래 B 세포주는 람다 경쇄와 쌍을 이룬 IgM의 표면 및 분비된 형태를 본래 발현한다. 이들 실험에서, 팔리비주맙으로부터 유도된 조작된  $\alpha$ RSV-emAb의 발현은 단량체 RSV-F 단백질 및 링커에서 스트랩태그 II 모티프에 대한 높은 친화성을 갖는 변형된 스트랩태그비딘인 스트랩타틴을 사용하여 검출되었다.  $\alpha$ RSV-emAb 유전자 변형된 RAMOS 세포는 조작된 RSV-특이적 항체를 발현시켰으며, 이는 세포 표면에서 (도 26B) 그리고 상청액에서 분비된 형태로서 검출 될 수 있다 (도 26C). emAb BCR이 BCR 신호전달에 결정적인 이차 단백질 복합체와 조립됨을 확인하기 위해, RAMOS 세포를 다량체화된 RSV-F 항원 자극에 노출시켰다. 대조는 아닌  $\alpha$ RSV-emAb 조작된 세포는 단백질 항원에 반응하여 신속하고 지속적인 칼슘 신호전달을 보여주었다 (도 26D). 이들 데이터는 emAb 조작 접근법의 실행가능성을 확인함에 사용되었다.



- [0299] 다음으로, 인간 일차 B 세포를 다단계 확장 및 분화 과정을 이용하여 유전자 변형시켰다 (도 27A). 사전-복합체화된 가이드 RNA 및 Cas9의 전기천공은 게놈 DNA를 고효율로 절단하여, 다수의 독립적 공여자에 걸쳐 분석된 표적 대립 유전자의 70%에서 이 영역의 결합을 복구하였다 (도 27B). sgRNA 표적 부위는 인간에서 강하게 보존되며, 1% 이상의 빈도로 보고된 단일 뉴클레오타이드 다형성은 없었다 (도 27C). AAV 전달된 aRSV-emAb 카세트의 첨가는 인간 B 세포를 효율적으로 재프로그래밍하여 RSV-F 단백질에 결합하였다 (도 27D). 특히, emAb B 세포는 테스트된 모든 인간 공여자로부터 평균 조작 비율 24%로 성공적으로 생성되었다 (도 27E). emAb의 생산 동안 시험관내 배양 및 분화는 항체 분비 가능성을 증가시켰다. 보다 낮은 수준의 CD19, 및 증가된 CD38, CD27, 및 CD138을 가졌던 18일차의 세포들과 대조적으로, 2일차의 프라이밍된 세포들은 높은 수준의 CD19, 및 적은 양의 혈장 세포 마커 CD138, CD27, 및 CD138을 발현하였다 (도 27F). 세포 표면 마커에서의 이들 변형에 상응하여, 분화된 emAb 조작된 B 세포는 상당한 양의 표적화된 항체를 분비한다 (도 27G). 종합하면, 이들 데이터는 일차 B 세포를 신속하고 효율적으로 조작하여 특정 보호 항체를 생성하는 능력을 입증한다.
- [0300] 플랫폼의 유연성 양상을 입증하기 위해, 항-HIV 표적화된 VRC01, EBV 표적화된 AMM01 및 인플루엔자 HA-줄기 표적화된 MEDI8852를 포함하여 3개의 추가의 광범위 중화 항-바이러스 항체로부터 유래된 emAb 카세트를 테스트하였다. 일차 B 세포는 카파 (팔리비주맵, VRC01, Medi8852) 및 람다 (AMM01) 경쇄 둘 모두를 갖는 항체를 포함하는 4가지 구조체 모두로 효율적으로 재프로그래밍되었다 (도 28). 이들 데이터는 emAb 플랫폼의 유연하고 광범위한 응용 특성을 보여준다.
- [0301] 내인성 Ig 중쇄의 생성 차단은 emAb의 생성을 최대화하고 유전자-변형 세포로부터 미지의 내인성 항체의 생성 가능성을 최소화함에 중요하다. RAMOS B 세포주는 람다 경쇄와 쌍을 이루는 IgH를 내생적으로 발현시킨다. 카파 경쇄에 연결된 RSV-emAb로 이들 세포를 조작하면 표면 람다 경쇄 발현을 IgH 발현의 효과적인 척도로 사용할 수 있다. 또한, RAMOS 세포는 c-myc 전좌를 거쳐 하나의 IgH 대립 유전자를 파괴하였으므로, 모든 emAb 삽입이 반드시 생산적 대립유전자에 존재하여야 할 것이다 (도 29A). 투입 RAMOS 세포는 표면상에서 높은 수준의 람다 경쇄를 발현하는 반면, aRSV-emAb를 발현하는 세포는 람다 발현을 거의 완전히 상실하였다 (도 29B). 이들 데이터는 생산적 대립유전자상의 emAb 삽입이 내인성 IgH의 발현을 효과적으로 차단할 수 있음을 나타낸다. 거의 모든 일차 B 세포에서, 하나의 IgH 대립 유전자는 생성적인 VDJ 재배열을 보유하는 반면, 다른 대립유전자는 VDJ 재조합을 거치지 않았거나 비생성적으로 재조합되었다. 그러나, 이들 대립유전자 모두 emAb 삽입이 가능한 부위를 보유한다 (도 29C). emAb 삽입의 효과를 테스트하기 위해, 일차 B 세포를 발현하는 정제된 람다 경쇄를 aRSV-emAb로 유전자 변형시켰다. 투입 세포는 표면에서 람다 경쇄와 쌍을 이루는 내인성 항체를 계속 발현시켰다. 대조적으로, aRSV-emAb 조작된 B 세포의 절반은 람다 경쇄 발현을 상실 하였다 (도 29D). RAMOS 및 일차 B 세포에서 보이는 차등 발현 패턴은 emAb 삽입이 생산적 대립유전자에 삽입되는 경우 내인성 IgH 발현을 차단할 수 있음을 시사한다. 표면 경쇄의 차등 발현은 전적으로 emAb 구조체를 발현하는 세포의 정제를 위한 수단이다. 대안적으로, 어느 대립유전자에서의 삽입 가능성은 조작을 위한 항-바이러스 기억 B 세포의 초기 풀을 선택하거나 각 대립유전자 상에 상이한 카세트를 삽입함으로써 이중-항체 발현 emAb 세포를 생성 할 가능성을 제공한다.
- [0302] B 세포를 조작하는 능력을 입증한 후, 다음으로 바이러스 감염의 쥐과 모델에서 세포의 보호 능력을 확인하였다. 쥐과 emAb B 세포는 인간 일차 B 세포에서와 유사한 프라이밍, 전기천공 + emAb 카세트 전달, 및 확장 과정을 이용하여 생성되었다 (도 30A). 사전-복합체화된 가이드 RNA 및 Cas9와 함께 사용된 전기천공으로 매우 효율적으로 절단되었으며, 이는 분석된 DNA의 80%에서 이러한 영역의 복구를 잘못하는 결과를 가져왔다 (도 30B). 쥐과 aRSV-emAb 카세트의 AAV를 통한 전달은 마우스 B 세포를 재생가능하게 변형시켰으며, 쥐과 B 세포의 8-24%가 RSV-F에 결합한다 (도 30C, 30D). 1-7%의 세포들에서의 삽입 또한 AAV 대신 짧은 상동성 영역을 함유하는 이중 가닥 DNA (dsDNA)를 사용하여 구현되었으며 (도 30C, 30D (또한 실시예 1 참조)), 이는 순수하게 합성 성분들을 사용한 B 세포의 emAb 조작 가능성을 제공하였다. 조작된 분비 항체의 높은 역가는 또한 두 방법 모두에 의해 생성된 배양 상청액에서 검출 될 수 있다 (도 30E).
- [0303] 항바이러스 보호 가능성을 테스트하기 위해  $1.5 \times 10^7$  개의 유전자-변형된 마우스 B 세포들을 야생형 Balbc/byJ 마우스에 주입한 후, 혈액 채취 및 RSV 접종하였다 (도 31A). RSV-특이적 항체 및 유전자-변형된 B 세포는 유전자-변형된 B 세포의 전달 6 일 후에 혈액에 존재하였다 (도 31B, 31C). 중요하게는, 유전자-변형된 B 세포를 제공받은 마우스는 RSV 감염에 대해 거의 완전히 보호되었다 (도 31D). 이러한 보호는 감염 2일 전 팔리비주맵 주사로 제공되었다 (도 31D). RSV 및 인플루엔자를 표적하는 혼합된 인간 emAb 세포의 NOD-scid IL2R감마넬 (NSG) 마우스에 대한 전달은 두 바이러스 모두를 표적하는 항체의 혈청 역가를 초래하였다 (도 32A, 32B). 이러한 결과는 본원에 개시된 유전자-변형된 B 세포가 바이러스 감염에 대하여 보호함을 보여준다.

- [0304] 방법. 단쇄 항체 템플릿 서열들의 설계. 인간: 항체 구조체는 IgVH1-69 중쇄 프로모터 영역 (서열 번호: 111), 전장 항체 경쇄 (예컨대, 서열 번호: 113, 145, 154, 및 161 (뉴클레오티드) 및 서열 번호: 119, 148, 157, 및 165 (아미노산)), 스트랩태그II 모티프의 3개 탠덤 카피를 함유하는 57 아미노산 글리신-세린 링커 (서열 번호: 116 (뉴클레오티드) 및 서열 번호: 122 (아미노산)), 중쇄의 가변 영역 (예컨대, 서열 번호: 117, 147, 156, 및 164 (뉴클레오티드) 및 서열 번호: 123, 150, 159, 및 168 (아미노산)), 및 매칭 IgHJ 가변 영역으로부터 유래한 60개 염기쌍의 연결 서열을 가지는 스플라이스 접합 (예컨대, 서열 번호: 124 및 151)을 포함하였다.
- [0305] 마우스: 항체 구조체는 J5558H10 중쇄 프로모터 (서열 번호: 128, V.A Love 외, Molecular Immunology 2000), 전장 코돈 최적화 항체 경쇄 (예컨대, 서열 번호: 130 (뉴클레오티드) 및 서열 번호: 135 (아미노산)), 스트랩태그 II 서열의 3개 탠덤 카피를 함유하는 57개 아미노산 글리신-세린 링커 (서열 번호: 116 (뉴클레오티드) 및 서열 번호: 122 (아미노산)), 항체 중쇄의 코돈 최적화 가변 영역 (서열 번호: 133 (뉴클레오티드) 및 서열 번호: 138 (아미노산)), 및 마우스 IGJH3 유전자 분절에서 유래한 60개 염기쌍의 연결 서열을 가지는 스플라이스 접합 (예컨대, 서열 번호: 139)를 포함하였다.
- [0306] 예시 항체 구조체들의 전체 서열들은 도 25B-25I에서 찾을 수 있다.
- [0307] 재조합 AAV 벡터들의 제조. AAV 벡터를 AAV 벡터, 혈청형 6 캡시드, 및 아데노바이러스 헬퍼 플라스미드 (pHelper)를 PEI를 사용하여 HEK293T 세포에 3회 형질감염하여 생성하였다. 형질감염 24시간 후, 배지를 무혈청 DMEM으로 바꾸고, 72 시간 후 세포들을 수집하였으며, 동결-융해하여 용해시키고, 벤조나제 처리하고, 아이오딕 사놀 농도구배를 통해 정제하고 Amicon Ultra-15 컬럼 (EMD Millipore)을 사용하여 PBS으로 농축시켰다 (Choi, 외, (2007). Curr Protoc Mol Biol Chapter 16: Unit 16 25). 바이러스 스톱의 역가를 AAV 게놈의 qPCR로 결정하였으며, 마이크로리터 당  $5 \times 10^{10}$  내지  $1 \times 10^{12}$  범위였다 (Aurnhammer, 외, (2012). Hum Gene Ther Methods 23(1): 18-28).
- [0308] 쥐과 dsDNA emAb 템플릿의 제조.
- [0309] aRSV-emAb 템플릿들을 증폭하였으며 다음과 같은 변형된 DNA 올리고에 의해 짧은 상동성 영역을 추가하였다:
- [0310] 정방향 프라이머: (5' 포스페이트 함유, 볼드체는 마우스 게놈 상동성 영역)
- [0311] /5Phos/**ACCACCTCTGTGACAGCATTATACAGTATCCGATGGACAAGTGAGTGTCTCAGGTTAGGATTCT** (서열 번호: 278)
- [0312] 역방향 프라이머 (포스포로티오에이트 안정화된 DNA 결합을 함유 (\*) 볼드체는 마우스 게놈 상동성 영역)
- [0313] **T\*A\*A\*AGAAAGTGCCCCACTCCACTCTTTGTCCCTATGCTTGACCACAATGAATACTCCCACC** (서열 번호: 279)
- [0314] dsDNA 템플릿을 PCR로 증폭시키고 정제하고, minElute PCR 클린업 컬럼 (Qiagen)을 사용하여 농축하였다.
- [0315] 세포주. 3T3-msCD40L을 NIAID, AIDS 분과, NIH AIDS 시약 프로그램의 Dr. Mark Connors 박사로부터, NIH: 카탈로그#12535로 얻었다. 3T3 세포들을 10% 우 태아 혈청 (Gibco), 100 U/ml 페니실린 그리고 100 µg/mL 스트렙토마이신 (Gibco), 및 G418 (350 µg/mL)을 가진 DMEM 배지에서 배양하였다.
- [0316] RAMOS 세포들은 ATCC (CRL-1596<sup>TM</sup>)로부터 얻었다. RAMOS 세포들을 10% 우 태아 혈청 (Gibco), 100 U/ml 페니실린 그리고 100 µg/mL 스트렙토마이신 (Gibco)을 가진 RPMI 배지에서 배양하였다.
- [0317] 마우스 B 세포 배양 및 전기천공. 기본 B 세포 배지는, 상기 설명한 바와 같이 무 항생제 단계에서를 제외하고, 10% 우태 혈청 (Gemini Biosciences), 10mM HEPES (Gibco), 1 mM 소듐 피루베이트, (Gibco), 55 µM 베타-머캅토에탄올 (Sigma), 및 100 U/ml 페니실린 그리고 100 µg/mL 스트렙토마이신 (Gibco)이 있는 RPMI 배지를 포함하였다.
- [0318] B 세포를 자성 비드 (Miltenyi)를 이용한 음성 선택을 통해 비장 및 림프절로부터 단리하고, 100 ng/ml 재조합 담체 무 HA-태그된 마우스 CD40L (R&D systems), 100 ng/ml 항-HA 항체 (클론 543851, R&D systems), 및 4 ng/ml 마우스 IL-4 (R&D systems)가 보충된 B 세포 배지에서  $2 \times 10^6$  /ml로 24시간 동안 배양되었다. 이어서, 다음과 같이 네온 형질감염 시스템을 사용하여 B 세포를 전기천공시켰다. Cas9 단백질 (Invitrogen) 및 합성 sgRNA (Synthego)를 1 µg Cas9 대 300 ng sgRNA의 비율로 혼합하고 실온에서 10분 이상 배양하였다. B 세포를

PBS로 세척하고 12  $\mu$ g의 Cas9 RNP/ $10^6$ 개 세포들을 이용하여  $2.5 \times 10^7$ 개 세포/ml의 최종 밀도로 Neon 완충액 T에 현탁시켰다. dsDNA 조건을 위해, 7.5  $\mu$ g dsDNA 템플릿/ $10^6$ 개 세포들을 또한 전기천공에 포함시켰다. 세포를 전기천공하고 (1675 V, 10 밀리초, 3 펄스), 예열된 무 항생제 배지에 즉시 분배하였다. AAV 조건을 위해, PBS에서 농축된 AAV를 최종 배양 부피의 최대 15%까지 추가하였다. 전기천공 후, B 세포들을 100 ng/ml 재조합 담체 무 HA-태그된 마우스 CD40L (R&D systems), 100 ng/ml 항-HA 항체 (클론 543851, R&D systems), 4 ng/ml 마우스 IL-4 (R&D systems), 및 20 ng/ml 마우스 IL-21. (Biolegend)로 보충된 B 세포 배지로 추가 48시간 동안 확장시켰다. 2차 확장을 위해, B 세포를 20 ng/ml 마우스 IL-21의 존재하에서 방사선조사된 (80 Gy) NIH 3T3-CD40L 피더 세포와 공동-배양하였다. (Biolegend).

- [0319] 인간 B 세포 배양 및 전기천공. 인간 B 세포 배양을 위한 기본 배지 (hBCM)는 상기 설명한 바와 같이 무항생제 단계에서를 제외하고 10% FBS (Gemini Biosciences), 100 U/ml 페니실린 및 100  $\mu$ g/mL 스트렙토마이신 (Gibco)이 있는 IMDM 배지에 존재하였다.
- [0320] 인간 PBMC는 Fred Hutchinson 암 연구 센터를 통해 얻었다. 제조업체의 프로토콜에 따라, 세포들을 해동시키고, Miltenyi B 세포 분리 키트 II (인간)를 사용하여 음성 선택하여 분리하였다. 분리된 세포들을 100 ng/mL MEGACD40L (Enzo Life Sciences), 50 ng/mL 재조합 IL-2 (Biolegend), 50 ng/mL IL-10 (Shenendoah Biotech), 10 ng/mL IL-15 (Shenendoah Biotech), 1  $\mu$ g/mL CpG ODN 2006 (IDT)이 보충된 hBCM에  $0.5-1.0 \times 10^6$ 개 세포/mL로 재현탁시켰다.
- [0321] 자극 48시간 후, 세포들을 네온 형질감염 시스템을 사용하여 전기천공하였다. Cas9 단백질 (Invitrogen) 및 H7 sgRNA (Synthego)를 실온에서 20분 동안 완충액 T에서 2:1 비율로 사전복합체화하였다. 세포들을 PBS (Gibco)로 세척하고 사전복합체화된 Cas9 RNP를 함유하는 완충액 T에서  $2.5 \times 10^7$ 개 세포/ml의 최종 농도까지 완충액 T에 재현탁시켰다. 세포-RNP 혼합물을 10 $\mu$ L 네온 형질감염 팁에 부하하고, 1750V, 20ms, 및 1 펄스 설정으로 제조업체 프로토콜에 따라 전기천공하였다. 전기천공 직후, 세포들을 상기 설명한 바와 같은 항생제없는 자극 배지에 도말하였다. 30분 후, AAV를 10-15% 배양 부피의 최종 농도까지 추가하고 완전히 혼합하였다. 2-4 시간 후, 세포들을 보다 큰 배양 접시에 옮겨 추가 확장하게 두었다.
- [0322] 전기천공 2일 후, 세포들을 플루오로크롬 표지된 항원 또는 스트렙타빈으로 염색하고 유전자-변형된 세포들을 선택하였다. 2차 확장을 위해, B 세포들을, 5  $\mu$ g/mL 인간 재조합 인슐린 (Sigma), 50  $\mu$ g/mL 트랜스페린 (Sigma), 50 ng/mL 재조합 IL-2 (Biolegend), 20 ng/mL IL-21 (Biolegend), 및 10 ng/mL IL-15 (Shenendoah Biotech)를 함유하는 hBCM에서 방사선조사된 (80 Gy) NIH 3T3-CD40L 피더 세포들과 함께 공동배양하였다.
- [0323] 혈장 세포들로의 분화를 촉진하기 위하여, 세포들을 확장 조건으로부터 5  $\mu$ g/mL 인간 재조합 인슐린 (Sigma), 50  $\mu$ g/mL 트랜스페린 (Sigma), 500 U/mL 유니버설 유형 I IFN 단백질 (R&D Systems), 50 ng/mL IL-6 (Shenendoah Biotech), 10 ng/mL IL-15 (Shenendoah Biotech)가 보충된 hBCM을 함유하는 새로운 무 피더 배양 조건으로 옮겼다.
- [0324] TIDE에 의한 sgRNA 활성의 평가. 전기천공 후 3-5 일에 모의 및 cas9/sgRNA 처리된 세포로부터 총 게놈 DNA를 분리하였다. sgRNA 표적 부위에 연결한 500-600개 염기쌍 영역을 다음 올리고를 사용하여 PCR로 증폭시켰다:
- [0325] 마우스:
- [0326] 정방향: GGCTCCACCAGACCTCTCTA (서열 번호: 274)
- [0327] 역방향: AACCTCAGTCACCGTCTCCT (서열 번호: 275)
- [0328] 인간:
- [0329] 정방향: ACAGTAAGCATGCCTCCTAAG (서열 번호: 276)
- [0330] 역방향: GCCACTCTAGGCCTTTTGT (서열 번호: 277)
- [0331] 정제된 PCR 생성물을 생어 시퀀싱하였으며, 모의 전기천공된 세포들에 대한 Cas9/sgRNA 전기천공된 세포들에서의 삽입결실 빈도를 ICE 알고리즘을 사용하여 결정하였다 (Hsiao, 외, (2018). "Inference of CRISPR Edits from Sanger Trace Data." bioRxiv).
- [0332] 단백질 항원. 예비-융합 RSV-F 단백질, EBV gh/gI 복합체, 및 변형된 HIV env 항원 (426c TM4 d1-3)을 문헌에 기재된 바와 같이 제조하였다 (McLellan, 외, (2013). Science 342(6158): 592-598; McGuire, 외, (2016). Nat

Commun 7: 10618; Snijder, 외, (2018). Immunity 48(4): 799-811 e799). 안정화된 인플루엔자 HA-줄기를 문헌에 기재된 바와 같이 균주 H1 1999 NC로부터 유래한 VRC 클론 3925로부터 생성하였다 (Yassine, 외, (2015). Nat Med 21(9): 1065-1070). 단량체 선융합 RSV-F 단백질을 Alexa-488로 표지하였다 (Thermo Fisher). 모든 다른 단백질들을 0.8 내지 2의 비오틴:단백질 물비를 사용하여 비오틴에 접합시킨 후, 스트렙타비딘-PE 또는 -APC (프로자임)으로 사랑체화하였다

[0333] 유세포 분석. 유세포 분석법을 FACSymphony 기기 (BD bioscience)에서 실시하였으며, 세포들을 Aria II (BD bioscience)에서 분류하고, 데이터를 FlowJo 소프트웨어 (Tree Star)를 사용하여 분석하였다.

[0334] 마우스에서 EmAb 치료 연구. 동물 연구는 Fred Hutchinson 암 센터 기관 동물 실험 윤리 위원회에 따라 승인받아 시행하였다.

[0335] RSV 접종을 위해, EmAb 또는 대조 B 세포들을  $1.5 \times 10^7$  개 세포의 단회 복강내 (IP) 투여량으로 투여하였다. 팔리비주맙의 수동 전달을 위해, 마우스에게 15 mg/kg i.p. GFP-발현 RSV (본 명세서에서 간단히 RSV로 지칭됨)를 단회 투여한 마우스를 일반적으로 제공하였다 (Munir, 외, (2008). J Virol 82(17): 8780-8796). 연령 매칭된 BALB/cByJ 마우스 (Jackson Labs)에게 40  $\mu$ L PBS에서  $10^6$  pfu의 수크로스 정제된 RSV를 비강내 접종하였다. 감염 5일 후 폐를 수확하고, 문헌에 기재된 바와 같이 플라크 분석법으로 역가를 결정하였다 (Murphy, 외, (1990). Vaccine 8(5): 497-502). 요약하면, 폐를 GentleMACS 분리장치에서 2 mls 배지에 균질화시키고, 400 $\times$ g에서 10분 동안 원심분리하여 정화시킨 다음, 급속 동결시키고 -80 $^{\circ}$ C에서 보관하였다. 상청액을 DMEM 배지에서 1:10 및 1:20으로 2회 희석하였다. 각 희석액 100  $\mu$ L를 37 $^{\circ}$ C에서 2시간 동안 24웰 플레이트의 합류 Vero 세포에 첨가하였다. 이후 0.8% 메틸셀룰로오스 오버레이를 추가하고, 플레이트를 5일 동안 배양한 후, GFP에 대한 필터 세팅이 구비되어 있는 Typhoon 영상화장치에서 이미지화하였다. pfu/폐의 역가는 최고 양성 희석에서 플라크 수를 계수하고 희석 배수에 대해 보정하여 계산되었다.

[0336] 인간 세포의 생착을 위해, 인간 emAb B 세포를  $5 \times 10^6$  개 세포/emAb 특이성 (총  $1 \times 10^7$ )의 단일 IP 용량으로 NOD-*scid* $\beta$  IL2R $\gamma$ 마<sup>NSG</sup> (NSG) 마우스 (FHCRC 육종 설비에 의해 생성됨)에 투여하였다. 전달 7일 후, 혈액을 채취하고, 혈청 내 RSV-F 및 HA-줄기에 대한 인간 emAb 역가를 ELISA로 결정하였다.

[0337] 통계적 분석. GraphPad Prism 7을 사용하여 통계 분석을 실시하였다. 웰치 보정한 비대응 t-검정을 사용하여 쌍별 비교를 실시하였다.

[0338] 본 명세서에 기재된 핵산 서열들을 37 C.F.R. §에 정의된, 뉴클레오타이드 염기에 대한 표준 문자 약어를 사용하여 나타낸다. 일부 예들에서, 각 핵산 서열 중 단 하나의 가닥만을 나타내지만, 상보적 가닥은 적절한 구체예에 포함되어 있는 것으로 이해된다. 예로서, 서열 번호: 5-84를 포함하는 표적 부위들에 상보적인 서열들은 이들 부위들을 표적하기 위한 gRNA 표적화 서열들을 제공한다.

[0339] 본 명세서에 기재된 선택 항체 구조체를 인코딩하는 임의의 핵산이 이용될 수 있다. 본 명세서에 개시된 핵산 서열들의 변이체들은 다양한 서열 다형체, 돌연변이, 및 변형들을 포함하며, 이 때 서열의 차이는 인코딩되는 단백질의 기능에 실질적으로 영향을 주지 않는다. 용어 핵산 또는 "유전자"는 코딩 서열들 뿐만 아니라 조절 영역, 가령, 프로모터, 인핸서, 및 종결 영역을 포함할 수 있다. 이 용어는 추가로 모든 인트론 및 mRNA 전사체로부터 스플라이스된 다른 DNA 서열들을, 다른 스플라이스 부위들로부터 생성된 변이체들과 함께 포함할 수 있다. 인코딩 핵산은 하나 이상의 선택 항체 구조체의 발현을 지시하는 DNA 또는 RNA 일 수 있다. 이들 핵산 서열들은 RNA로 전사되는 DNA 가닥 서열 또는 단백질로 번역되는 RNA 서열 일 수 있다. 핵산 서열들은 전장 핵산 서열들 뿐만 아니라 전장 단백질로부터 유래한 비-전장 서열들 모두를 포함한다. 이러한 서열들은 또한 고유 서열 또는 특정 세포 유형에서 코돈 선호도를 제공하기 위해 도입될 수 있는 서열들의 퇴화 코돈을 포함할 수 있다. 선택 항체 구조체를 인코딩하는 핵산 서열들은 선택 항체 구조체의 관련 아미노산 서열로부터 용이하게 제조될 수 있다.

[0340] 단백질 서열들의 "변이체"는 본 명세서의 다른 부분에 개시된 단백질 서열과 비교하여 하나 이상의 아미노산 부가, 결실, 정지 위치, 또는 치환을 가지는 변이체들을 포함한다.

[0341] 아미노산 치환은 보존적 또는 비-보존적 치환일 수 있다. 본 명세서에 개시된 단백질 서열의 변이체들은 하나 이상의 보존적 아미노산 치환을 가지는 변이체들을 포함할 수 있다. "보존적 치환" 또는 "보존적 아미노산 치환"은 다음 보존적 치환 그룹들 중 하나에 나타난 치환을 포함한다: 그룹 1: A, G, S, T; 그룹 2: D, E; 그룹



3: N, Q; 그룹 4: R, K, H; 그룹 5: I, L, M, V; 및 그룹 6: F, Y, W.

- [0342] 또한, 아미노산들은 유사한 기능 화학적 구조, 또는 조성 (예컨대, 산성, 염기성, 지방족, 방향족, 또는 황-함유)에 따라 보존적 치환 그룹들로 그룹화 될 수 있다. 예를 들면, 지방족 그룹화는 치환의 목적으로, G, A, V, L, 및 I를 포함할 수 있다. 서로에 대해 보존적 치환으로 고려되는 아미노산들을 포함하는 다른 그룹들은 다음을 포함한다: 황-함유: M 및 C; 산성: D, E, N, 및 Q; 작은 지방족, 비극성 또는 약간 극성 잔기: A, S, T, P, 및 G; 극성, 음으로 하전된 잔기 및 이들의 아마이드: D, N, E, 및 Q; 극성, 양으로 하전된 잔기: H, R, 및 K; 대형 지방족, 비극성 잔기: M, L, I, V, 및 C; 및 대형 방향족 잔기: F, Y, 및 W.
- [0343] 비보존적 치환은 다음과 같은 크게 영향을 미치는 치환을 포함한다: 변경 영역에서 펩티드 골격의 구조 (백색, 알파-나선형 또는 베타-시트 구조); 표적 부위에서 분자의 전하 또는 소수성; 또는 측쇄의 벌크. 일반적으로 단백질 성질의 가장 큰 변화를 생성할 것으로 예상되는 비-보존적 치환은 (i) 친수성 잔기 (예컨대 S 또는 T)가 소수성 잔기 (예컨대 L, I, F, V, 또는 A)로 (또는 의해) 치환될 수 있거나; (ii) C 또는 P가 임의의 다른 잔기로 (또는 에 의해) 치환될 수 있거나; (iii) 전기양성 측쇄를 가지는 잔기 (예컨대 K, R, 또는 H)가 전기음성 잔기 (예컨대 Q 또는 D)로 (또는 에 의해) 치환될 수 있거나; 또는 (iv) 벌크 측쇄를 가지는 잔기 (예컨대 F)가 벌크 측쇄를 가지지 않는 잔기 (예컨대 G)로 (또는 에 의해) 치환될 수 있는 것들이다. 추가 정보는 Creighton (1984) *Proteins*, W.H. Freeman and Company의 문헌에서 발견된다.
- [0344] 본원에 개시된 핵산 및 단백질 서열들의 변이체는 또한 본 명세서에 개시된 참조 서열과 적어도 70% 서열 동일성, 적어도 80% 서열 동일성, 적어도 85% 서열 동일성, 적어도 90% 서열 동일성, 적어도 95% 서열 동일성, 적어도 96% 서열 동일성, 적어도 97% 서열 동일성, 적어도 98% 서열 동일성, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는 서열들을 포함한다.
- [0345] 본원에서 제시된 서열에 대한 "퍼센트 (%) 서열 동일성"은 서열 정렬 후 그리고, 필요한 경우 최대 퍼센트 서열 동일성을 달성하기 위해 갭을 도입하는 단계 후, 참조 서열의 핵산 또는 아미노산 잔기와 동일한, 후보 서열의 핵산 또는 아미노산 잔기의 백분율로 정의된다. 핵산 또는 아미노산 서열 동일성 퍼센트를 결정하기 위한 정렬은 예를 들어 BLAST, BLAST-2, ALIGN, ALIGN-2 또는 Megalign (DNASTAR) 소프트웨어와 같은 공개적으로 이용가능한 컴퓨터 소프트웨어를 사용하여 해당 분야의 기술 범위에 속하는 다양한 방법으로 구현될 수 있다. 해당 기술분야의 숙련된 기술자는 비교되는 서열들의 전장에 걸쳐 최대 정렬을 구현하는데 필요한 임의의 알고리즘을 비롯하여 정렬을 측정하기 위한 적절한 매개변수들을 결정할 수 있다. 예를 들면, 대부분이 기본 값으로 설정되어 있는 몇 가지 검색 파라미터를 사용하는 WU-BLAST-2 컴퓨터 프로그램 (Altschul 외, *Methods in Enzymology*, 266:460-480 (1996))을 사용하여 % 서열 동일성 값을 생성하였다. 기본 값으로 설정되지 않는 파라미터들 (즉, 조정가능한 파라미터)는 다음과 같은 값들로 설정된다: 오버랩 폭 = 1, 오버랩 분율 = 0.125, 워드역치 (T) = 11 및 점수화 매트릭스 BLOSUM62.
- [0346] 변이체는 전형적으로 동일한 정 성적 생물학적 활성을 나타내고, 참조 핵산 또는 펩티드 서열과 실질적으로 유사한 생물학적 반응을 유도 할 것이나, 필요에 따라 참조 핵산 또는 펩티드의 특성을 변형시키기 위해 변이체를 선택할 수 있다. 변이체의 스크리닝은 본원에 기재된 실험 프로토콜을 사용하여 실시 될 수 있다.
- [0347] 숙련된 기술자에게 이해되는 바와 같이, 본원에 개시된 각각의 구체예는 언급된 특정 요소, 단계, 구성성분 또는 성분을 포함하거나, 본질적으로 이들로 구성되거나 또는 이들로 구성될 수 있다. 따라서, "비롯하다"또는 "비롯한"이라는 용어는 "포함하다, ~로 구성된다, 또는 ~로 본질적으로 구성된다"를 의미하는 것으로 해석되어야 한다. "포함하다 (comprise)" 또는 "포함하다 (comprises)"라는 변화 용어는, 심지어 많은 양으로, 비특정 요소, 단계, 구성성분 또는 성분들 (그러나 이에 제한되는 것은 아님)을 포함함을 의미한다. "~로 구성된"이라는 변화 어구는 특정되지 않은 임의의 요소, 단계, 구성성분 또는 성분을 제외시킨다. 변화 어구 "로 본질적으로 구성된"은 구체예의 범위를 특정된 요소, 단계, 구성성분 또는 성분들에 그리고 해당 구체예에 물질적으로 영향을 미치지 않는 것들에 제한한다. 물질 효과는 선택 항체의 B 세포 발현에 있어서 통계적으로 유의한 B 세포 발현 감소를 유발할 것이다.
- [0348] 달리 지시되지 않는 한, 본 명세서 및 청구범위에서 사용되는 성분, 성질, 가령, 분자량, 반응조건 등의 양을 표현하는 모든 수치는 모든 경우에 용어 "약"에 의해 변형되는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 반대의 언급이 없는 한, 본 명세서 및 첨부된 청구범위에 제시된 수치 파라미터들은 근사치로서 본 발명으로 얻고자 하는 원하는 성질에 따라 달라질 수 있다. 최소한, 청구범위에 대한 균등론 적용을 제한하고자 하는 것은 아니지만, 동일한 각각의 수치 파라미터는 최소한 기록된 유효 자리수의 수를 고려하여 그리고 통상의 올림법을 적용하여 해석되어야 한다. 추가의 명확성이 요구되는 경우, 용어 "약"은 언급된 수치 또는 범위와 함께 사용될 때, 숙련

된 기술자자에 의해 합리적으로 부여되는 의미, 즉, 언급된 수치 또는 범위보다 다소 많거나 다소 작은 범위, 명시된 값의  $\pm 20\%$  범위 내; 명시된 값의  $\pm 19\%$ ; 명시된 값의  $\pm 18\%$ ; 명시된 값의  $\pm 17\%$ ; 명시된 값의  $\pm 16\%$ ; 명시된 값의  $\pm 15\%$ ; 명시된 값의  $\pm 14\%$ ; 명시된 값의  $\pm 13\%$ ; 명시된 값의  $\pm 12\%$ ; 명시된 값의  $\pm 11\%$ ; 명시된 값의  $\pm 10\%$ ; 명시된 값의  $\pm 9\%$ ; 명시된 값의  $\pm 8\%$ ; 명시된 값의  $\pm 7\%$ ; 명시된 값의  $\pm 6\%$ ; 명시된 값의  $\pm 5\%$ ; 명시된 값의  $\pm 4\%$ ; 명시된 값의  $\pm 3\%$ ; 명시된 값의  $\pm 2\%$ ; 또는 명시된 값의  $\pm 1\%$ 의 범위를 갖는다.

[0349] 광범위한 발명들을 설명하는 수치 범위 및 파라미터가 근사치임에도 불구하고, 특정 예시들에 제시된 수치값들은 가능한 한 간결하게 기록된다. 그러나 임의의 수치는 본래 각각의 테스트 측정치들에서 발견되는 표준 편차로부터 필연적으로 생기는 특정 오차를 포함한다.

[0350] 본 발명을 기재하는 내용에서 (특히 청구범위의 내용에서) 용어 “하나” 및 “그것” 그리고 이와 유사한 지칭들은, 본 출원에서 달리 언급이 없는 한 또는 내용상 명확하게 반대가 아닌 한, 단수형 및 복수형 모두를 포함하는 것으로 해석되어야 한다. 본 출원에서 수치 범위의 언급은 해당 범위에 속하는 각각의 별도 수치를 개별적으로 언급하는 간단한 기재 방법으로 제공하고자 하는 것에 불과하다. 본 출원에 달리 언급이 없는 한, 각각의 개개의 값은 마치 본 출원에서 개별적으로 언급된 것처럼 명세서에 포함된다. 본 출원에 달리 언급이 없는 한 또는 내용상 달리 명확하게 반대의 언급이 없는 한, 본 출원에 기재된 모든 방법들은 임의의 적합한 순서로 실시될 수 있다. 본 출원에서 제공되는 임의의 그리고 모든 예시들, 그리고 예시적인 언어 (예컨대, “가령”)의 사용은 본 발명을 보다 잘 설명하기 위한 것이며 청구범위에 기재된 발명의 범위를 달리 제한하고자 하는 것이 아니다. 명세서의 어떠한 언어도 본 발명의 실시예에 필수적인 비-청구범위 기재 요소를 나타내는 것으로 해석되어서는 안된다.

[0351] 본 출원에 개시된 발명의 대안적 요소들 또는 구체예들의 그룹들은 제한으로 해석되어서는 안된다. 각 그룹 구성원은 본 출원에서 발견되는 해당 그룹의 다른 구성원들 또는 다른 요소들과 임의의 조합하여 또는 개별적으로 언급되고 청구될 수 있다. 한 그룹의 하나 이상의 구성원들은 편의성 및/또는 특허성을 이유로 한 그룹에 포함되거나 한 그룹에서 삭제될 수 있는 것으로 고려된다. 이러한 임의의 포함 또는 삭제가 발생할 경우, 명세서는 본 출원에 변형된 그룹을 포함하고 첨부된 청구범위에서 사용되는 모든 마쿠쉬 그룹들에 관한 기재 내용을 실시하는 것을 포함하는 것으로 한다.

[0352] 본 발명을 실시하기 위하여 발명자들에게 알려진 가장 우수한 방식을 비롯하여 본 발명의 특정 구체예들을 본 명세서에 기재하였다. 물론, 이러한 설명된 구체예들에 대한 변형은 전술한 설명을 읽으면 해당 분야의 숙련된 기술자들에게 자명해질 것이다. 발명자들은 숙련된 기술자가 이러한 변형을 적절히 이용하는 것을 예상하며, 발명자들은 본 발명이 본 출원에 구체적으로 기재되지 않은 다른 방식으로 실시될 수 있는 것으로 간주한다. 따라서, 본 발명은 적용되는 법에서 허용되는 한 첨부된 청구범위에서 언급된 발명 사상의 모든 변형 및 균등예를 포함한다. 더욱이, 상기 설명한 구성들의 모든 가능한 변형들에 속하는 이 구성들의 임의의 조합은 본 출원에서 달리 언급하지 않는 한 또는 달리 명확하게 본 내용에 대조되는 것으로 언급되지 않는 한 본 발명에 포함된다.

[0353] 또한, 본 출원 전반에 걸쳐 특허 문헌, 인쇄된 간행물들, 저널 논문 및 다른 서면 텍스트 (본원의 참고 문헌들)를 많이 참고하였다. 참고 자료 각각은 참고 교시를 위해 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

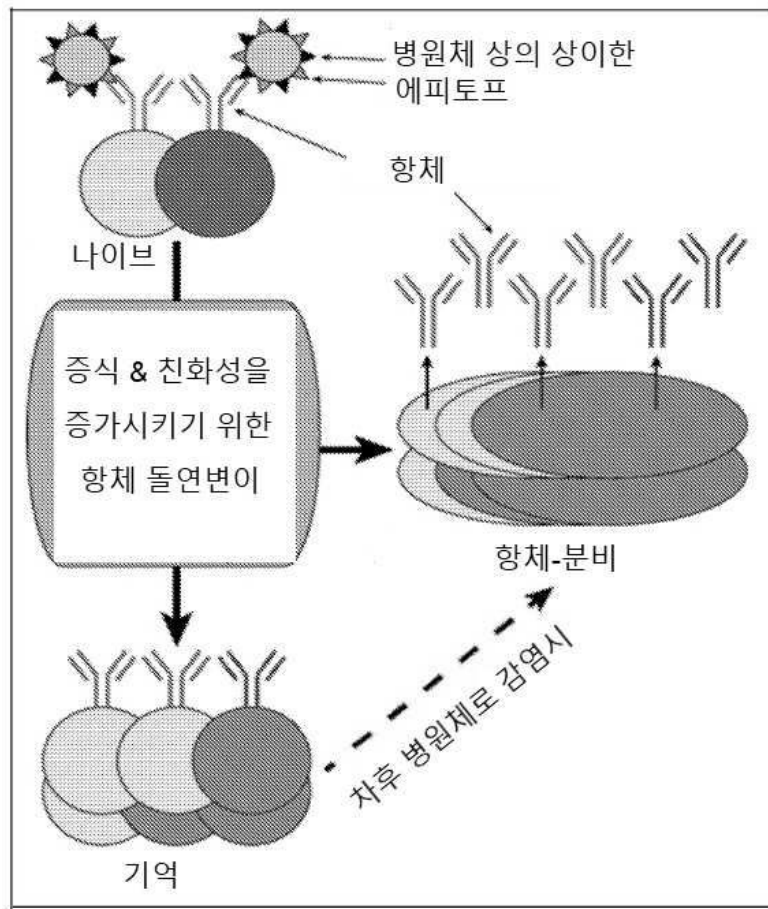
[0354] 끝으로, 본 출원에 개시된 본 발명의 구체예들은 본 발명의 원리를 설명하는 것으로 이해되어야 한다. 이용될 수 있는 다른 변형들이 본 발명의 범위에 속한다. 그러므로, 제한이 아닌 예로서, 본 발명의 대안적 구성들이 본 출원에 개시된 내용에 따라 이용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 도시되고 설명된 바와 같이 그리 간단하게 제한되는 것이 아니다.

[0355] 본 명세서에 도시된 세부 사항은 단지 예로서 그리고 본 발명의 바람직한 구체예에 대한 예시적인 논의를 목적으로 하며, 본 발명의 다양한 구체예의 원리 및 개념 양상을 가장 유용하고 용이하게 이해되는 것으로 여겨지는 것을 제공하고자 제시된다. 이와 관련하여, 본 발명의 기본적인 이해를 위해 필요한 것보다 더 상세하게 본 발명의 구조적 세부 사항을 보여주려고 시도하지 않았으며, 도면 및/또는 실시예에서 이루어지는 설명으로 본 발명의 몇 가지 형태들이 어떻게 실제로 구체화될 수 있는지가 해당 분야의 숙련된 기술자에게 명백해질 것이다.

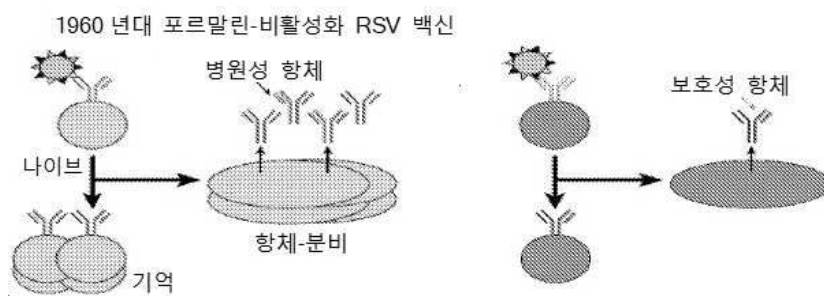
[0356] 본 개시에 사용된 정의 및 설명은 하기 실시예에서 명확하고 명백하게 수정되지 않는 한 또는 의미의 적용이 임의의 구성을 무의미하게 하거나 본질적으로 무의미하게 하는 경우 임의의 차후 구성에서 조절되는 것을 의미하고 의도한다. 용어의 구성이 이를 무의미하게 또는 본질적으로 무의미하게 만드는 경우, 이러한 정의는 해당 분야의 숙련된 기술자들에게 공지된 문헌 Webster의 사전, 제 3판 또는 사전, 가령, 옥스포드 생화학 및 분자 생물학 사전 (Ed. Anthony Smith, Oxford University Press, Oxford, 2004)으로부터 선택되어야 한다.

도면

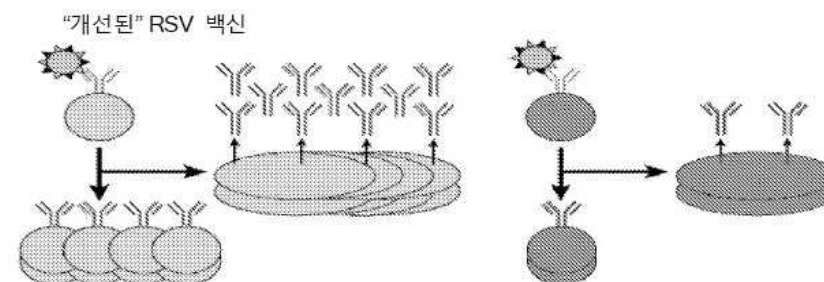
도면1



도면2a

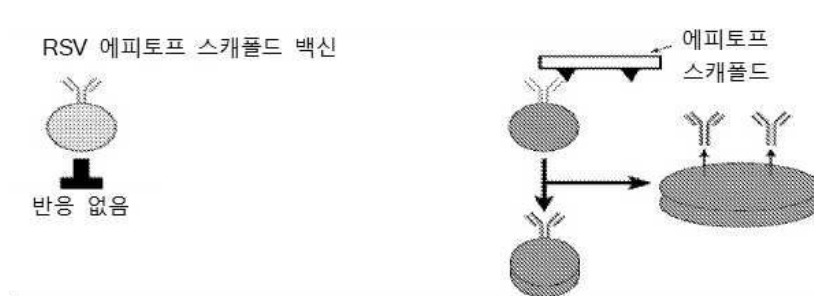


도면2b

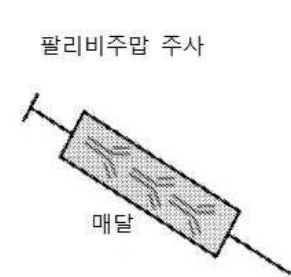




### 도면2c

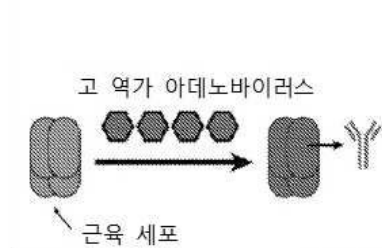


### 도면3a

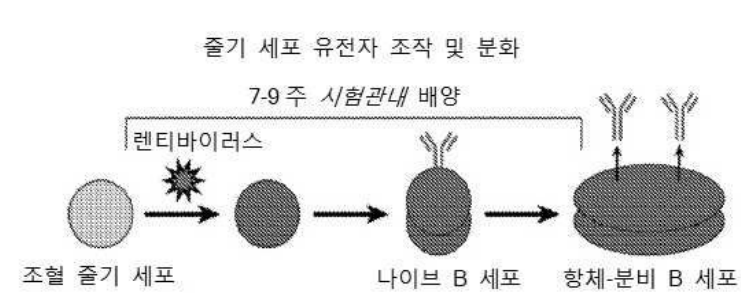


### 도면3b

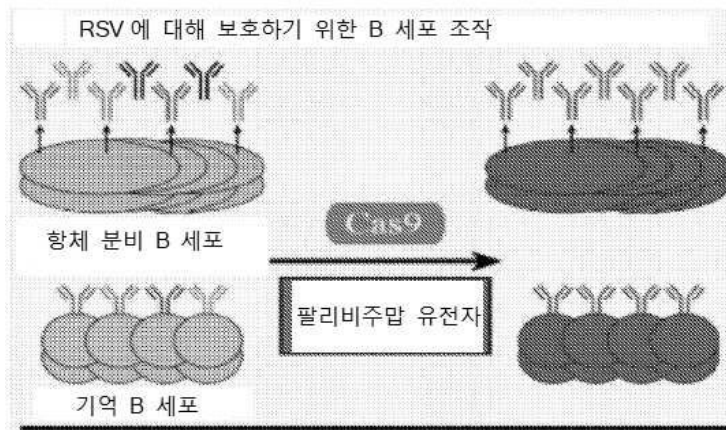
아데노바이러스-매개 팔리비주맵 발현



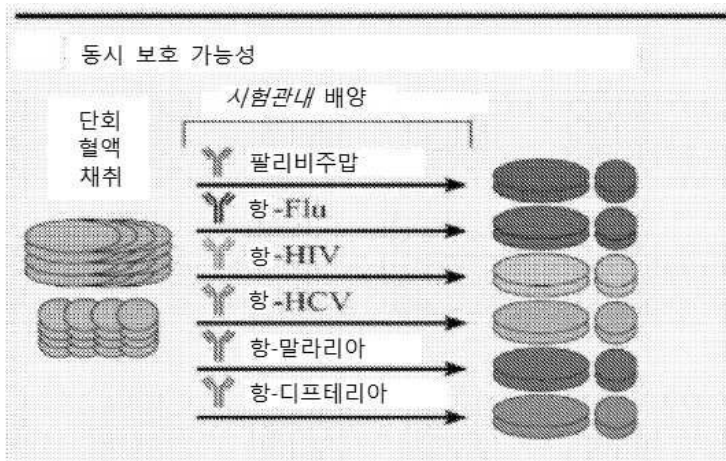
### 도면3c



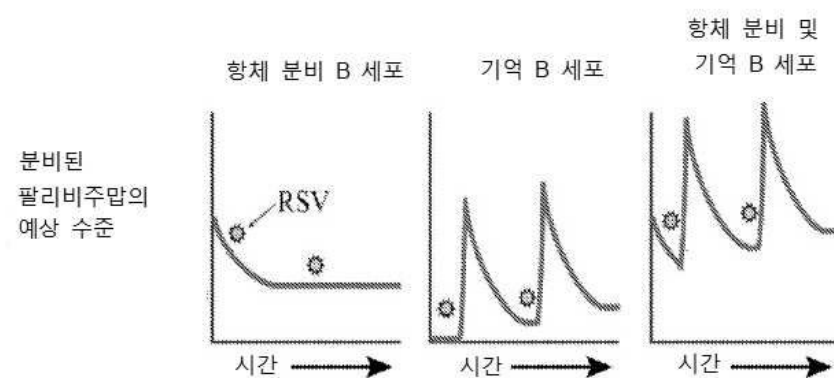
도면4a



도면4b



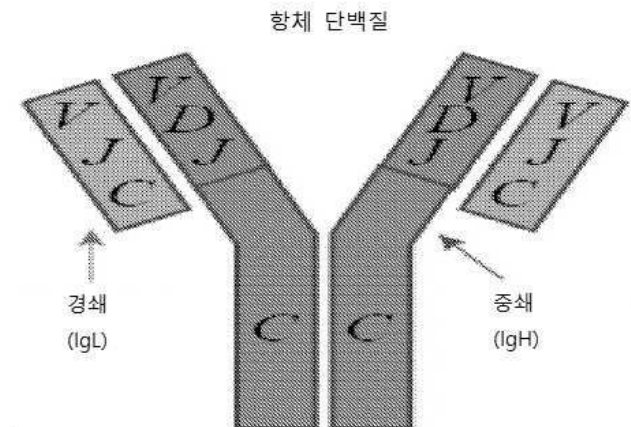
도면5



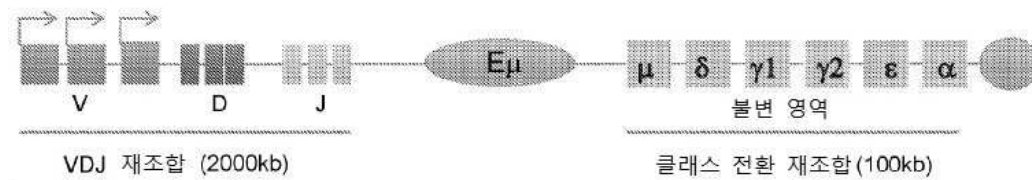
도면6a



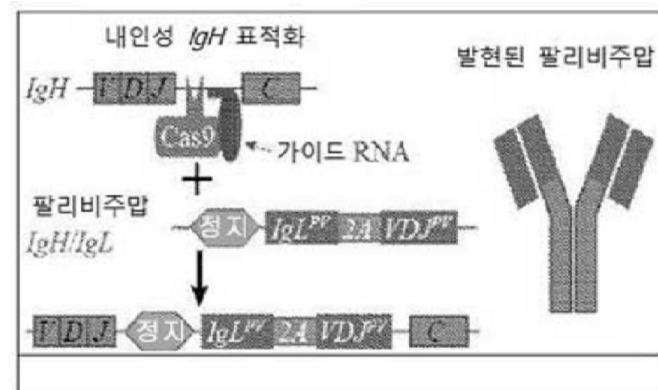
도면6b



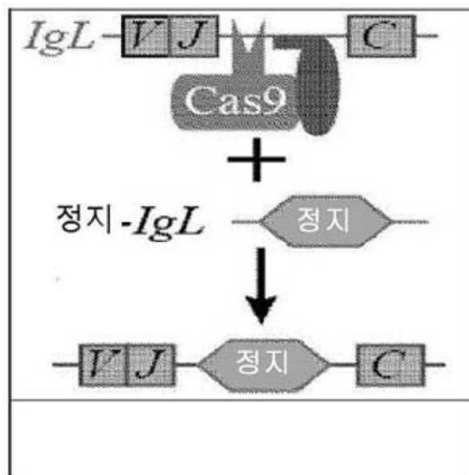
도면7



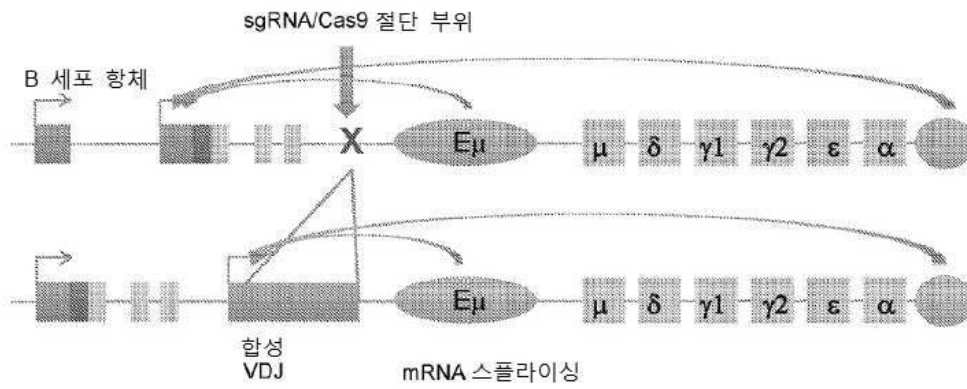
도면8a



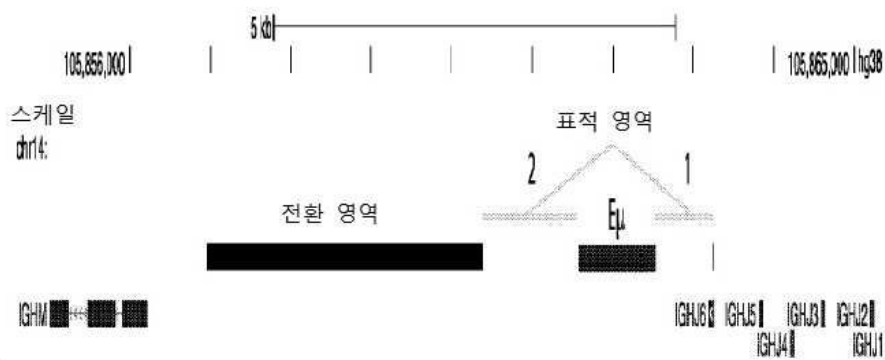
도면8b



도면9



도면10





도면11a

인간 Eμ 인트론 인핸서 서열:

G TAGTTGAAAAGTGGTCTTGAAAAATACTAAAAATGAAGGCCACTCTATCAGAATATCAAAGT  
GTTTCTCCTTAATCACAAAGAGAAAAACGAGTTAACCTAAAAAGATTGTGAACACAGTCATTA  
TGAAAATAATGCTCTGAGGTATCGAAAAAGTATTTGAGATTAATTATCACATGAAGGGATAA  
CAAGCTAATTTAAAAAACTTTTTGAATACAGTCATAAACTCTCCCTAAGACTGTTTAATTTCT  
TAAACATCTTACTTTAAAAATGAATGCAGTTTAGAAGTTGATATGCTGTTTGCACAACTAGC  
AGTTGATAAGCTAAGATTGGAATGAAATTCAGATAGTTAAAAAAGCCTTTTCAGTTTCGG  
TCAGCCTCGCCTTATTTTAGAAACGCAAATTGTCCAGGTGTTGTTTGTCTCAGTAGAGCACT  
TTCAGATCTGGGCCTGGGCAAAACCACTCTTCACAACCAGAAGTGATAAATTTACCAATT  
GTGTTTTTTTGTCTTCTAAATAGACTCTCGCGGTGACCTGCTTCTGCCACCTGCTGTGG  
GTGCCGGAGACCCCATGCAGCCATCTTGACTCTAATTCATCATCTGCTTCCAGCTTCGCT  
CAATTAATTAAAAAATAAACTTGATTTATGATGGTCAAAACGCAGTCCCGCATCGGGGGCCG  
ACAGCACTGTGCTAGTATTTCTTAGCTGAGCTTGCTTTGGCCTCAATTCCAGACACATATCA  
CTCATGGGTGTTAATCAAATGATAAGAATTTCAAATACTTGGACAGTTAAAAAATTAATATA  
CTTGAAAATCTCTCACATTTTAAAGTCA ( 서열 번호 : 85)

유전자 구조체 삽입을 위해 표적하는 인간 인트론 영역 1:

CTACATGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACCGTCTCCTCAGGTAAGAATGGCCA  
CTCTAGGGCCTTTGTTTTCTGCTACTGCCTGTGGGGTTTCTGAGCATTGCAGGTTGGTCC  
TCGGGGCATGTTCCGAGGGGACCTGGGCGGACTGGCCAGGAGGGGATGGGCACTGGGG  
TGCTTGAGGATCTGGGAGCCTCTGTGGATTTCCGATGCCCTTGGAAAATGGGACTCAG  
GTTGGGTGCGTCTGATGGAGTAACTGAGCCTGGGGGCTTGGGGAGCCACATTTGGACGA  
GATGCCTGAACAAACCAGGGGTCTTAGTGATGGCTGAGGAATGTGTCTCAGGAGCGGTGT  
CTGTAGGACTGCAAGATCGCTGCACAGCAGCGAATCGTGAAATATTTCTTTAGAATTATGA  
GGTGCGCTGTGTGTCAACCTGCATCTTAAATCTTTATTGGCTGGAAAGAGAACTGTCGGA  
GTGGGTGAATCCAGCCAGGAGGGACGCGTAGCCCCGGTCTTGATGAGAGCAGGGTTGGG  
GGCAGGGGTAGCCCAGAAACGGTGGCTGCCGTCCTGACAGGGGCTTAGGGAGGCTCCAG  
GACCTCAGTGCCTTGAAGCTGTTTTCCATGAGAAAAGGATTGTTTATCTTAGGAGGCATGC  
TACTGTAAAAAGACAGGATATGTTTGAAGTGGCTTCTGA GAAAAATGGTTAAGAAAATTAT  
( 서열 번호 : 1)

도면11ba

인간_영역_1_gRNA_1	GGTCCTCGGGGCATGTTCCG <u>AGG</u> (서열 번호 : 5)
인간_영역_1_gRNA_2	GGGCATGTTCCGAGGGGACCT <u>TGG</u> (서열 번호 : 6)
인간_영역_1_gRNA_3	GCATTGCAGGTTGGTCCTCG <u>GGG</u> (서열 번호 : 7)
인간_영역_1_gRNA_4	TCCTCGGGGCATGTTCCGAG <u>GGG</u> (서열 번호 : 8)
인간_영역_1_gRNA_5	GGCATGTTCCGAGGGGACCT <u>GGG</u> (서열 번호 : 9)
인간_영역_1_gRNA_6	GTCTCAGGAGCGGTGTCTGT <u>AGG</u> (서열 번호 : 10)
인간_영역_1_gRNA_7	AGCATTGCAGGTTGGTCCTC <u>GGG</u> (서열 번호 : 11)
인간_영역_1_gRNA_8	CCTGGGCGGACTGGCCAGGAG <u>GGG</u> (서열 번호 : 12)
인간_영역_1_gRNA_9	ACTGGGGTGCCCTTGAGGATC <u>TGG</u> (서열 번호 : 13)
인간_영역_1_gRNA_10	CCCCAGTGCCCATCCCCTCCT <u>TGG</u> (서열 번호 : 14)
인간_영역_1_gRNA_11	CTAAGACCCCTGGTTTGTTC <u>AGG</u> (서열 번호 : 15)
인간_영역_1_gRNA_12	TGTGGATTTTCCGATGCCTT <u>TGG</u> (서열 번호 : 16)
인간_영역_1_gRNA_13	AGGACCAACCTGCAATGCTC <u>AGG</u> (서열 번호 : 17)
인간_영역_1_gRNA_14	CTCAGGTTGGGTGCGTCTGAT <u>TGG</u> (서열 번호 : 18)
인간_영역_1_gRNA_15	CCCTCCTGGCCAGTCCGCCC <u>AGG</u> (서열 번호 : 19)
인간_영역_1_gRNA_16	GGCCAGGAGGGGATGGGCACT <u>TGG</u> (서열 번호 : 20)
인간_영역_1_gRNA_17	GAGATGCCTGAACAAACCAG <u>GGG</u> (서열 번호 : 21)
인간_영역_1_gRNA_18	AGGGGTCTTAGTGATGGCTG <u>AGG</u> (서열 번호 : 22)
인간_영역_1_gRNA_19	ATGGGCACTGGGGTGCCTTG <u>AGG</u> (서열 번호 : 23)
인간_영역_1_gRNA_20	TTCCGATGCCTTTGGAAAAT <u>GGG</u> (서열 번호 : 24)



도면11bb

인간_1_gRNA_1	GGUCCUCGGGGCAUGUCCG ( 서열 번호 : 290)
인간_1_gRNA_2	GGGCAUGUCCGAGGGGACC ( 서열 번호 : 291)
인간_1_gRNA_3	GCAUUGCAGGUUGGUCCUCG ( 서열 번호 : 88)
인간_1_gRNA_4	UCCUCGGGGCAUGUCCGAG ( 서열 번호 : 292)
인간_1_gRNA_5	GGCAUGUCCGAGGGGACCU ( 서열 번호 : 293)
인간_1_gRNA_6	GUCUCAGGAGCGGUGUCUGU ( 서열 번호 : 89)
인간_1_gRNA_7	AGCAUUGCAGGUUGGUCCUC ( 서열 번호 : 294)
인간_1_gRNA_8	CCUGGGCGGACUGGCCAGGA ( 서열 번호 : 295)
인간_1_gRNA_9	ACUGGGGUGCCUUGAGGAUC ( 서열 번호 : 296)
인간_1_gRNA_10	CCCCAGUGCCCAUCCCCUCC ( 서열 번호 : 297)
인간_1_gRNA_11	CUAAGACCCUGGUUUGUUC ( 서열 번호 : 298)
인간_1_gRNA_12	UGUGGAUUUCCGAUGCCUU ( 서열 번호 : 299)
인간_1_gRNA_13	AGGACCAACCUGCAAUGCUC ( 서열 번호 : 300)
인간_1_gRNA_14	CUCAGGUUGGGUGCGUCUGA ( 서열 번호 : 301)
인간_1_gRNA_15	CCCUCUGGCCAGUCCGCC ( 서열 번호 : 302)
인간_1_gRNA_16	GGCCAGGAGGGGAUGGGCAC ( 서열 번호 : 303)
인간_1_gRNA_17	GAGAUGCCUGAACAAACCAG ( 서열 번호 : 304)
인간_1_gRNA_18	AGGGGUCUUAGUGAUGGCUG ( 서열 번호 : 305)
인간_1_gRNA_19	AUGGGCACUGGGGUGCCUUG ( 서열 번호 : 306)
인간_1_gRNA_20	UUCCGAUGCCUUUGGAAAAU ( 서열 번호 : 307)

도면12a

유전자 구조체 삽입을 위해 표적하는 인간 인트론 영역 2

CTCACTTTAGGATAAGTTTTAGGTAAAATGTGCATCATTATCCTGAATTATTTTCAGTTAAGCA  
TGTTAGTTGGTGGCATAAGAGAAAACTCAATCAGATAGTGCTGAAGACAGGACTGTGGAGA  
CACCTTAGAAGGACAGATTCTGTTCCGAATCACCGATGCGGCGTCAGCAGGACTGGCCTA  
GCGGAGGCTCTGGGAGGGTGGCTGCCAGGCCCGCCTGGGCTTTGGGTCTCCCCGGAC  
TACCCAGA GCTGGGATGCGTGGCTTCTGCTGCCGGGCCGACTGGCTGCTCAGGCCCA  
GCCCTTGTTAATGGACTTGGAGGAATGATTCATGCCAAAGCTTTGCAAGGCTCGCAGTGA  
CCAGGCGCCCGACATGGTAAGAGACAGGCAGCCGCGCTGCTGCATTTGCTTCTCTTAAA  
ACTTTGTATTTGACGTCTTATTTCCACTAGAAGGGGAAGTGGTCTTAATTGCTTGATGAAGA  
GCAGGAGACTCATTTATGTGAGTCTTTTGAGTGACCATTGTCTGGGTCACCTCCCATTTAACT  
TTCCCTAAAGCCCATTTGAAGGAGAGGTCGCACGAGCTGCTCCACAACCTCTGAATGGGG  
ATGGCATGGGTAATGATGCTTGAGAACATACCAAGCCCCACTGGCATCGCCCTTGCTCTAAG  
TCATTGACTGTAGGTCATCATCGCACCCCTTGAAAGTAGCCCATGCCTTCCAAAGCGATTTAT  
GGTAAATGGCAGAATTTAAGTGGCAAATTCAGATAAAATGCATTTCTTGGTTGTTTCCAAT  
GATGACTGTT ATCTAGAGGGAATTTAAAGGCAGGGGTTTACTGCAGACTCAGAAGGGAGG  
GGATGCTCCGGGAAGGTGGAGGCTCTGAGCATCTCAATACCCTCCTCTTGGTGCAGAAGA  
TATGCTGCCACTTCTAGAGCAAGGGGACCTGCTCATTTTTATCACAGCACAGGCTCCTAAA  
TTCTTGGTCTCATTCTCAAGATGTTTTAATGACTTTAAAGCAGCAAAGAAATATTCCACCCA  
GGTAGTGGAGGGTGGTAATGATTGGTAATGCTTTGGAACCAAAACCCAGGTGGCGCTGGG  
GCAGGAC TGCAGGGAAGTGGGGTATCAAGTAGAGGGAGACAAAAGATGGAAGCCAGC  
CTGGCTGTGCAGGAACCCGGCAATGAGATGGCTTTAGCTGAGACAAGCAGGTCTGGTGG  
GCTGACCATTTCTGGCCATGACAACTCCATCCAGCTTTCAGAAATGGACTCAGATGGGCAA  
AACTGACCTAAGCTGACCTAGACTAAACAAGGCTGAAC ( 서열 번호 : 2)

도면12ba

인간_영역2_gRNA_1	CTGACGCCGCATCGGTGATT <u>CGG</u> ( 서열 번호 : 25)
인간_영역2_gRNA_2	TTAGACAAGGGCGATGCCAGT <u>TGG</u> ( 서열 번호 : 26)
인간_영역2_gRNA_3	CGTGCGACCTCTCCTTCAAAT <u>TGG</u> ( 서열 번호 : 27)
인간_영역2_gRNA_4	AGCATATCTTCTGCACCAAGAGG ( 서열 번호 : 28)
인간_영역2_gRNA_5	ATATTCCACCCAGGTAGTGG <u>AGG</u> ( 서열 번호 : 29)
인간_영역2_gRNA_6	GTGCGACCTCTCCTTCAAAT <u>GGG</u> ( 서열 번호 : 30)
인간_영역2_gRNA_7	AGGTCCCCTTGCTCTAGAAGT <u>TGG</u> ( 서열 번호 : 31)
인간_영역2_gRNA_8	CTCTAGATAACAGTCATCAT <u>TGG</u> ( 서열 번호 : 32)
인간_영역2_gRNA_9	TTGTCTAAGTCATTGACTGT <u>AGG</u> ( 서열 번호 : 33)
인간_영역2_gRNA_10	CCAAAGCGATTTATGGTAAAT <u>TGG</u> ( 서열 번호 : 34)
인간_영역2_gRNA_11	TCTTTTGAGTGACCATTGTCT <u>TGG</u> ( 서열 번호 : 35)
인간_영역2_gRNA_12	CCATTTACCATAAAATCGCTT <u>TGG</u> ( 서열 번호 : 36)
인간_영역2_gRNA_13	AGGGCGATGCCAGTGGGGCTT <u>TGG</u> ( 서열 번호 : 37)
인간_영역2_gRNA_14	AGCTAAAGCCATCTCATTGCC <u>CGG</u> ( 서열 번호 : 38)
인간_영역2_gRNA_15	CCACAACCTCTGAATGGGGAT <u>TGG</u> ( 서열 번호 : 39)
인간_영역2_gRNA_16	TTAATTGCTTGATGAAGAGC <u>AGG</u> ( 서열 번호 : 40)
인간_영역2_gRNA_17	TAGACAAGGGCGATGCCAGT <u>GGG</u> ( 서열 번호 : 41)
인간_영역2_gRNA_18	AAGCTGACCTAGACTAAACA <u>AGG</u> ( 서열 번호 : 42)
인간_영역2_gRNA_19	GCAGGAACCCGGCAATGAGAT <u>TGG</u> ( 서열 번호 : 43)
인간_영역2_gRNA_20	TCTGTTCCGAATCACCGATGC <u>CGG</u> ( 서열 번호 : 44)

도면12bb

인간_2_gRNA_1	CUGACGCCGCAUCGGUGAUU ( 서열 번호 : 308)
인간_2_gRNA_2	UUAGACAAGGGCGAUGCCAG ( 서열 번호 : 309)
인간_2_gRNA_3	CGUGCGACCUCUCCUUCAAA ( 서열 번호 : 310)
인간_2_gRNA_4	AGCAUAUCUUCUGCACCAAG ( 서열 번호 : 311)
인간_2_gRNA_5	AUAUCCACCCAGGUAGUGG ( 서열 번호 : 312)
인간_2_gRNA_6	GUGCGACCUCUCCUUCAAAU ( 서열 번호 : 313)
인간_2_gRNA_7	AGGUCCCCUUGCUCUAGAAG ( 서열 번호 : 314)
인간_2_gRNA_8	CUCUAGAUACAGUCAUCAU ( 서열 번호 : 315)
인간_2_gRNA_9	UUGUCUAAGUCAUUGACUGU ( 서열 번호 : 316)
인간_2_gRNA_10	CCAAAGCGAUUUUAUGGUAAA ( 서열 번호 : 317)
인간_2_gRNA_11	UCUUUUGAGUGACCAUUGUC ( 서열 번호 : 318)
인간_2_gRNA_12	CCAUUUACCAUAAAUCGCUU ( 서열 번호 : 319)
인간_2_gRNA_13	AGGGCGAUGCCAGUGGGGCU ( 서열 번호 : 320)
인간_2_gRNA_14	AGCUAAAGCCAUCUCAUUGC ( 서열 번호 : 321)
인간_2_gRNA_15	CCACAACCUCUGAAUGGGGA ( 서열 번호 : 322)
인간_2_gRNA_16	UUAAUUGCUUGAUGAAGAGC ( 서열 번호 : 323)
인간_2_gRNA_17	UAGACAAGGGCGAUGCCAGU ( 서열 번호 : 324)
인간_2_gRNA_18	AAGCUGACCUAGACUAAACA ( 서열 번호 : 325)
인간_2_gRNA_19	GCAGGAACCCGGCAAUGAGA ( 서열 번호 : 326)
인간_2_gRNA_20	UCUGUUCCGAAUCACCGAUG ( 서열 번호 : 327)



도면13a

마우스 Eμ 인트론 인핸서 서열:

AGTCTAGATAATTGCATTCATTTAAAAAAAAGTCTTTCTCCTAAAATGAATACTCAGAAAGT  
GGTCTTGAAAAAGATTTGTGAAGCCGTTTTGACCAGAATGTCAAAGTCTTAATAGTAAGGCA  
AAACAAACAACATAAAAAAGATCATGAACAAAGTCACTGTAAATGCTTCGGGTATTGGAAAAAG  
AATTGAATGGAGACCAATAATCAGAGGGAAGAATAATAGAGTAATTTTAAGAAGTTTTCTAA  
ATATATTAGAAATTAAGACACTAAAGTCCTTCAATTTCTTACATAACCTAATTTTGAAAAATGA  
ATTCTAAATACATTTTAGAAGTCGATAAACTTAAGTTTGGGGAACTAGAACTACTCAAGCT  
AAAATTAAGGTTGAACTCAATAAGTTAAAAGAGGACCTCTCCAGTTTCGGCTGAATCCTC  
AATTATTTTAGAAATGCAAATTACCCAGGTGGTGTTTTGCTCAGCCTGGACTTTTCGGTTTG  
GTGGGGCTGGACAGAGTGTTTCAAAACCACTTCTTCAAACCACAGCTACAAGTTTACCTAG  
TGGTTTTATTTTCCCTTCCCAAATAGCCTTGCCACATGACCTGCTTCCCTGCCAGCTGCTGC  
AGGTGTTCTGGTTCTGATCGGCCATCTTGACTCCAACCTCAACATTGCTCAATTCATTTAAAA  
ATATTTGAACTTAATTTATTATTGTTAAAAGTCAGTTCTGAATAGGTTATGAGAGAGCCTCA  
CTCCCATTCCTCGGTAAACTTTAAGTAATATCAGTTCTACACAAACAAGACCTCAAACCTGA  
TTGACAAGAATTTTGGACATTTAAAAAAATGAGTACTTGAACCCCTCTCACATTTTAAAGTC  
ACAGTATTTAACTATTTTCTTAGGAACCAACTTAAGAGTAAAAGCAACATCTTCTAATATTC  
CATACACATACTTCTGTGTTCCCTTTGAAAGCTGGACTTTTGCAGGCTCCACCAGACCTCTCT  
AGACA ( 서열 번호 : 86)

유전자 구조체 삽입을 위해 표적하는 마우스 인트론 영역 1:

GGACTACTGGGGTCAAGGAACCTCAGTCACCGTCTCCTCAGGTAAGAATGGCCTCTCCAG  
GTCTTTATTTTAACTTTTGTATGGAGTTTTCTGAGCATTGCAGACTAATCTTGGATATTTG  
TCCCTGAGGGAGCCGGCTGAGAGAAGTTGGGAAATAAACTGTCTAGGGATCTCAGAGCCT  
TTAGGACAGATTATCTCCACATCTTTGAAAACTAAGAATCTGTGTGATGGTGTGGTGGAG  
TCCCTGGATGATGGGATAGGGACTTTGGAGGCTCATTTGAAGAAGATGCTAAAAACAATCCT  
ATGGCTGGAGGGATAGTTGGGGCTGTAGTTGGAGATTTTCAGTTTTTGAATAAAAAGTATTA  
GTTGTGGAATATACTTCAGGACCACCTCTGTGACAGCATTTATACAGTATCCGATGCATAG  
GGACAAAGAGTGGAGTGGGGCACTTTCTTTAGATTTGTGAGGAATGTTCCGCACTAGATTG  
TTTAAACTT CATTTGTTGGAAGGAGAGCTGTCTTAGTGATTGAGTCAAGGGAGAAAGGC  
ATCTAGCCTCGGTCTCAAAGGGTAGTTGCTG ( 서열 번호 : 3)

도면13ba

마우스_영역_1_gRNA_1	CAACTACCCTTTTGAGACCGAGG ( 서열 번호 : 45)
마우스_영역_1_gRNA_2	TTATACAGTATCCGATGCATAGG ( 서열 번호 : 46)
마우스_영역_1_gRNA_3	TATACAGTATCCGATGCATAGGG ( 서열 번호 : 47)
마우스_영역_1_gRNA_4	CATCTAGCCTCGGTCTCAAAAGG ( 서열 번호 : 48)
마우스_영역_1_gRNA_5	CACTCTTTGTCCCTATGCATCGG ( 서열 번호 : 49)
마우스_영역_1_gRNA_6	ATCTAGCCTCGGTCTCAAAAGGG ( 서열 번호 : 50)
마우스_영역_1_gRNA_7	AAGTTTTAAACAATCTAGTGCGG ( 서열 번호 : 51)
마우스_영역_1_gRNA_8	AAGATGCTAAAACAATCCTATGG ( 서열 번호 : 52)
마우스_영역_1_gRNA_9	TGCTAAAACAATCCTATGGCTGG ( 서열 번호 : 53)
마우스_영역_1_gRNA_10	AAGTCCCTATCCCATCATCCAGG ( 서열 번호 : 54)
마우스_영역_1_gRNA_11	GGGAGAAAGGCATCTAGCCTCGG ( 서열 번호 : 55)
마우스_영역_1_gRNA_12	TGAGCATTGCAGACTAATCTTGG ( 서열 번호 : 56)
마우스_영역_1_gRNA_13	TTAGTTGTGGAATATACTTCAGG ( 서열 번호 : 57)
마우스_영역_1_gRNA_14	TGGTGGAGTCCCTGGATGATGGG ( 서열 번호 : 58)
마우스_영역_1_gRNA_15	GTGGAGATAATCTGTCCTAAAGG ( 서열 번호 : 59)
마우스_영역_1_gRNA_16	AGTCCCTATCCCATCATCCAGGG ( 서열 번호 : 60)
마우스_영역_1_gRNA_17	ATCTTGGATATTTGTCCCTGAGG ( 서열 번호 : 61)
마우스_영역_1_gRNA_18	GGGATAGTTGGGGCTGTAGTTGG ( 서열 번호 : 62)
마우스_영역_1_gRNA_19	CAGGTAAGAATGGCCTCTCCAGG ( 서열 번호 : 63)
마우스_영역_1_gRNA_20	TCTCTCAGCCGGCTCCCTCAGGG ( 서열 번호 : 64)

도면13bb

마우스_1_gRNA_1	CAACUACCCUUUUGAGACCG ( 서열 번호 : 328)
마우스_1_gRNA_2	UUAUACAGUAUCCGAUGCAU ( 서열 번호 : 87)
마우스_1_gRNA_3	UAUACAGUAUCCGAUGCAUA ( 서열 번호 : 329)
마우스_1_gRNA_4	CAUCUAGCCUCGGUCUCAA ( 서열 번호 : 330)
마우스_1_gRNA_5	CACUCUUUGUCCCUAUGCAU ( 서열 번호 : 331)
마우스_1_gRNA_6	AUCUAGCCUCGGUCUAAAA ( 서열 번호 : 332)
마우스_1_gRNA_7	AAGUUUAAACAAUCUAGUG ( 서열 번호 : 333)
마우스_1_gRNA_8	AAGAUGCUGAAACAAUCCUA ( 서열 번호 : 334)
마우스_1_gRNA_9	UGCUGAAACAAUCCUAUGGC ( 서열 번호 : 335)
마우스_1_gRNA_10	AAGUCCCUAUCCCAUCAUCC ( 서열 번호 : 336)
마우스_1_gRNA_11	GGGAGAAAGGCAUCUAGCCU ( 서열 번호 : 337)
마우스_1_gRNA_12	UGAGCAUUGCAGACUAAUCU ( 서열 번호 : 338)
마우스_1_gRNA_13	UUAGUUGUGGAAUAUACUUC ( 서열 번호 : 339)
마우스_1_gRNA_14	UGGUGGAGUCCCUUGGAUGAU ( 서열 번호 : 340)
마우스_1_gRNA_15	GUGGAGAUAAUCUGUCCUAA ( 서열 번호 : 341)
마우스_1_gRNA_16	AGUCCCUAUCCCAUCAUCCA ( 서열 번호 : 342)
마우스_1_gRNA_17	AUCUUGGAUAUUUGUCCCU ( 서열 번호 : 343)
마우스_1_gRNA_18	GGGAUAGUUGGGCUGUAGU ( 서열 번호 : 344)
마우스_1_gRNA_19	CAGGUAAGAAUGGCCUCUCC ( 서열 번호 : 345)
마우스_1_gRNA_20	UCUCUCAGCCGGCUCUCCUA ( 서열 번호 : 346)



도면14a

유전자 구조체 삽입을 위해 표적하는 마우스 인트론 영역 2

TTATTTTCAGTTGAACATGCTGGTTGGTGGTTGAGAGGACACTCAGTCAGTCAGTGACGTGA  
 AGGGCTTCTAAGCCAGTCCACATGCTCTGTGTGAACTCCCTCTGGCCCTGCTTATTGTTGA  
 ATGGGCCAAAGGTCTGAGACCAGGCTGCTGCTGGGTAGGCCTGGACTTTGGGTCTCCAC  
 CCAGACCTGGGAATGTATGGTTGTGGCTTCTGCCACCCATCCACCTGGCTGCTCATGGAC  
 CAGCCAGCCTCGGTGGCTTTGAAGGAACAATCCACACAAAGACTCTGGACCTCTCCGAA  
 ACCAGGCACCGCAAATGGTAAGCCAGAGGCAGCCACAGCTGTGGCTGCTGCTCTTAAAGC  
 TTGTAAACTGTTTCTGCTTAAGAGGGACTGAGTCTTCAGTCATTGCTTTAGGGGGAGAAAG  
 AGACATTTGTGTGTCTTTTGTGAGTACCGTTGTCTGGGTCACTCACATTTAACTTTCTTTGAAA  
 AACTAGTAAAAGAAAAATGTTGCCTGTTAACCAATAATCATAGAGCTCATGGTACTTTGAGG  
 AAATCTTAGAAAGCGTGTATACAATTGTCTGGAATTATTTTCAGTTAAGTGTATTAGTTGAGGT  
 ACTGATGCTGTCTCTACTTCAGTTATACATGTGGGTTTGAATTTTGAATCTATTCTGGCTCTT  
 CTTAAGCAGAAAAATTTAGATAAAATGGATACCTCAGTGGTTTTTAATGGTGGGTTTAATATA  
 GAAGGAATTTAAATTGGAAGCTAATTTAGAATCAGTAAGGAGGGACCCAGGCTAAGAAGGC  
 AATCCTGGGATTCTGGAAGAAAAGATGTTTTTAGTTTTATAGAAAACACTACTACATTCTTG  
 ATCTACAACCTCAATGTGGTTTAAATGAATTTGAAGTTGCCAGTAAATGTACTTCCTGGTTGTTA  
 AAGAATGGTATCAAAGGACAGTGCTTAGATCCGAGGTGAGTGTGAGAGGACAGGGGCTGG  
 GGTATGGATACGCAGAAGGAAGGCCACAGCTGTACAGAATTGAGAAAGAATAGAGACCTG  
 CAGTTGAGGCCAGCAGGTGCGCTGGACTAACTCTCCAGCCACAGTAATGACCCAGACAGA  
 GAAAGCCAGACTCATAAAGCTTGCTGAGCAAAAATTAAGGGAACAAGGTTGAGAGCCCTAGT  
 AAGCGAGGCTCTAAAAAGCACAGCTGAGCTGAGATGGGTGGGCTTCTCTGAGTGCTTCTA  
 AAATGCGCTAAACTGAGGTGATTACTCTGAGGTAAGCAAAAGCTGGGCTTGAGCCAAAATGA  
 AGTAGACTGTAATGAACTGGAATGAGCTGGGCCGCTAAGCTAACTAGGCTGGCTTAACC  
 GAGATGAGCCAAACTGGAATGAACTTCATTAATCTAGGTTGAATAGAGCTAACTCTACTGC  
 CTACACTGGACTGTTCTGAGCTGAGATGAGCTGGGGTGAGCTCAGCTATGCTACGCTGTG  
 TTGGGGTGAGCTGATCTGAAATGAGATACTCTGGAGTAGCTGAGATGGGGTGAGATGGGG  
 TG ( 서열 번호 : 4)

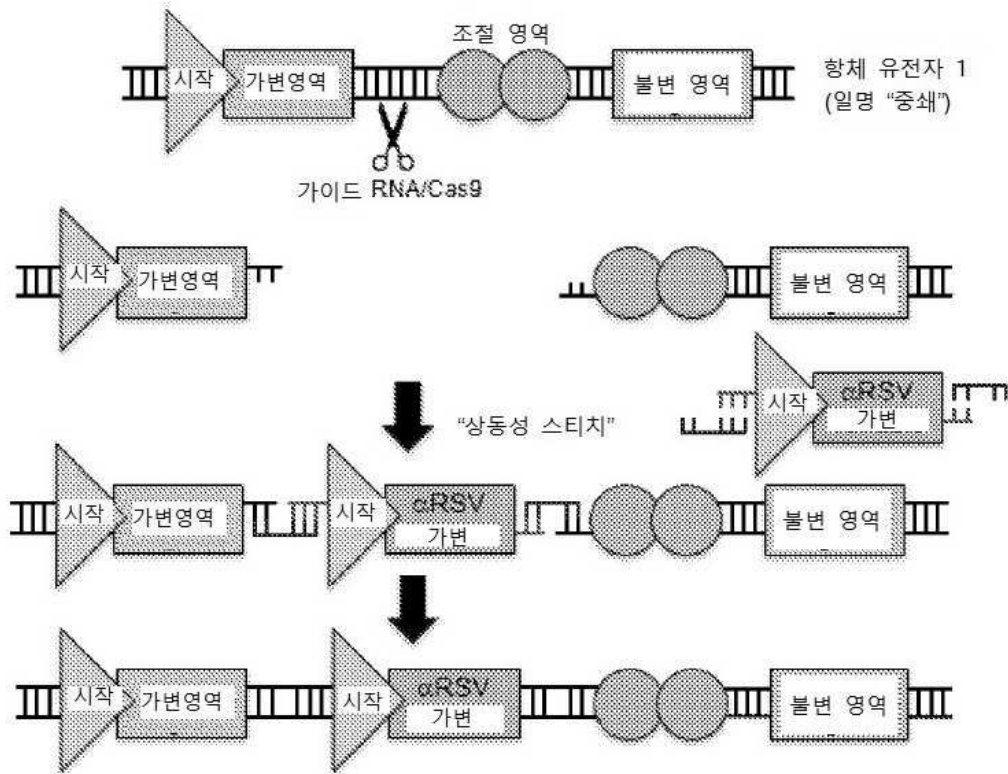
도면14ba

마우스_영역_2_gRNA__1	CCGAAACCAGGCACCGCAAATGG ( 서열 번호 : 65)
마우스_영역_2_gRNA__2	CACCGCAAATGGTAAGCCAGAGG ( 서열 번호 : 66)
마우스_영역_2_gRNA__3	GGCTTACCATTTGCGGTGCCCTGG ( 서열 번호 : 67)
마우스_영역_2_gRNA__4	TGCGGTGCCTGGTTTCGGAGAGG ( 서열 번호 : 68)
마우스_영역_2_gRNA__5	CAGCTATGCTACGCTGTGTTGGG ( 서열 번호 : 69)
마우스_영역_2_gRNA__6	AAGGACAGTGCTTAGATCCGAGG ( 서열 번호 : 70)
마우스_영역_2_gRNA__7	TCAGTCAGTCAGTGACGTGAAGG ( 서열 번호 : 71)
마우스_영역_2_gRNA__8	CATGCTGGTTGGTGGTTGAGAGG ( 서열 번호 : 72)
마우스_영역_2_gRNA__9	TCTTTTGAGTACCGTTGTCTGGG ( 서열 번호 : 73)
마우스_영역_2_gRNA__10	TGGCCCATTCACAATAAGCAGG ( 서열 번호 : 74)
마우스_영역_2_gRNA__11	CTGGGCCGCTAAGCTAACTAGG ( 서열 번호 : 75)
마우스_영역_2_gRNA__12	GCCAGCCTAGTTTAGCTTAGCGG ( 서열 번호 : 76)
마우스_영역_2_gRNA__13	TGAAGTAGACTGTAATGAACTGG ( 서열 번호 : 77)
마우스_영역_2_gRNA__14	GACCTGGGAATGTATGGTTGIGG ( 서열 번호 : 78)
마우스_영역_2_gRNA__15	GGTATGGATACGCAGAAGGAAGG ( 서열 번호 : 79)
마우스_영역_2_gRNA__16	GTTGAGAGCCCTAGTAAGCGAGG ( 서열 번호 : 80)
마우스_영역_2_gRNA__17	GCCGCTAAGCTAACTAGGCTGG ( 서열 번호 : 81)
마우스_영역_2_gRNA__18	TCAGCTATGCTACGCTGTGTTGG ( 서열 번호 : 82)
마우스_영역_2_gRNA__19	TTTtagAGCCTCGCTTACTAGGG ( 서열 번호 : 83)
마우스_영역_2_gRNA__20	CTCTATGATTATTGGTTAACAGG ( 서열 번호 : 84)

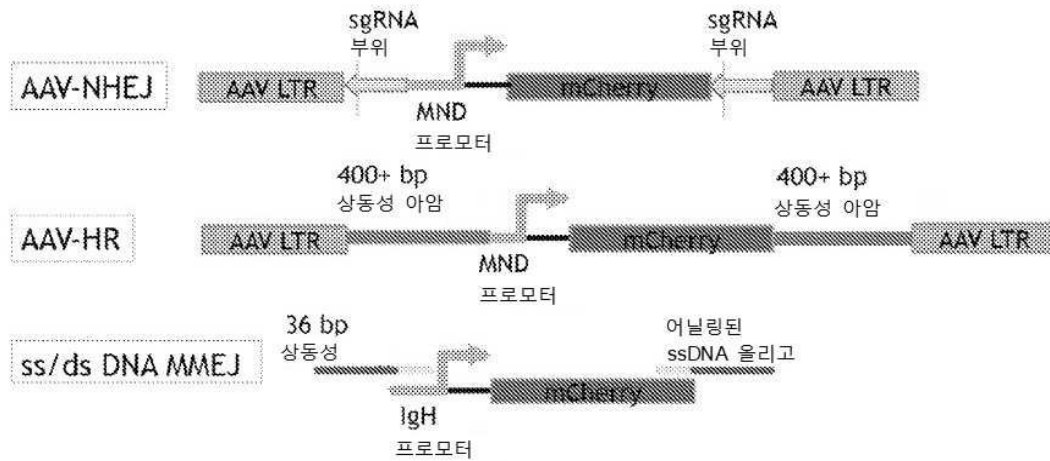
도면14bb

마우스_2_gRNA__1	CCGAAACCAGGCACCGCAAA ( 서열 번호 : 347)
마우스_2_gRNA__2	CACCGCAAAUGGUAAGCCAG ( 서열 번호 : 348)
마우스_2_gRNA__3	GGCUUACCAUUUGCGGUGCC ( 서열 번호 : 349)
마우스_2_gRNA__4	UGCGGUGCCUGGUUUCGGAG ( 서열 번호 : 350)
마우스_2_gRNA__5	CAGCUAUGCUACGCUGUGUU ( 서열 번호 : 351)
마우스_2_gRNA__6	AAGGACAGUGCUUAGAUCG ( 서열 번호 : 352)
마우스_2_gRNA__7	UCAGUCAGUCAGUGACGUGA ( 서열 번호 : 353)
마우스_2_gRNA__8	CAUGCUGGUUGGUUGUUGAG ( 서열 번호 : 354)
마우스_2_gRNA__9	UCUUUUGAGUACCGUUGUCU ( 서열 번호 : 355)
마우스_2_gRNA__10	UGGCCCAUUCAACAAUAAGC ( 서열 번호 : 356)
마우스_2_gRNA__11	CUGGGCCGCUAAGCUAAACU ( 서열 번호 : 357)
마우스_2_gRNA__12	GCCAGCCUAGUUUAGCUUAG ( 서열 번호 : 358)
마우스_2_gRNA__13	UGAAGUAGACUGUAAUGAAC ( 서열 번호 : 359)
마우스_2_gRNA__14	GACCUGGGAAUGUAUGGUUG ( 서열 번호 : 360)
마우스_2_gRNA__15	GGUAUGGAUACGCAGAAGGA ( 서열 번호 : 361)
마우스_2_gRNA__16	GUUGAGAGCCCUGUAAGCG ( 서열 번호 : 362)
마우스_2_gRNA__17	GCCGCUAAGCUAAACUAGGC ( 서열 번호 : 363)
마우스_2_gRNA__18	UCAGCUAUGCUACGCUGUGU ( 서열 번호 : 364)
마우스_2_gRNA__19	UUUUAGAGCCUCGCUUACUA ( 서열 번호 : 365)
마우스_2_gRNA__20	CUCUAUGAUUAUUGGUUAAC ( 서열 번호 : 366)

도면15a

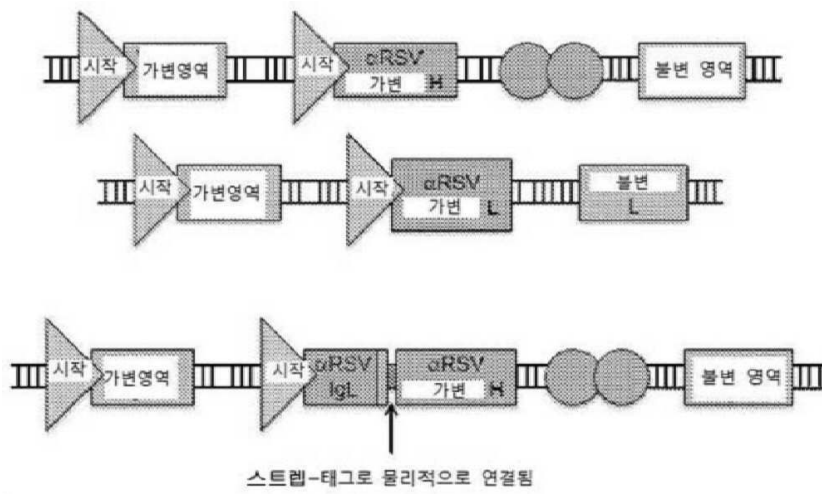


도면15b

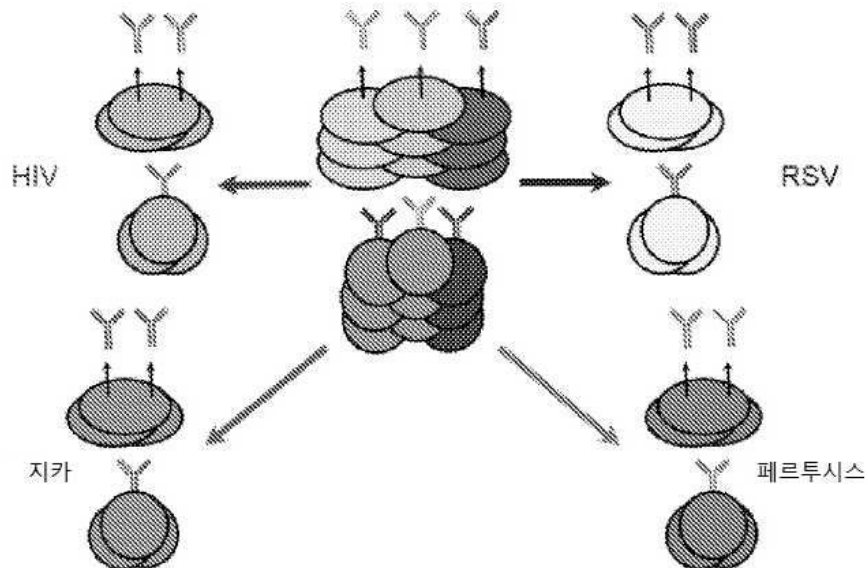




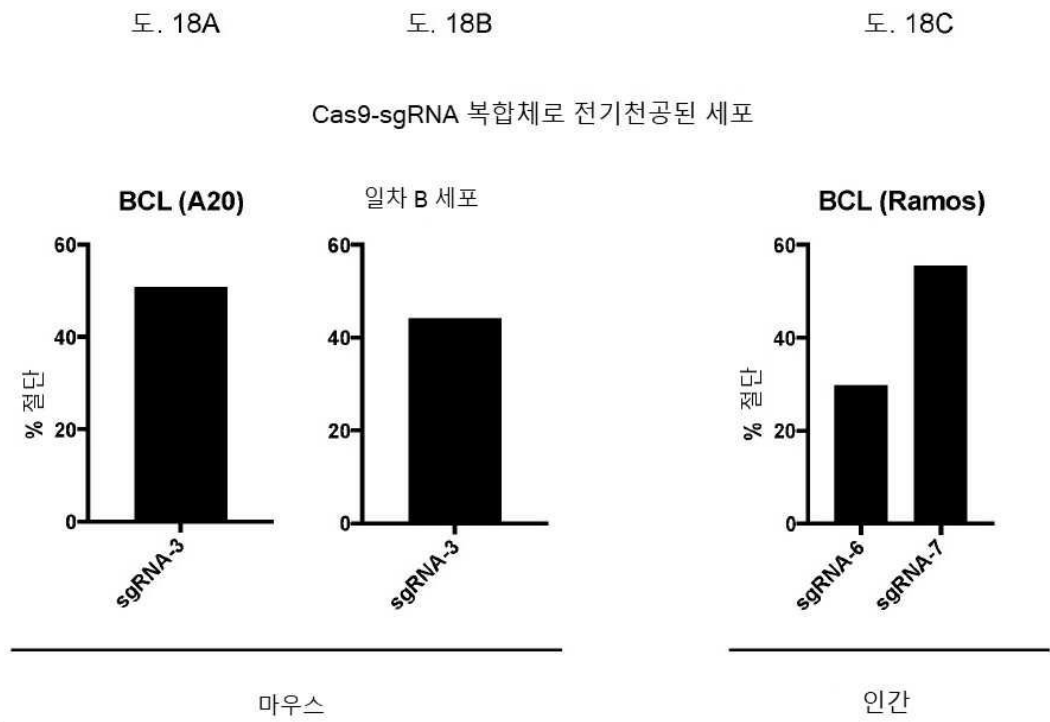
도면16



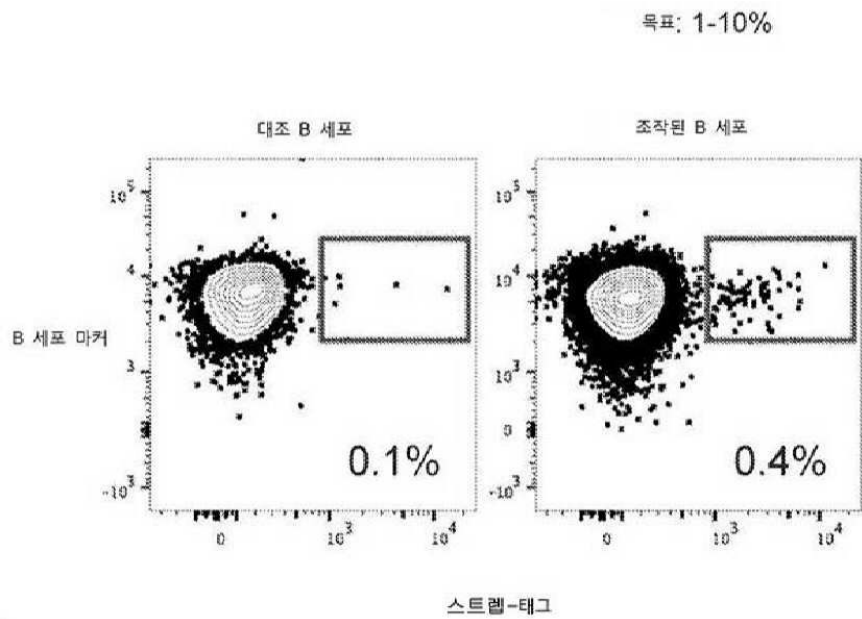
도면17



도면18

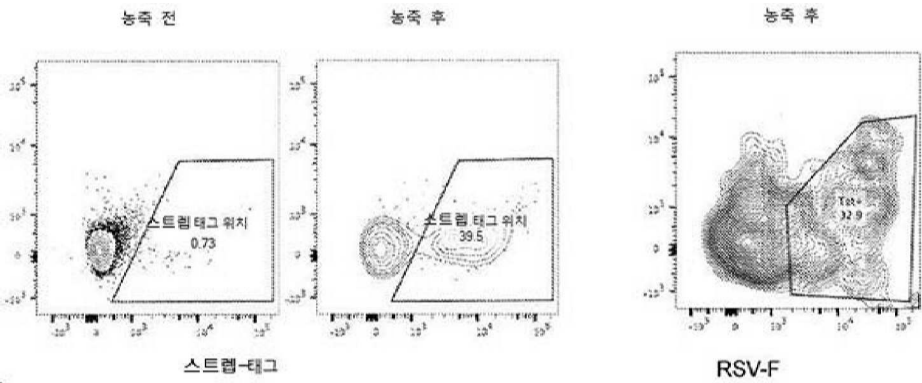


도면19

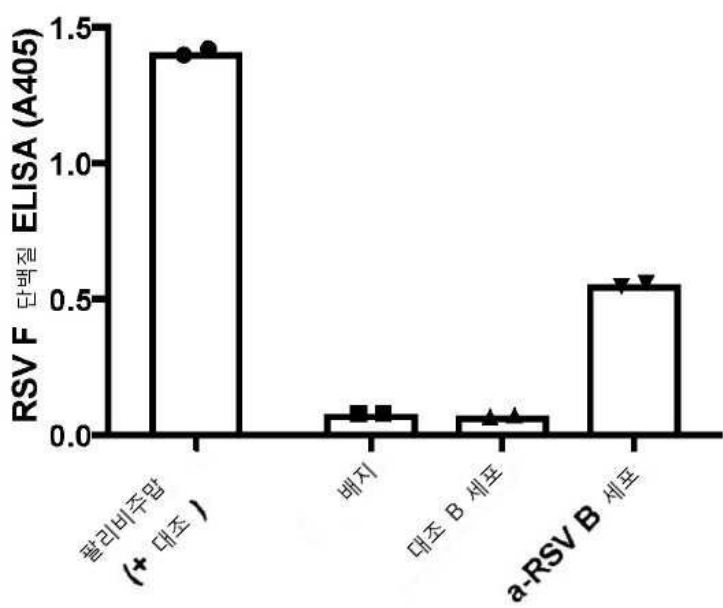




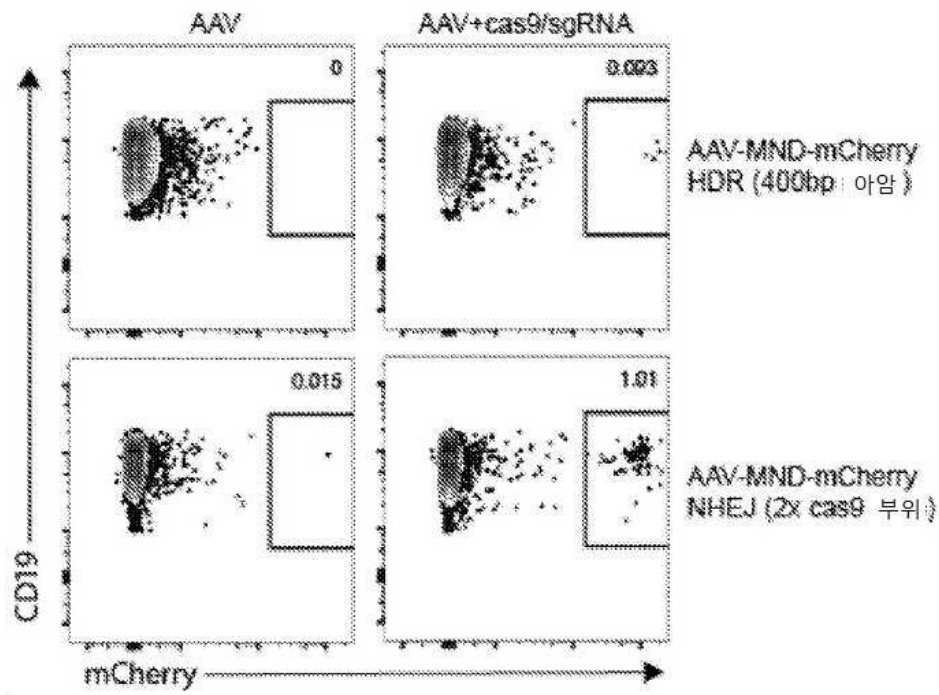
도면20



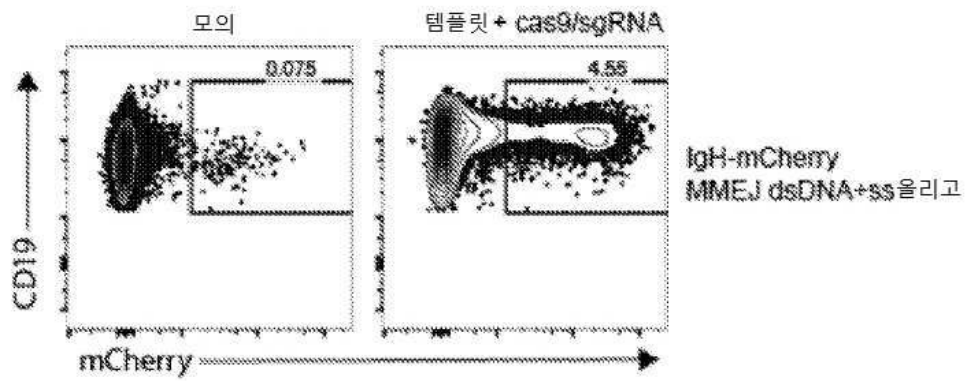
도면21



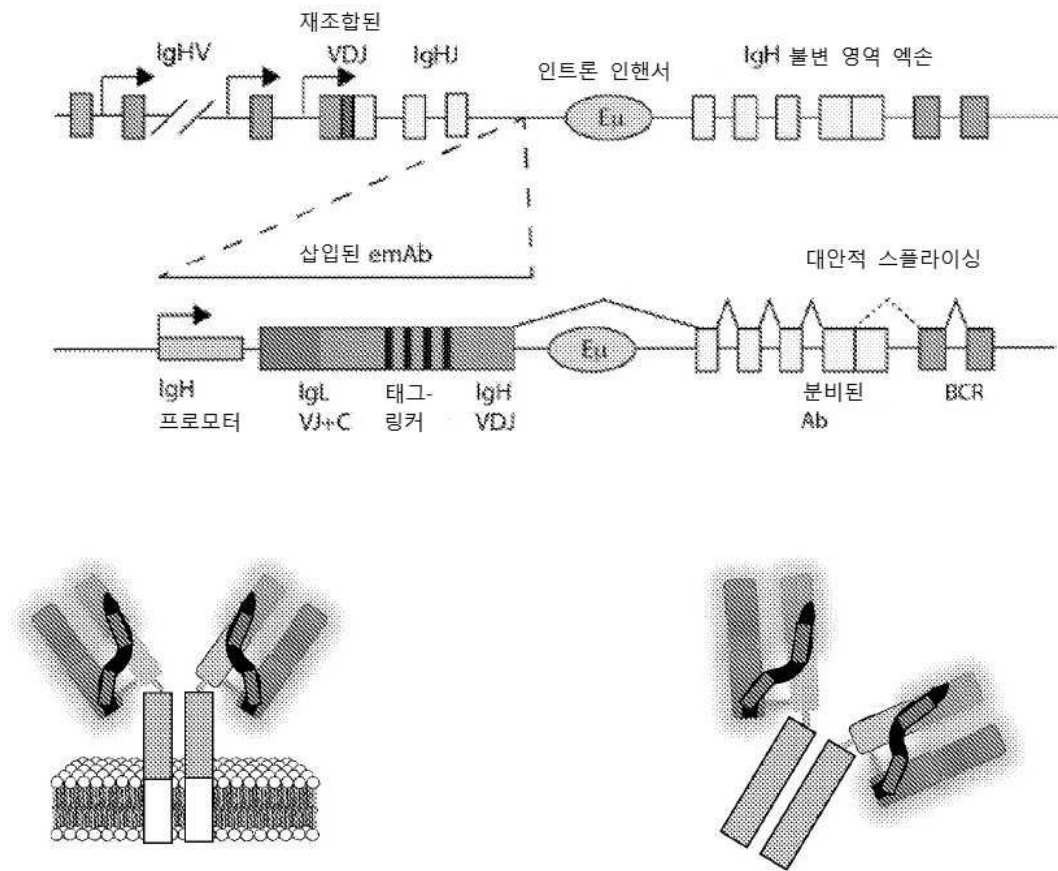
도면22a



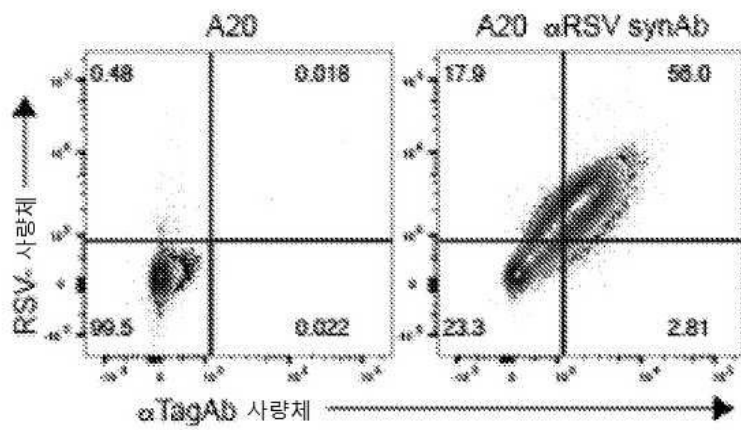
도면22b



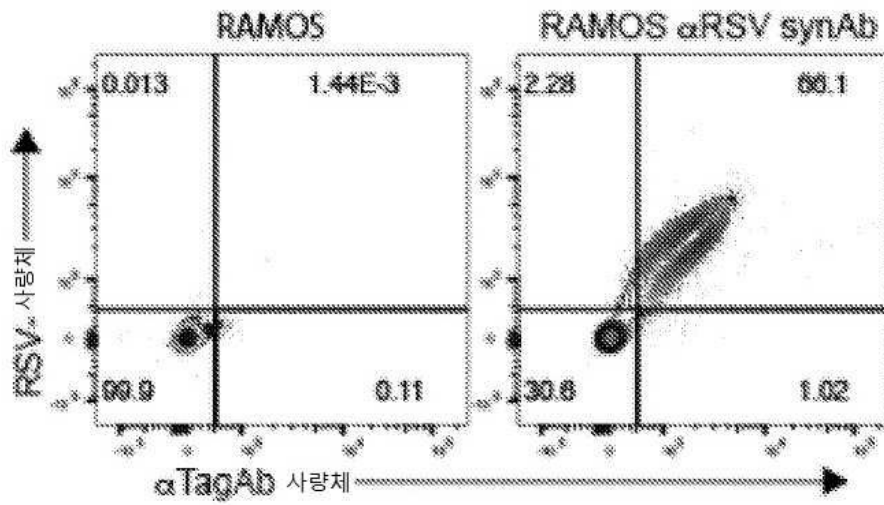
도면23a



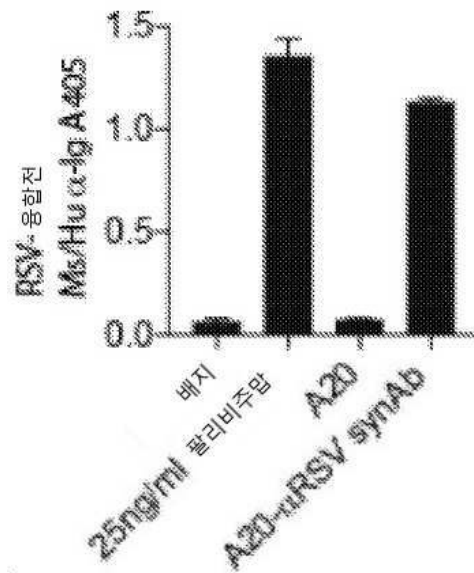
도면23b



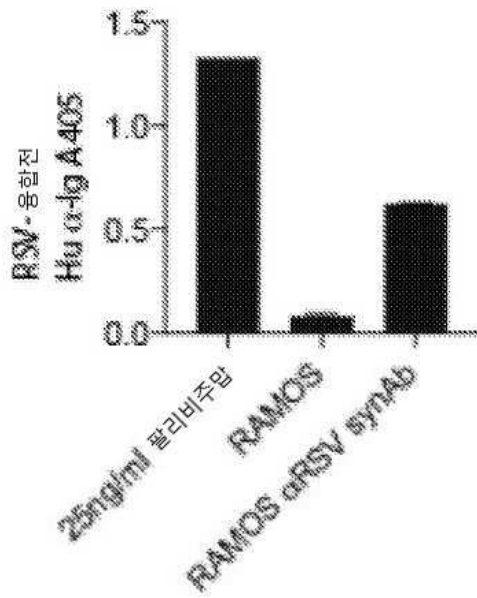
도면23c



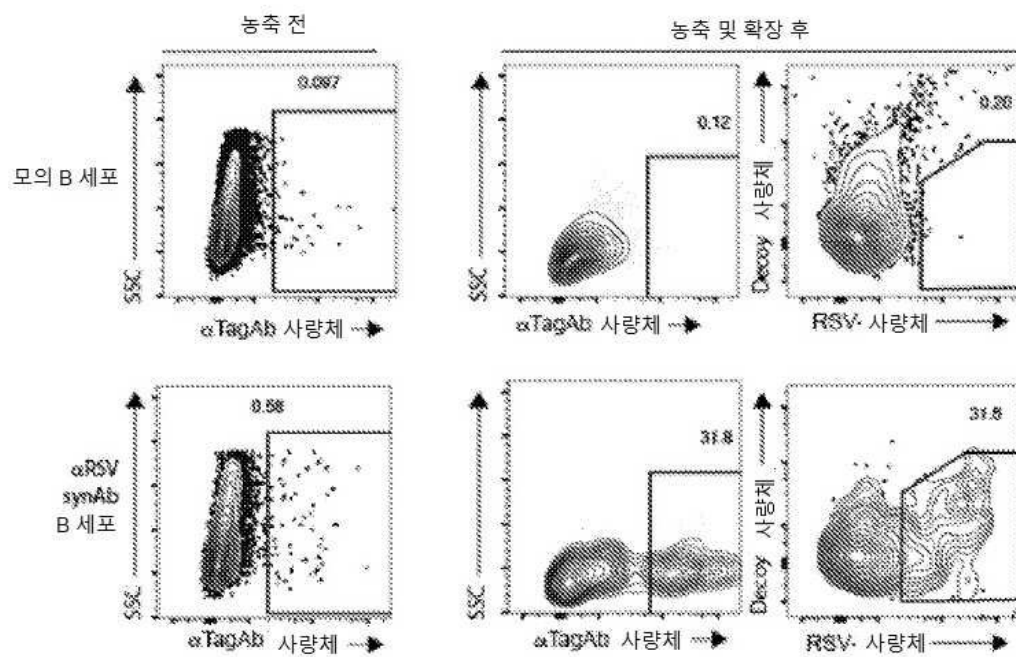
도면23d



도면23e

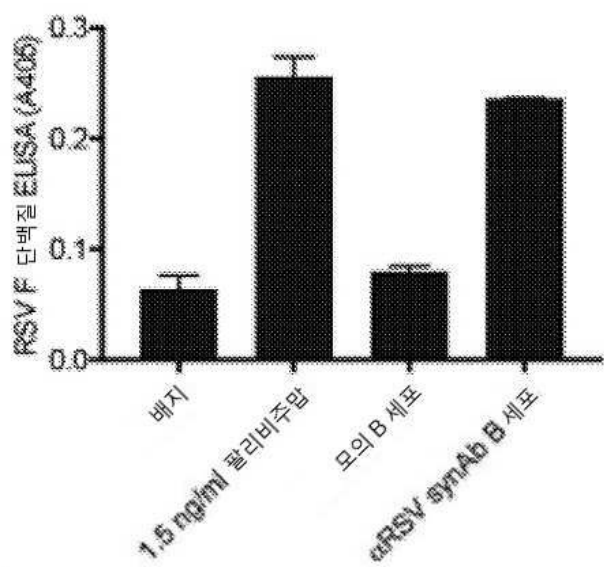


도면24a

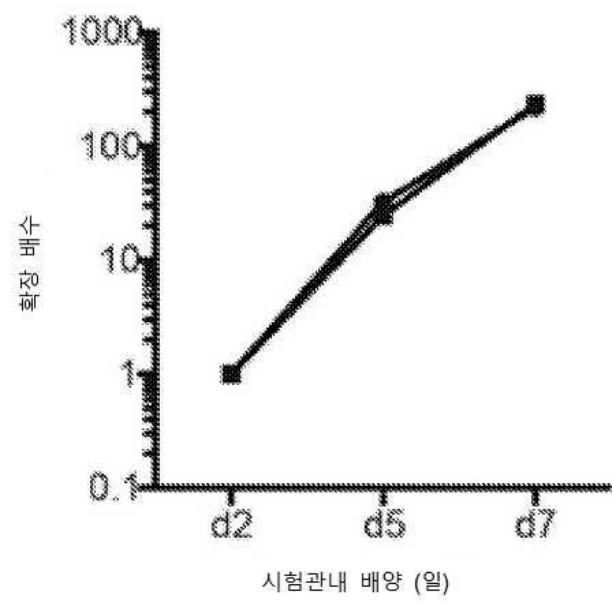




도면24b



도면24c



도면25a

sgRNA 서열:

마우스: sgRNA-mIgH\_3: UUAUACAGUAUCCGAUGCAU (서열 번호: 87)

인간: sgRNA-hlgH-6: GCAUUGCAGGUUGGUCCUCG (서열 번호: 88)

sgRNA-hlgH-7: GUCUCAGGAGCGGUGUCUGU (서열 번호: 89)

마우스 (sgRNA-mIgH\_3 의 경우) 게놈 상동성 영역:

상류: CATCGGATAGTGTATAAATGCTGTCACAGAGGTGGT (서열 번호: 90)

하류: CATAGGACAAAGAGTGGAGTGGGGCACTTTCTTTA (서열 번호: 91)

인간 (sgRNA-hlgH-7 의 경우) 게놈 상동성 영역:

GACACCGCTCCTGAGACACATTCTCAGCCATCACT (서열 번호: 92)

TGTAGGACTGCAAGATCGCTGCACAGCAGCAATCG (서열 번호: 93)

인간 (sgRNA-hlgH-6 의 경우) 게놈 상동성 영역:

GGGACCAACCTGCAATGCTCAGGAAACCCACAGGCA (서열 번호: 94)

TTCGGGGCATGTTCCGAGGGGACCTGGGCGGACTGGC (서열 번호: 95)

스플라이싱 올리고뉴클레오타이드 (게놈에 대한 상동성 볼드체로 표시):

마우스 (sgRNA-mIgH\_3 의 경우):

상류:CTTCGAGACATGTACAGACCATTTAGATGTAGTATCAAAGCCTAATATCTCAATCTTAAATAGAATCCTAACCT  
GAGACACTCACTTGTCCATCGGATACTGTATAAATGCTGTCACAGAGGTGGT (서열 번호: 96)

하류:CTTCTCCCATCTAATGCATGTTGGGGGATTCTGGGCCTTCAGGACCACATAGGGACAAAGAGTGGAGTG  
GGGCACITTTCTTTA (서열 번호: 97)

인간 (sgRNA-hlgH-7 의 경우):

상류:GTGCACAGCGCTCTTCCCCTGCAGAACAAACCCCAACCCCAAGGATGCACTCCTCACTGTGAACCCACATTT  
TATTGGCCTAAAGATTACGGACACCGCTCCTGAGACACATTCTCAGCCATCACT (서열 번호: 98)

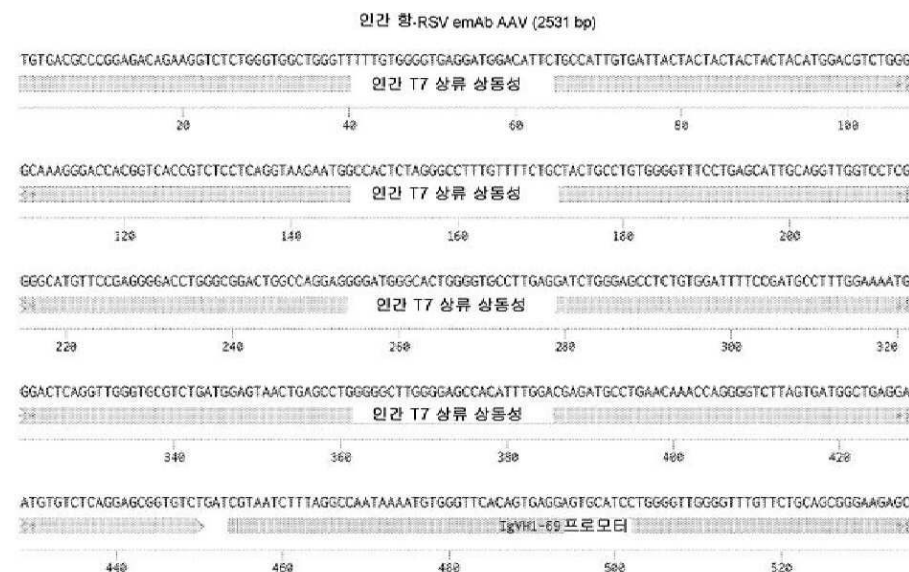
하류:GTCTGGGGATAGCGGGGAGCCAGGTGTACTGGGCCAGGCAAGGGCTTTGGTGTAGGACTGCAAGATCGCT  
GCACAGCAGCGAATCG (서열 번호: 99)

인간 (sgRNA-hlgH-6 의 경우):

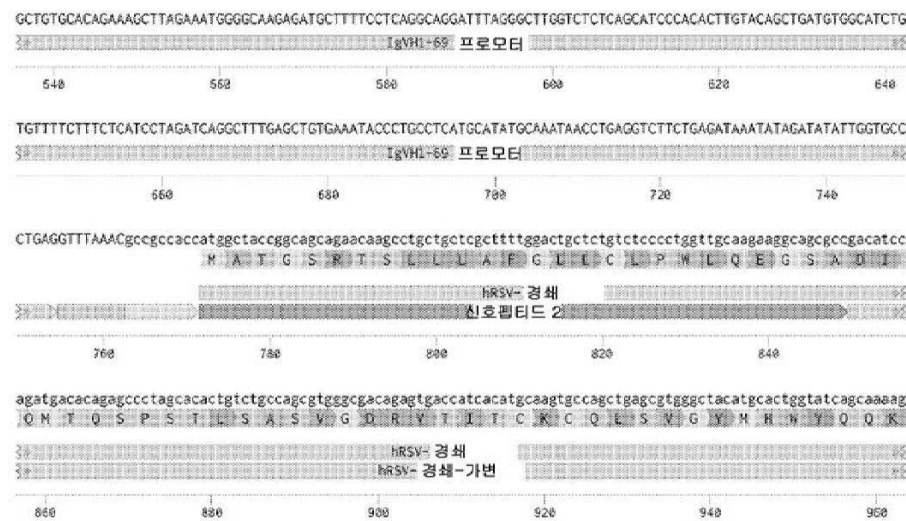
상류:GTGCACAGCGCTCTTCCCCTGCAGAACAAACCCCAACCCCAAGGATGCACTCCTCACTGTGAACCCACATTT  
TATTGGCCTAAAGATTACGGGGACCAACCTGCAATGCTCAGGAAACCCACAGGCA (서열 번호: 100)

하류:GTCTGGGGATAGCGGGGAGCCAGGTGTACTGGGCCAGGCAAGGGCTTTGGTTCGGGGCATGTTCCGAGGG  
GACCTGGGCGGACTGGC (서열 번호: 101)

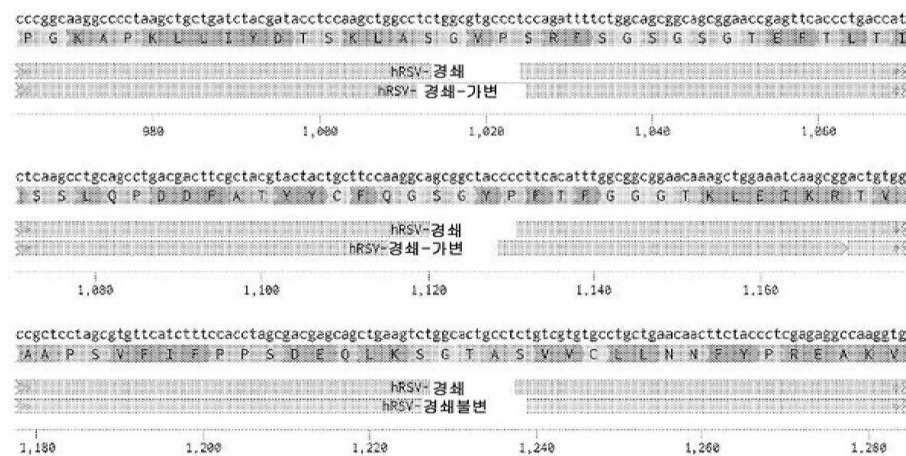
도면25ba



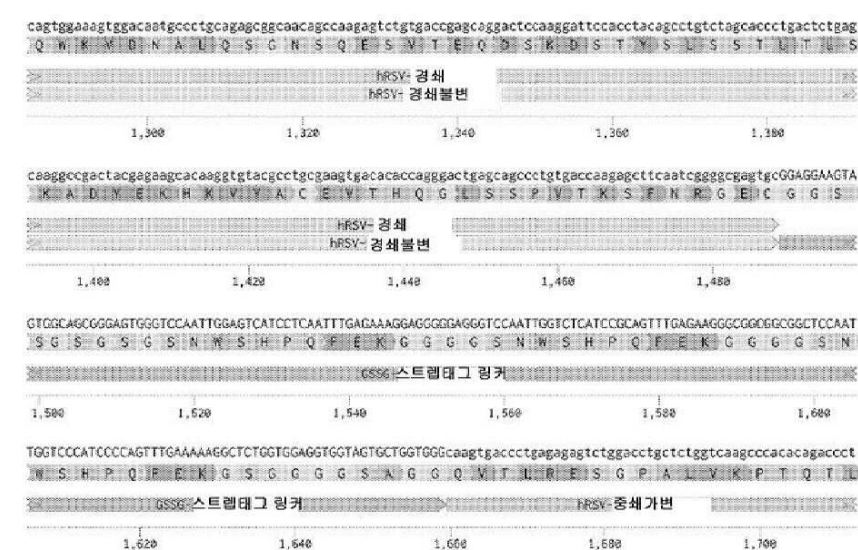
도면25bb



도면25bc



도면25bd







## 도면25bh

> 인간 항-RSV emAb AAV 에서 hRSV 가변 경쇄 코딩 서열

GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCACACTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACATGCAAGTGCCAGCTGAGCGTGGGCT  
ACATGCACTGGTATCAGCAAAAGCCCGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGATACCTCCAAGCTGGCCTCTGGCGTGGCCTCCAGATTT  
TCTGGCAGCGGACGCGGAACCGAGTTACCCCTGACCATCTCAAGCCTGCAGCCTGACGACTTCGCTACGTACTACTGCTTCCAAGGCGAGCG  
GCTACCCCTTCACATTTGGCGGCGGAACAAAGCTGGAATCAAGCGG (서열 번호: 114)

> 인간 항-RSV emAb AAV 에서 카파 불변 경쇄 코딩 서열

ACTGTGGCCGCTCCTAGCGTGTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACTGCCTCTGTCTGTGCCTGCTGAACAACTT  
CTACCCCTCGAGAGGCGCAAGGTGCACTGGAAGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAGCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAG  
GATTCCACCTACAGCCTGTCTAGCACCTGACTCTGAGCAAGGCGGACTACGAGAAGCACAAAGTGTACGCTCTGCAAGTGACACACCAGG  
GACTGAGCAGCCCTGTGACCAAGAGCTTCAATCGGGGCGAGTGC (서열 번호: 115)

> 인간 항-RSV emAb AAV 에서 GSSG-스트렙타그 링커 코딩 서열

GGAGGAAGTAGTGGCAGCGGGAGTGGGTCCAATTGAGTGCATCCTCAATTTGAGAAAGGAGGGGGAGGGTCCAATTGGTCTCATCCGCACT  
TTGAGAAAGGCGGCGCGCTCCAATTGGTCCATCCCACTTTGAAAAAGGCTCTGGTGGAGGTGGTAGTGTGTGGG (서열 번호: 116)

> 인간 항-RSV emAb AAV 에서 hRSV 가변 중쇄 코딩 서열

CAAGTGACCCCTGAGAGAGTCTGGACCTGCTCTGGTCAAGCCACACAGACCCTGACACTGACCTGCACCTTCAGCGGCTTTAGCCTGAGCAC  
AAGCGCATGAGCGTCGGCTGGATTAGACAGCCTCCTGGCAAGCCCTGGAATGGCTGGCCGACATTTGGTGGGACGACAAAGGAGTAC  
AACCCAGCCTGAAGTCCCGCTGACCATCAGCAAGGACACCAAGAACCAAGTGGTGTGAAAGTGACCAACATGGACCCCTGCCGACA  
CCGCCCACTACTACTGTGCCAGATCCATGATACCAACTGGTACTTGCAGCTGTGGGAGCCGGCACCCACAACCGTCTCTTCA (서열 번호:  
117)

> 인간 항-RSV emAb AAV 에서 신호 펩티드 아미노산 서열

MATGSRTSLLAFGLLCLPWLQEGSA (서열 번호: 118)

## 도면25bi

> 인간 항-RSV emAb AAV 에서 hRSV 경쇄 아미노산 서열

MATGSRTSLLAFGLLCLPWLQEGSADIQMTQSPSTLSASVGDRTVITCKQLSVGYMHWYQKPKGKAPKLLIYDTSKLASGVPSRFRSGSGSTEF  
TLTISSLQPDDEFATYYCFQGSYPFTGGGTLKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDS  
KDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열 번호: 119)

> 인간 항-RSV emAb AAV 에서 hRSV 가변 경쇄 아미노산 서열

DIQMTQSPSTLSASVGDRTVITCKQLSVGYMHWYQKPKGKAPKLLIYDTSKLASGVPSRFRSGSGSTEFTLTISSLQPDDEFATYYCFQGSYPFTF  
GGGTLKLEIKR (서열 번호: 120)

> 인간 항-RSV emAb AAV 에서 카파 불변 경쇄 아미노산 서열

TVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSP  
VTKSFNRGEC (서열 번호: 121)

> 인간 항-RSV emAb AAV 에서 GSSG-스트렙타그 링커 아미노산 서열

GGSSGSGSGSNWSPHPQFEKGGGGSNWSHPQFEKGGGGSNWSHPQFEKGGGGSAGG (서열 번호: 122)

> 인간 항-RSV emAb AAV 에서 hRSV 가변 중쇄 아미노산 서열

QVTLRESGPALVKPTQTLTLCTFSGFSLSTSGMSVGVIRQPPGKALEWLADIWWDKKD  
YNPSLKSRLTISKDTSKNQVVLKVTNMDPADTATYYCARSMITNWFYFDVWGAGTTTVSS (서열 번호: 123)

> 인간 항-RSV emAb AAV 에서 연결 서열을 가진 스플라이스 접합

CAGGTAAGTCTGCTGCTGGGATAGCGGGAGCCAGGTGTAAGTGGGCCAGGCAAGGCTTTGGATC (서열 번호: 124)

> 인간 항-RSV emAb AAV 에서 인간 T7 하류 상동성

GTAGGACTGCAAGATCGCTGCACAGCAGCGAATCGTGAATATTTCTTTAGAAATTATGAGGTGCGCTGTGTGTCAACCTGCATCTTAAATTCCT  
TTATTGGCTGGAAAGAGAACTGTCTGGAGTGGGTGAATCCAGCCAGGAGGGACGCGTAGCCCCGGTCTTGATGAGAGCAGGTTGGGGGCA  
GGGGTAGCCCAAGAACGGTGGCTGCCGTCTGACAGGGGCTTAGGGAGGCTCCAGGACCTCAGTGCCTTGAAGCTGGTTTCCATGAGAAAA  
GGATTGTTTATCTTAGGAGGCATGCTTACTGTAAAAAGACAGGATATGTTTGAAGTGGCTTCTGAGAAAAATGTTAAGAAAAATTATGACTTAAA  
AATGTGAGAGATTTTCAAGTATATTAATTTTTTAACTGTCCAAGTATTTGAAATCTTATCATTTGATTAACACCCATG (서열 번호: 125)

## 도면25bj

> 인간 항-RSV emAb AAV 에서 신호 서열 없는 hRSV 경쇄 코딩 서열

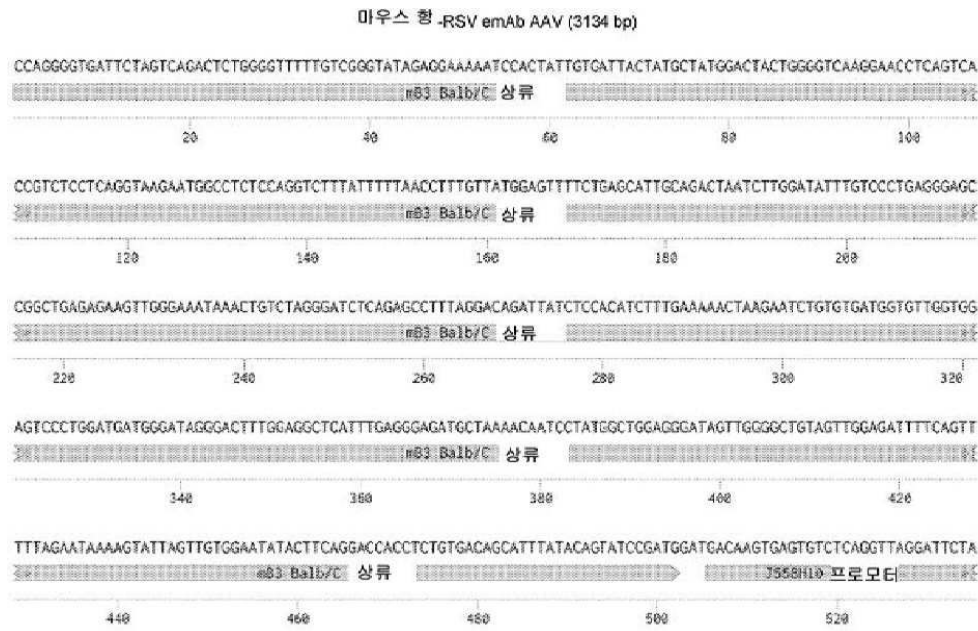
GACATCCAGATGACACAGAGCCCTAGCACACTGTCTGCCAGCGTGGGCGACAGAGTGACCATCACATGCAAGTGCCAGCTGAGCGTGGGCT  
ACATGCACTGGTATCAGCAAAAGCCCGCAAGGCCCTAAGCTGCTGATCTACGATACCTCCAAGCTGGCCTCTGGCGTGGCCTCCAGATTT  
TCTGGCAGCGGACGCGGAACCGAGTTACCCCTGACCATCTCAAGCCTGCAGCCTGACGACTTCGCTACGTACTACTGCTTCCAAGGCGAGCG  
GCTACCCCTTCACATTTGGCGGCGGAACAAAGCTGGAATCAAGCGGACTGTGGCCGCTCTAGCGTGTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAG  
CAGCTGAAGTCTGGCACTGCCTCTGTCTGTGCTGCTGAACAACTTCTACCCCTCGAGAGGCCAAGGTGCAAGTGGAAAGTGGACAATGCCCT  
GCAGAGCGGCAACAGCCCAAGTCTGTGACGAGCAGGAGCTCCAAGGATTCCACCTACAGCCTGTCTAGCACCCCTGACTCTGAGCAAGGCC  
GACTACGAGAAGCACAAAGGTGTACGCTGCGAAGTGACACACAGGAGTGTGAGCAGCCCTGTGACCAAGAGCTTCAATCGGGGCGAGTGC  
(서열 번호: 280)

> 인간 항-RSV emAb AAV 에서 신호 펩티드 없는 hRSV 경쇄 아미노산 서열

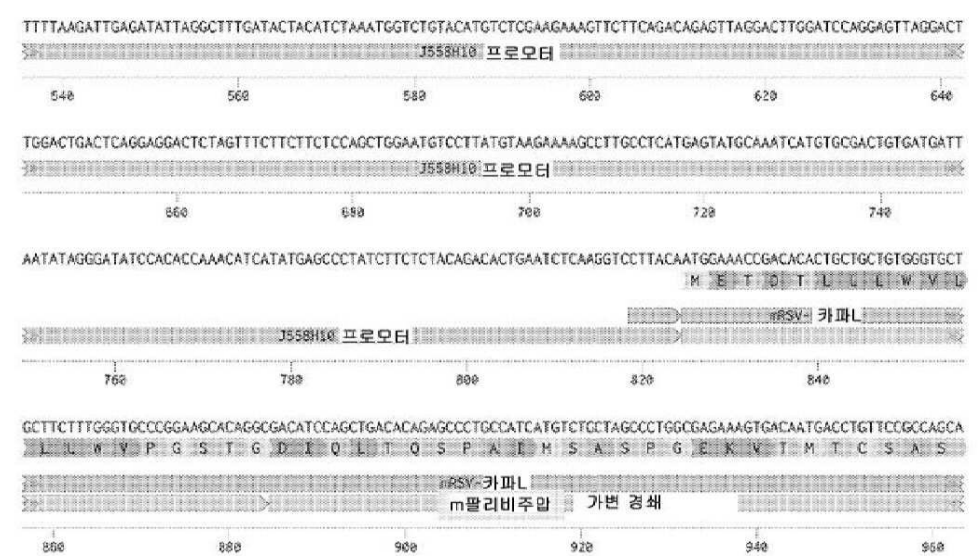
DIQMTQSPSTLSASVGDRTVITCKQLSVGYMHWYQKPKGKAPKLLIYDTSKLASGVPSRFRSGSGSTEFTLTISSLQPDDEFATYYCFQGSYPFTF  
GGGTLKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACE  
VTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열 번호: 285)



도면25ca

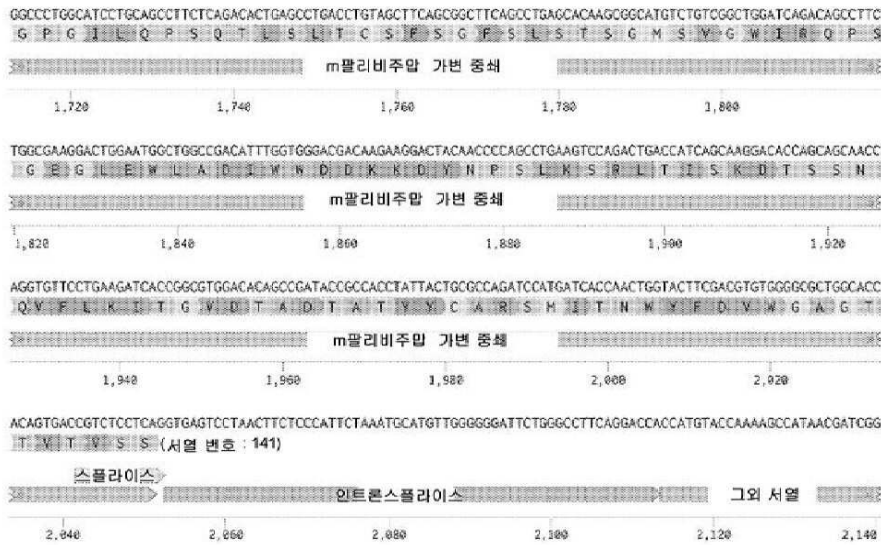


도면25cb

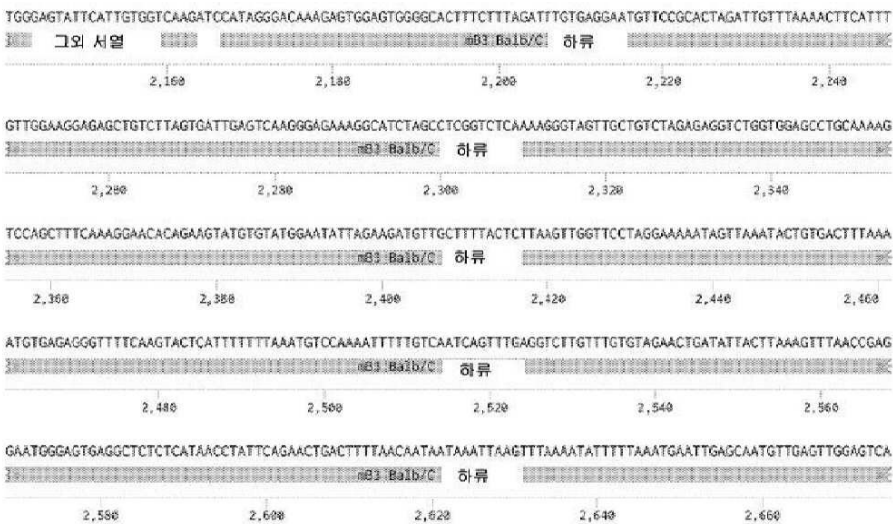




도면25ce



도면25cf







도면25c

> 마우스 항-RSV emAb AAV 에서 m 팔리비주맵 가변 경쇄 코딩 서열

GACATCCAGCTGACACAGAGCCCTGCCATCATGTCTGCTAGCCCTGGCGAGAAAGTGACAATGACC  
TGTTCCGCCAGCAGCTCCGTGGGCTACATGCACTGGTATCAGCAGAAAGTCTAGCACAAAGCCCAAG  
CTGTGGATCTACGACACCTCCAAGCTGGCCTCTGGCGTGCCAGGCAGATTTTCTGGAAGCGGCAGC  
GGCAACAGCTACAGCCTGACTATCAGCTCCATCCAGGCCGAGGATGTGGCTACCTACTACTGCTTCA  
GAGGCAGCGGCTACCCCTTCACATTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAAATCAAG (서열 번호: 131)

> 마우스 항-RSV emAb AAV 에서 mIgL 카파 불변 경쇄 코딩 서열

GCCGATGCCGCTCCTACCGTGTCTATCTTTCCACCTAGCAGCGAGCAGCTGACATCTGGCGGAGCC  
TCTGTCGTGTGCTTCCTGAACAACCTTCTACCCTAAGGACATCAACGTCAAGTGGAAGATCGACGGCT  
CCGAGAGACAGAACGGCGTGCTGAACTCTTGACCGACCAGGACAGCAAGGATAGCACCTACAGCA  
TGAGCAGCACTCTGACCCTGACAAAGGACGAGTACGAGAGGCACAACCTCTACACATGCGAGGCCA  
CACACAAGACCAGCACATCCCCAATCGTGAAGTCCTTCAACCGGAACGAGTGC (서열 번호: 132)

> 마우스 항-RSV emAb AAV 에서 GSSG-스트렙테그 링커 코딩 서열은 서열 번호: 116 이다

> 마우스 항-RSV emAb AAV 에서 m 팔리비주맵 가변 중쇄 코딩 서열

CAGGTGGAAGTGCAAGAAAGCGGCCCTGGCATCCTGCAGCCTTCTCAGACACTGAGCCTGACCTGT  
AGCTTCAGCGGCTTCAGCCTGAGCACAAAGCGGCATGTCTGTGCGCTGGATCAGACAGCCTTCTGGC  
GAAGGACTGGAATGGCTGGCCGACATTTGGTGGGACGACAAAGGACTACAACCCAGCCTGAAG  
TCCAGACTGACCATCAGCAAGGACACCAGCAGCAACCAGGTGTTCTGAAGATCACCGCGCTGGAC  
ACAGCCGATACCGCCACCTATTACTGCGCCAGATCCATGATCACCACCTGGTACTTCGACGTGTGGG  
GCGCTGGCACCACAGTGACCGTCTCCTCA (서열 번호: 133)

> 마우스 항-RSV emAb AAV 에서 신호 펩티드 아미노산 서열

METDTLLLWVLLLVPGSTG (서열 번호: 134)

> 마우스 항-RSV emAb AAV 에서 mRSV 카파 경쇄 아미노산 서열

METDTLLLWVLLLVPGSTGDIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVGYMHWYQQKSSTSPKLWIYD  
TSKLASGVPGFRFSGSGSGNSYSLTISSIAEDVATYYCFRSGSGYPFTFGQGTKLEIKADAAPTVISIFPPSS  
EQLTSGGASVVCFLNFFPKDINKWKIDGSEKQNGVLNSWTDQDSKDYMSSTLTITKDEYERHNS  
YTCEATHKSTSPIVKSFNRNEC (서열 번호: 135)



도면25cj

> 마우스 항-RSV emAb AAV 에서 m 팔리비주맵 가변 경쇄 아미노산 서열  
 DIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVGYMHWYQQKSSTSPKLWIYDTSKLGASGVPGRFSGSGSGNS  
 YSLTISSQAEDVATYYCFRSGYPFTFGQGTKLEIK (서열 번호: 136)

> 마우스 항-RSV emAb AAV 에서 mIgL 카파 불변 경쇄 아미노산 서열  
 ADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKDINVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQDSKDYMSMSS  
 TLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRE (서열 번호: 137)

> 마우스 항-RSV emAb AAV 에서 GSSG-스트랩태그 링커 아미노산 서열은 서열 번호: 122 이다

> m 팔리비주맵 가변 중쇄 아미노산 서열 마우스 항-RSV emAb AAV  
 QVELQESGPILQPSQTLSTCSFSGFSLSTSGMSVGVIRQPSGEGLEWLADIWWDDKDYNP SLKSRL  
 TISKDTSSNQVFLKITGVDTADTATYYCARSMTNWFYDVWGAGTTVTSS (서열 번호: 138)

> 마우스 항-RSV emAb AAV 에서 연결 서열을 가진 스플라이스 접합  
 CAGGTGAGTCCTAACTTCTCCCATCTAAATGCATGTTGGGGGGATTCTGGGCCTTCAGGACCA  
 (서열 번호: 139)

> 마우스 항-RSV emAb AAV 에서 마우스 mB3 Balb/C 하류 영역  
 CATAGGGACAAAGAGTGGAGTGGGGGCACTTTCTTTAGATTTGTGAGGAATGTTCCGCACTAGATTGT  
 TTAAGTTCATTTGTTGGAAGGAGAGCTGTCTTAGTGATTGAGTCAAGGGAGAAAGGCATCTAGCC  
 TCGGTCTCAAAGGGTGTGCTGTCTAGAGAGGTCTGGTGGAGCCTGCAAAAGTCCAGCTTTCAA  
 GGAACACAGAAGTATGTGTATGGAATATTAGAAGATGTTGCTTTACTCTTAAGTTGGTTCCTAGGAA  
 AAATAGTTAAATACTGTGACTTTAAATGTGAGAGGGTTTTCAAGTACTCATTTTTTAAATGTCCAAA  
 ATTTTGTCAATCAGTTTGGGTCTTGTGTGTAGAACTGATATTACTTAAAGTTTAAACGAGGAATG  
 GGAGTGAGGCTCTCTCATAACCTATTCAGAACTGACTTTTAAACAATAATAAATTAAGTTTAAATATTT  
 TTAATGAATTGAGCAATGTTGAGTTGGAGTCAAGATGGCCGATCAGAACAGAACACCTGCAGCAG  
 CTGGCAGGAAGCAGGTCTGTGGCAAGGCTATTTGGGGAAGGGAATAAAACCACTAGGTAACT  
 TGTAGCTGTGGTTGAAGAAGTGGTTTTGAACACTCTGTCCAGCCCCACCAACCGAAAGTCCAGG  
 CTGAGCAAAACACCACTGGGTAAATTTGCAATTTTAAATAAGTTGAGGATTGAGCCGAACTGGAG  
 AGGTCTCTTTAACTTATTGAGTTCAACCTTTTAAATTTAGCTTGAGTAGTTCTAGTTTCCCAAACCT  
 AAGTTTATCGACTTCTAAATGTATTTAGAATTCATTTTCAAAATAGGTTATGTAAGAAATTGAAGGAC  
 TTAGTGTCTTTAATTTCTAATATATTAGAAAACCTCTTAAATTAATCTATTATTCTTCCCTCTGATTA  
 TTGGTCTCCATTCA (서열 번호: 140)

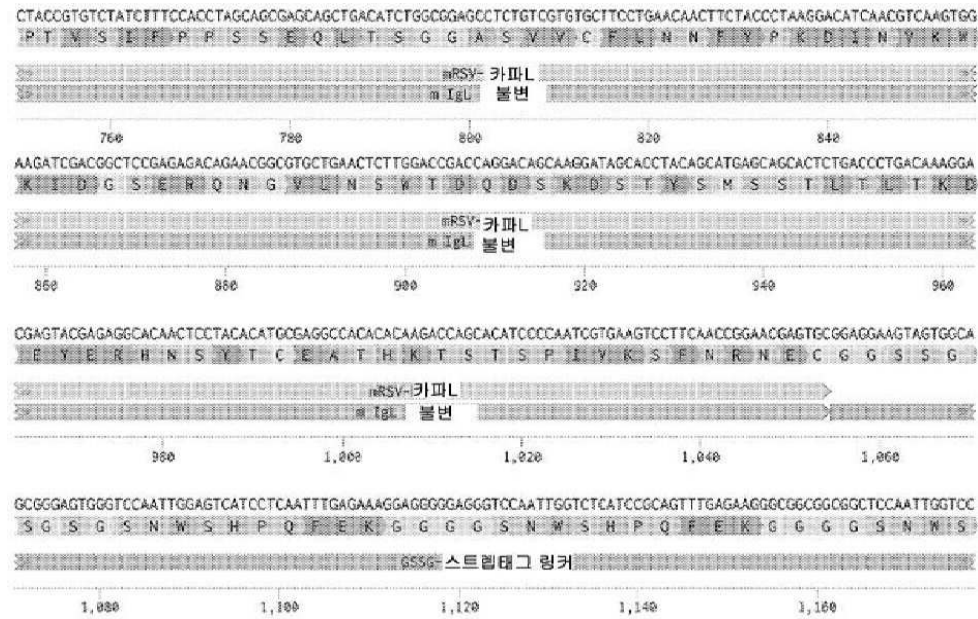
도면25ck

> 마우스 항-RSV emAb AAV 에서 신호 서열 없는 mRSV 카파 경쇄 코딩 서열  
 GACATCCAGCTGACACAGAGCCCTGCCATCATGTCTGCTAGCCCTGGCGAGAAAGTGACAATGACC  
 TGTTCGCCAGCAGCTCCGTGGGTACATGCACTGGTATCAGCAGAAGTCTAGCACAAAGCCCAAG  
 CTGTGGATCTACGACACCTCCAAGCTGGCCTCTGGCGTGCCAGGCAGATTTTCTGGAAGCGGCAGC  
 GGCAACAGCTACAGCCTGACTATCAGCTCCATCCAGGCCGAGGATGTGGCTACCTACTACTGCTTCA  
 GAGGCAGCGGCTACCCCTTACATTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAATCAAGGCCGATGCCGCTC  
 CTACCGTGTCTATCTTTCCACCTAGCAGCGAGCAGCTGACATCTGGCGGAGCCTCTGTCGTGTGCTT  
 CCTGAACAACCTTACCCCTAAGGACATCAACGTCAAGTGGAAGATCGACGGCTCCGAGAGACAGAA  
 CGCGCTGCTGAACCTTGGACCGACAGGACAGCAAGGATAGCACCTACAGCATGAGCAGCACTCT  
 GACCCTGACAAAGGACGAGTACGAGAGGCACAACCTCTACACATGCGAGGCCACACACAAGACCAG  
 GACATCCCCAATCGTGAAGTCCTTCAACCGGAACGAGTG (서열 번호: 281)

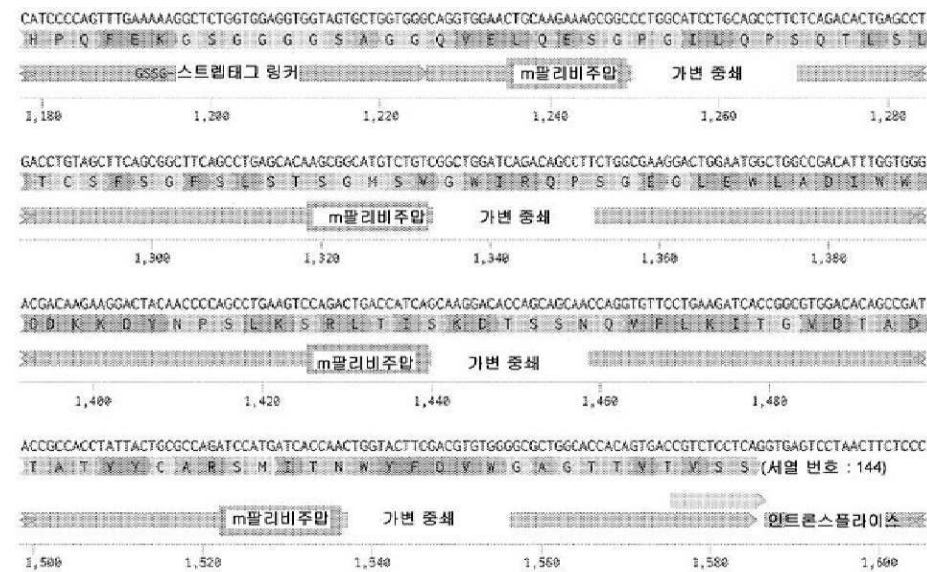
> 마우스 항-RSV emAb AAV 에서 신호 펩티드 없는 mRSV 카파 경쇄 아미노산 서열  
 DIQLTQSPAIMSASPGEKVTMTCSASSSVGYMHWYQQKSSTSPKLWIYDTSKLGASGVPGRFSGSGSGNS  
 YSLTISSQAEDVATYYCFRSGYPFTFGQGTKLEIKADAAPTVSIFPPSSEQLTSGGASVVCFLNNFYPKD  
 INVKWKIDGSRQNGVLNSWTDQDSKDYMSMSSLTLTKDEYERHNSYTCEATHKTSTSPIVKSFNRE  
 C (서열 번호: 286)



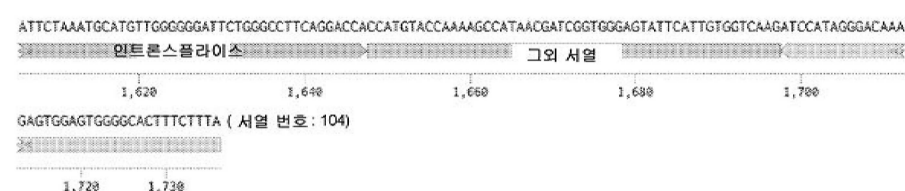
도면25dc



도면25dd



도면25de

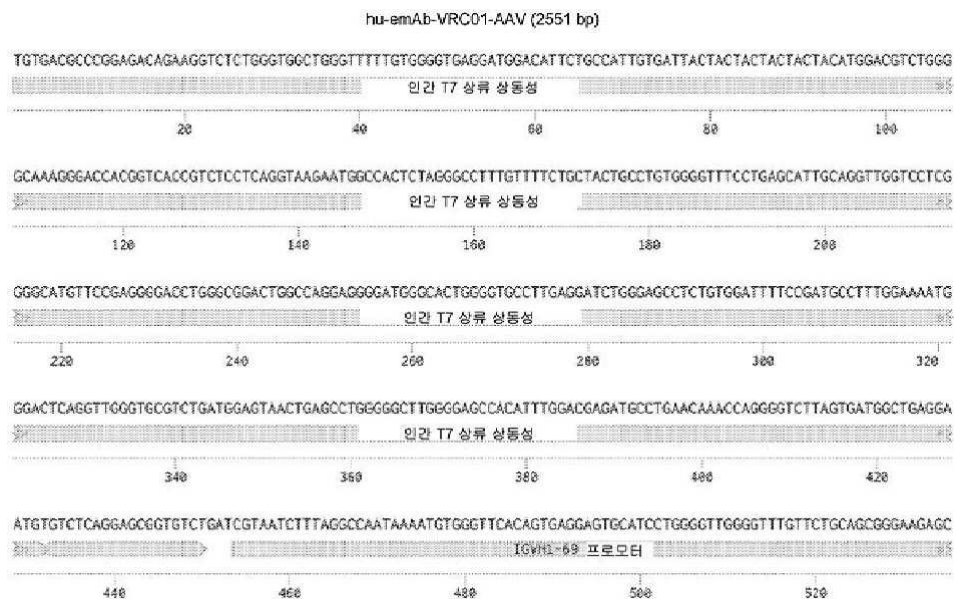




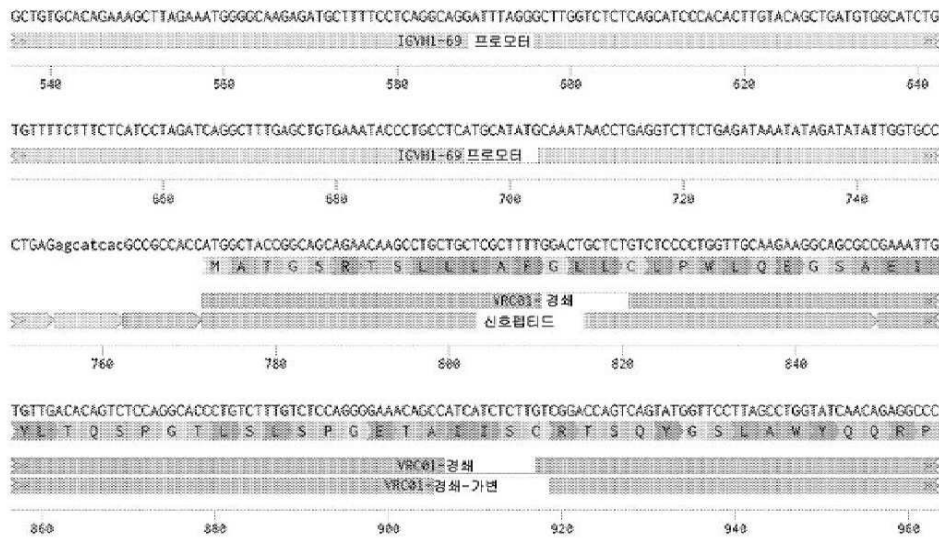
## 도면25df

> ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 상류 상동성 서열 (F 프라이머)  
 ACCACCTCTGTGACAGCATTATACAGTATCCGATGGAT (서열 번호: 142)  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 J558H10 프로모터는 서열 번호: 128 이다  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 신호 펩티드 코딩 서열은 서열 번호: 129 이다  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 m 팔리비주맵 경쇄 코딩 서열은 서열 번호: 130 이다  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 m 팔리비주맵 가변 경쇄 코딩 서열은 서열 번호: 131 이다  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 m 팔리비주맵 카파 불변 경쇄 코딩 서열은 서열 번호: 132 이다  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 GSSG-스트랩태그 링커 코딩 서열은 서열 번호: 116 이다  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 m 팔리비주맵 가변 중쇄 코딩 서열은 서열 번호: 133 이다  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 신호 펩티드 아미노산 서열은 서열 번호: 134 이다  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 m 팔리비주맵 경쇄 아미노산 서열은 서열 번호: 135 이다  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 m 팔리비주맵 가변 경쇄 아미노산 서열은 서열 번호: 136 이다  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 m 팔리비주맵 카파 불변 경쇄 아미노산 서열은 서열 번호: 137 이다  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 GSSG-스트랩태그 링커 아미노산 서열은 서열 번호: 122 이다  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 m 팔리비주맵 가변 중쇄 아미노산 서열은 서열 번호: 138 이다  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 연결 서열을 가진 스플라이스 접합은 서열 번호: 139 이다  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 하류 상동성 서열  
 ATCCATAGGGACAAAGAGTGGAGTGGGGCACTTTCTTTA (서열 번호: 143)  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 신호 서열 없는 m 팔리비주맵 경쇄 코딩 서열은 서열 번호: 281 이다  
 > ms-emAb-RSV-dsDNA 에서 신호 펩티드 없는 m 팔리비주맵 경쇄 아미노산 서열은 서열 번호: 286 이다

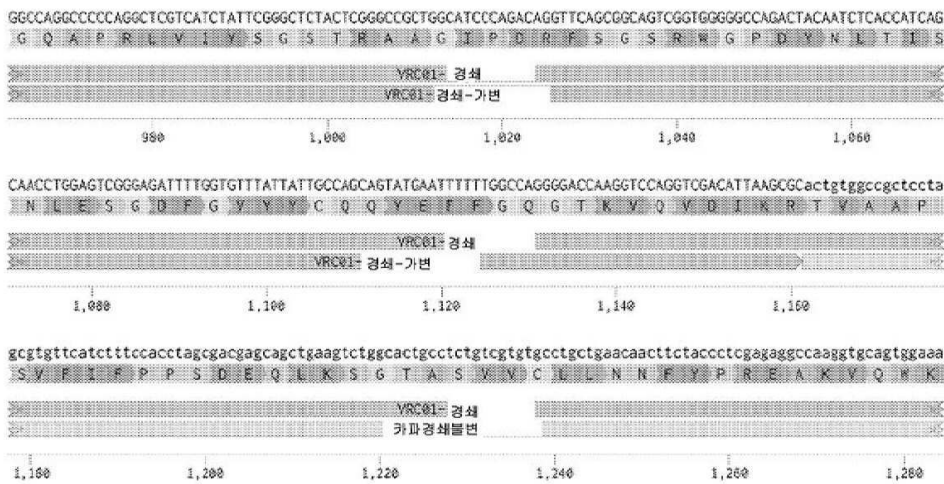
## 도면25ea



도면25eb

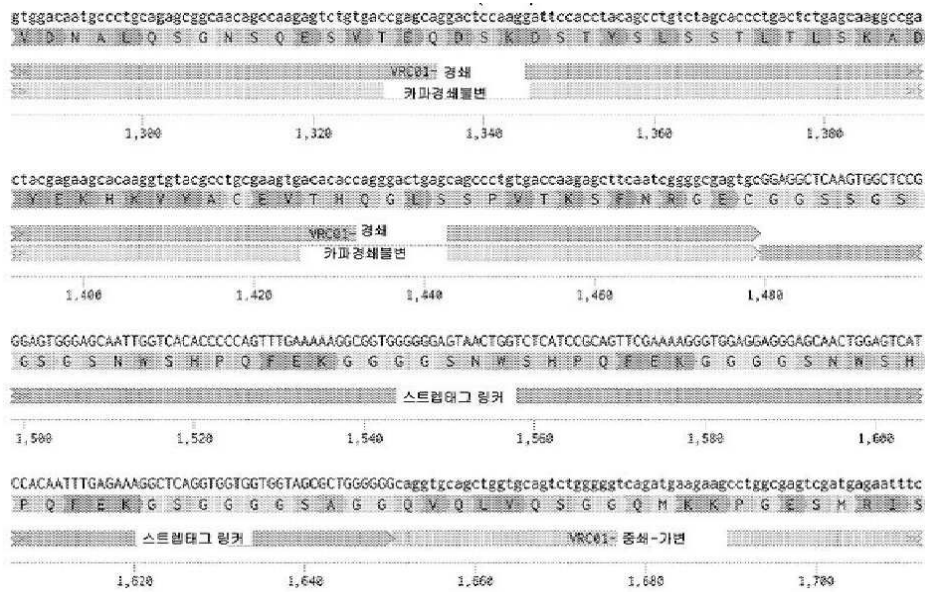


도면25ec

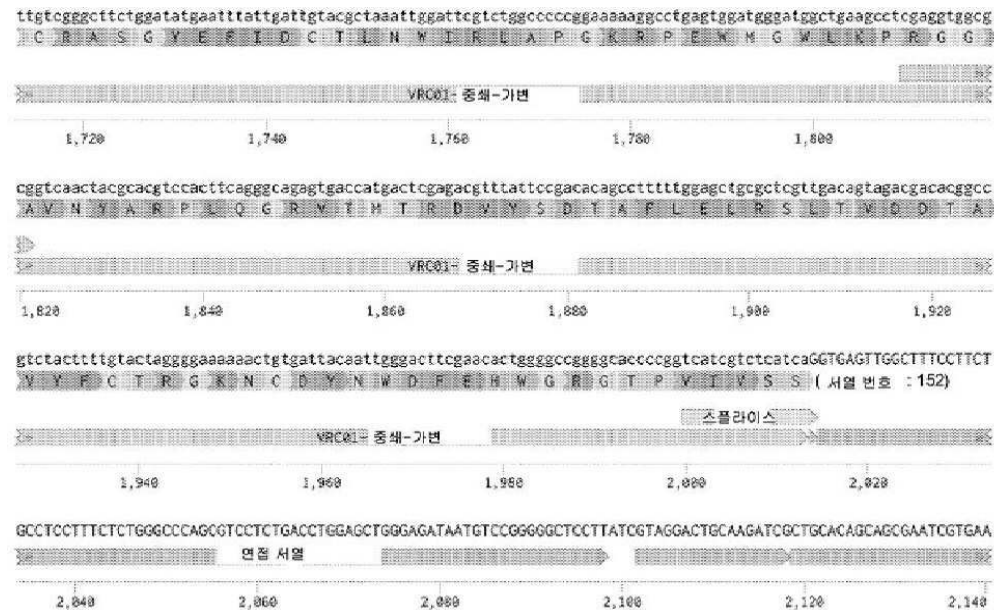




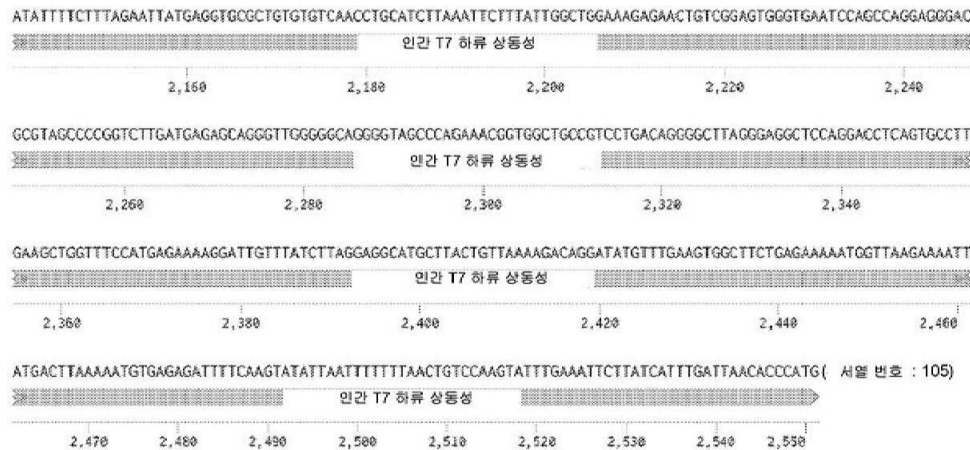
도면25ed



도면25ee



도면25ef



도면25eg

> Hu-emAb-VRC01-AAV 에서 인간 T7 상류 상동성은 서열 번호: 110 이다

> Hu-emAb-VRC01-AAV 에서 IgVH1-69 프로모터는 서열 번호: 111 이다

> Hu-emAb-VRC01-AAV 에서 신호 펩티드 코딩 서열은 서열 번호: 112 이다

> Hu-emAb-VRC01-AAV 에서 VRC01 경쇄 코딩 서열

ATGGCTACCGGCAGCAGAACAAAGCCTGCTGCTCGCTTTTGGACTGCTCTGTCTCCCCTGGTTGCAA  
GAAGGCAGCGCCGAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAACA  
GCCATCATCTCTTGTCCGACCAAGTCAGTATGGTTCCTTAGCCTGGTATCAACAGAGGCCCGGCCAG  
GCCCCCAGGCTCGTCACTATTCGGGCTCTACTCGGGCCGCTGGCATCCAGACAGGTTGAGCGGC  
AGTCGGTGGGGGCCAGACTACAATCTCACCATCAGCAACCTGGAGTCGGGAGATTTGGTGTATT  
ATTGCCAGCAGTATGAATTTTGGCCAGGGGACCAAGGTCCAGGTCGACATTAAGCGCACTGTGG  
CCGCTCCTAGCGTGTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACTGCCTGTCTGT  
GTGCTGCTGAACAACTTCTACCCTCGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGTGGACAATGCCCTGCA  
GAGCGGCAACAGCCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGATTCCACCTACAGCCTGTCTAG  
CACCTGACTCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAAGTGACACACCA  
GGGACTGAGCAGCCCTGTGACCAAGAGCTTCAATCGGGGCGAGTGC (서열 번호: 145)

> Hu-emAb-VRC01-AAV 에서 VRC01 가변 경쇄 코딩 서열

GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAACAGCCATCATCTCTT  
GTCCGACCAAGTCAGTATGGTTCCTTAGCCTGGTATCAACAGAGGCCCGGCCAGGCCCGCCAGGCTCG  
TCATCTATTCGGGCTCTACTCGGGCCGCTGGCATCCAGACAGGTTGAGCGGCAGTGGTGGGGG  
CCAGACTACAATCTCACCATCAGCAACCTGGAGTCGGGAGATTTGGTGTATTATTGCCAGCAGT  
ATGAATTTTGGCCAGGGGACCAAGGTCCAGGTCGACATTAAGCGC (서열 번호: 146)

> Hu-emAb-VRC01-AAV 에서 카파 불변 경쇄 코딩 서열은 서열 번호: 115 이다

> Hu-emAb-VRC01-AAV 에서 GSSG-스트랩태그 링커 코딩 서열은 서열 번호: 116 이다

> Hu-emAb-VRC01-AAV 에서 VRC01 가변 중쇄 코딩 서열

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGGTGAGATGAAGAAGCCTGGCGAGTCGATGAGAATTTCTTGT  
CGGGCTTCTGGATATGAATTTATTGATTGTACGCTAAATTGGATTCTGTGGCCCCCGGAAAAAGGC  
CTGAGTGGATGGGATGGCTGAAGCCTCGAGGTGGCGCGGTCAACTACGCACGTCCACTTCAGGGC  
AGAGTGACCATGACTCGAGACGTTTATTCCGACACAGCCTTTTGGAGCTGCGCTCGTTGACAGTAG  
ACGACACGGCCGTCTACTTTTGTACTAGGGGAAAAAACTGTGATTACAATTGGGACTTCGAACACTG  
GGGCCGGGGCACCCCGGTCTCGTCTCATCA (서열 번호: 147)

## 도면25eh

>Hu-emAb-VRC01-AAV에서 신호 펩티드 아미노산 서열은 서열 번호: 118 이다

> Hu-emAb-VRC01-AAV에서 VRC01 경쇄 아미노산 서열

MATGSRTSLLLAFGLLCLPWLQEGSAEIVLTQSPGTLSPGETAIIISCRTSQYGSGLAWYQQRPGQAPRL  
VIYSGSTRAAGIPDRFSGSRWGPDPYNTISNLESGDFGVYYCQQYEFFGQGTKVQVDIKRTVAAPSVFIF  
PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYE  
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열 번호: 148)

> Hu-emAb-VRC01-AAV에서 VRC01 가변 경쇄 아미노산 서열

EIVLTQSPGTLSPGETAIIISCRTSQYGSGLAWYQQRPGQAPRLVIYSGSTRAAGIPDRFSGSRWGPDPY  
NTISNLESGDFGVYYCQQYEFFGQGTKVQVDIKR (서열 번호: 149)

> Hu-emAb-VRC01-AAV에서 카파 불변 경쇄 아미노산 서열은 서열 번호: 121 이다

> Hu-emAb-VRC01-AAV에서 GSSG-스트렙테그 링커 아미노산 서열은 서열 번호: 122 이다

> Hu-emAb-VRC01-AAV에서 VRC01 가변 중쇄 아미노산 서열

QVQLVQSGGQMKKPGESMRISCRASGYEFIDCTLNWIRLAPGKRPEWMGWLKPGRGGAVNYARPLQGR  
VTMTRDVYSDTAFLELRSLTVDDTAVYFCTRGKNCQDYNWDFEHWGRGTPVIVSS (서열 번호: 150)

>본 발명의 구조체에서 연결 서열을 가지는 스플라이스 접합

CAGGTGAGTTGGCTTTCCTCTGCCTCCTTTCTCTGGGCCAGCGTCCTCTGACCTGGAGCTGGGA  
GATAATGTCCGGGGGCTCCTT (서열 번호: 151)

> Hu-emAb-VRC01-AAV에서 인간 T7 하류 상동성은 서열 번호: 125 이다

## 도면25ei

> Hu-emAb-VRC01-AAV에서 신호 서열이 없는 VRC01 경쇄 코딩 서열

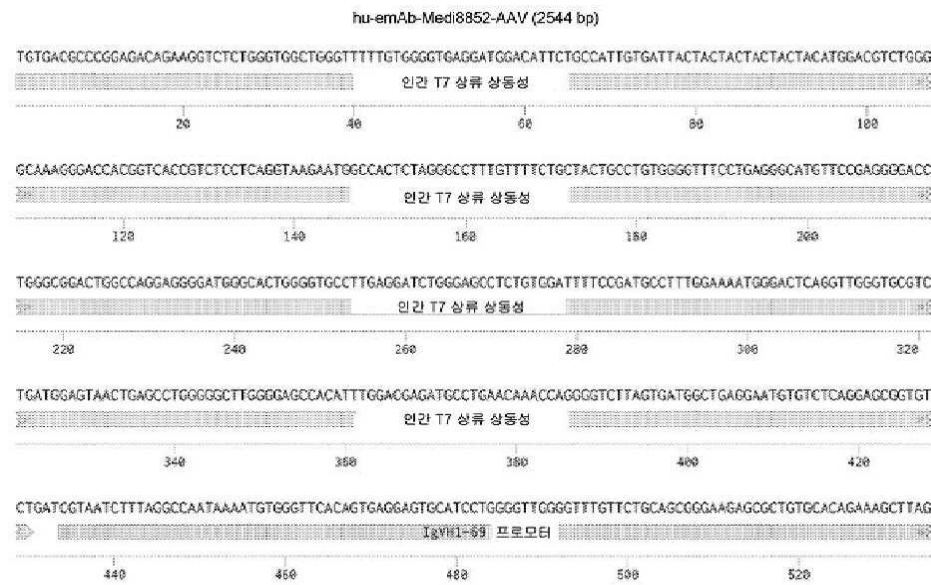
GAAATTGTGTTGACACAGTCTCCAGGCACCCTGTCTTTGTCTCCAGGGGAAACAGCCATCATCTCTT  
GTCGGACCAGTCAGTATGTTTCCTTAGCCTGGTATCAACAGAGGCCCGGCCAGGCCCGCCAGGCTCG  
TCATCTATTCGGGCTCTACTCGGGCCGCTGGCATCCAGACAGGTTAGCGGCAGTCGGTGGGGG  
CCAGACTACAATCTCACCATCAGCAACCTGGAGTCGGGAGATTTTGGTGTTTATTATTGCCAGCAGT  
ATGAATTTTTTGGCCAGGGGACCAAGGTCCAGGTCGACATTAAGCGCACTGTGGCCGCTCCTAGCG  
TGTTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACTGCCTCTGTCTGTGCTGCTGAA  
CAACTTCTACCCTCGAGAGGCCAAGGTGCAAGTGGAAAGTGGAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAG  
CCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGATTCCACCTACAGCCTGTCTAGCACCTGACTCT  
GAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACACACCAGGGACTGAGCA  
GCCCTGTGACCAAGAGCTTCAATCGGGGCGAGTGC (서열 번호: 282)

> Hu-emAb-VRC01-AAV에서 신호 펩티드가 없는 VRC01 경쇄 아미노산 서열

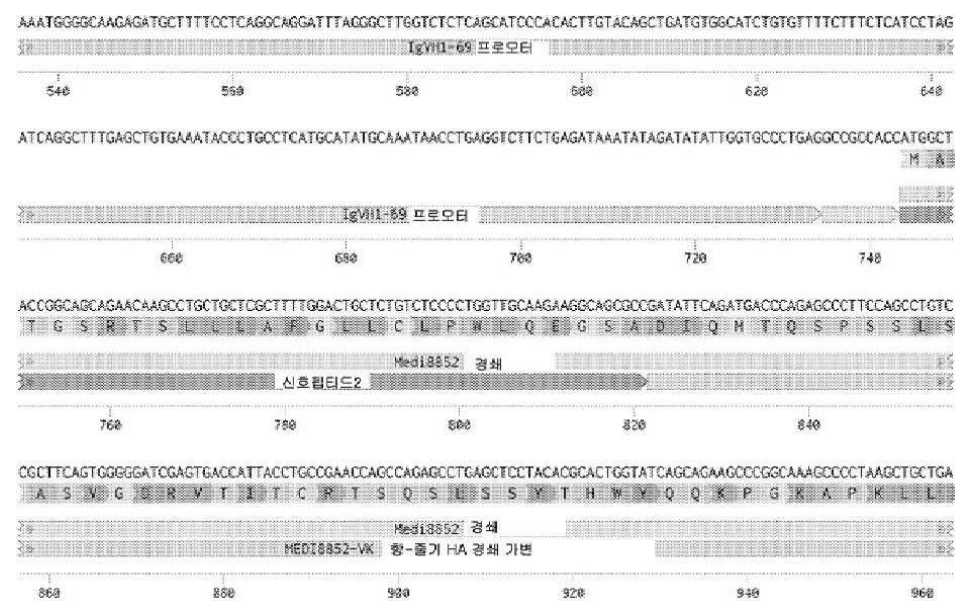
EIVLTQSPGTLSPGETAIIISCRTSQYGSGLAWYQQRPGQAPRLVIYSGSTRAAGIPDRFSGSRWGPDPY  
NTISNLESGDFGVYYCQQYEFFGQGTKVQVDIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK  
VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE  
C (서열 번호: 287)



도면25fa



도면25fb

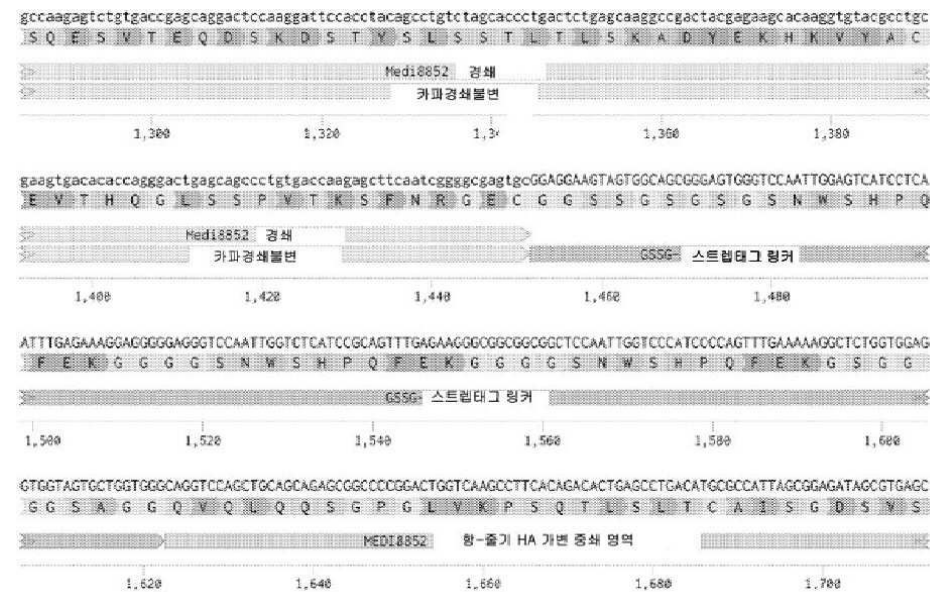




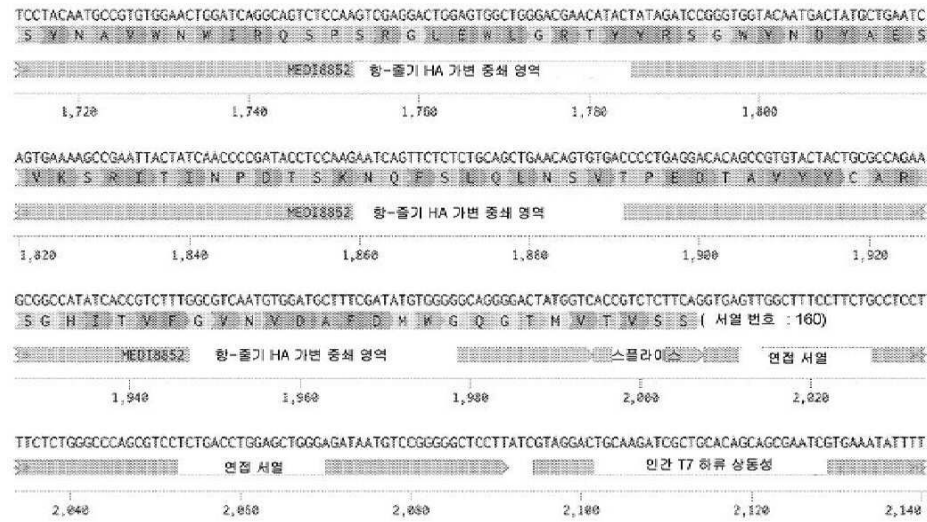
도면25fc



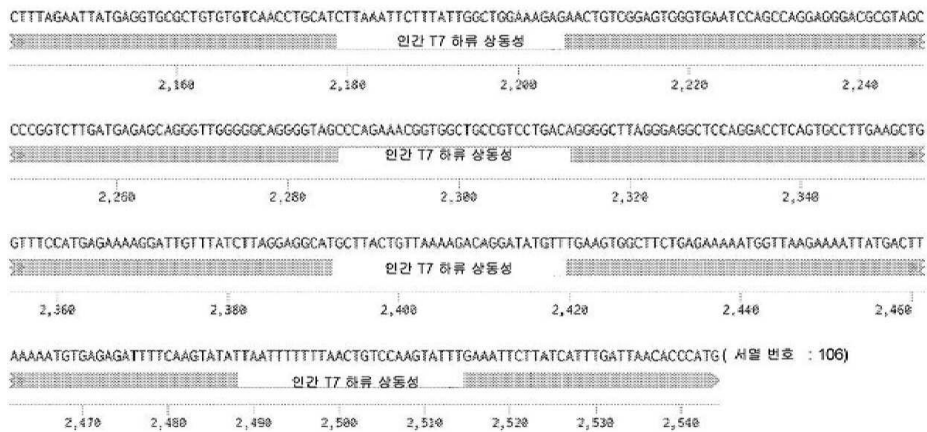
도면25fd



도면25fe



도면25ff



도면25fg

>본 발명의 구조체에서 인간 T7 상류 상동성 영역

TGTGACGCCCCGAGACAGAAGGTCTCTGGGTGGCTGGGTTTTGTGGGGTGAGGATGGACATTCTG  
CCATTGTGATTACTACTACTACTACTACATGGACGTCTGGGGCAAAGGGACCACGGTCACCGTCTCC  
TCAGGTAAGAATGGCCACTCTAGGGCCTTTGTTTTCTGCTACTGCCTGTGGGGTTTCCTGAGGGCAT  
GTTCCGAGGGGACCTGGGCGGACTGGCCAGGAGGGGATGGGCACTGGGGTGCCTTGAGGATCTG  
GGAGCCTCTGTGGATTTCCGATGCCCTTTGGAAAATGGGACTCAGGTTGGGTGCGTCTGATGGAGT  
AACTGAGCCTGGGGGCTTGGGGAGCCACATTTGGACGAGATGCCTGAACAAACCAGGGGTCTTAGT  
GATGGCTGAGGAATGTGTCTCAGGAGCGGTGTCT (서열 번호: 153)

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 IgVH1-69 프로모터는 서열 번호: 111 이다

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 신호 펩티드 코딩 서열은 서열 번호: 112 이다

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 Medi8852 경쇄 코딩 서열

ATGGCTACCGGCAGCAGAACAAAGCCTGCTGCTCGCTTTTGGACTGCTCTGTCTCCCCTGGTTGCAA  
GAAGGCAGCGCCGATATTACAGATGACCCAGAGCCCTTCCAGCCTGTCCGCTTCAGTGGGGGATCGA  
GTGACCATTAACCTGCCGAACCCAGCCAGAGCCTGAGCTCCTACACGCACTGGTATCAGCAGAAGCCC  
GGCAAAGCCCCTAAGCTGCTGATCTACGCCGCTTCTAGTCGGGGGTCCGGAGTGCCAAAGCCGGTTC  
TCCGGATCTGGGAGTGGAACCGACTTTACCCTGACAATTTCAAGCCTGCAGCCCCGAGATTTTCGCTA  
CATACTACTGTGTCAGCAGAGCAGAACTTTCCGGCAGGGCACTAAGGTGGAGATCAAACGGACTGTGG  
CCGCTCTAGCGTGTTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACTGCCTCTGTGCT  
GTGCTGCTGAACAACTTCTACCCTCGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGTGGAACATGCCCTGCA  
GAGCGCAACAGCCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGATTCACCTACAGCCTGTCTAG  
CACCTGACTCTGAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAAGTGACACACCA  
GGGACTGAGCAGCCCTGTGACCAAGAGCTTCAATCGGGGCGAGTGC (서열 번호: 154)

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 MEDI8852-VK 항-줄기 HA 가변 경쇄 코딩 서열

GATATTCAGATGACCCAGAGCCCTTCCAGCCTGTCCGCTTCAGTGGGGGATCGAGTGACCATTAACCT  
GCCGAACCCAGCCAGAGCCTGAGCTCCTACACGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCCGCAAAGCCCCCTA  
AGCTGCTGATCTACGCCGCTTCTAGTCGGGGGTCCGGAGTGCCAAAGCCGTTCTCCGGATCTGGGA  
GTGGAACCGACTTTACCCTGACAATTTCAAGCCTGCAGCCCGAGGATTTTCGCTACATACTACTGTCA  
GCAGAGCAGAACTTTCCGGCAGGGCACTAAGGTGGAGATCAAA (서열 번호: 155)

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 카파 불변 경쇄 코딩 서열은 서열 번호: 115 이다

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 GSSG-스트랩테그 링커 코딩 서열은 서열 번호: 116 이다



## 도면25fh

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 항-줄기 HA 가변 중쇄 코딩 서열  
CAGGTCCAGCTGCAGCAGAGCGGCCCGGACTGGTCAAGCCTTCACAGACACTGAGCCTGACATG  
CGCCATTAGCGGAGATAGCGTGAGCTCCTACAATGCCGTGTGGAAGTGGATCAGGCAGTCTCCAAG  
TCGAGGACTGGAGTGGCTGGGACGAACATACTATAGATCCGGGTGGTACAATGACTATGCTGAATC  
AGTGAAAAGCCGAATTACTATCAACCCCGATACCTCCAAGAATCAGTTCTCTCTGCAGCTGAACAGT  
GTGACCCCTGAGGACACAGCCGTGTAATACTGCGCCAGAAAGCGGCCATATCACCGTCTTTGGCGTC  
AATGTGGATGCTTTCGATATGTGGGGGCGAGGGGACTATGGTCACCGTCTCTTCA (서열 번호: 156)

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 신호 펩티드 아미노산 서열은 서열 번호: 118 이다

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 Medi8852 경쇄 아미노산 서열  
MATGSRSTLLAFGLLCLPWLEGSADIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRTSQSLSSYTHWYQQKPGKA  
PKLLIYAASSRSGVPSRFSGSGSGTDFLTISLQPEDFATYYCQQSRTFGQGKVEIKRTVAAPSVFIF  
PPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYE  
KHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (서열 번호: 157)

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 MEDI8852-VK 항-줄기 HA 가변 경쇄 아미노산 서열  
DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRTSQSLSSYTHWYQQKPGKAPKLLIYAASSRSGVPSRFSGSGSGT  
DFLTISLQPEDFATYYCQQSRTFGQGKVEIK (서열 번호: 158)

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 카파 불변 경쇄 아미노산 서열은 서열 번호: 121 이다

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 GSSG-스트랩태그 링커 아미노산 서열은 서열 번호: 122 이다

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 항-줄기 HA 가변 중쇄 아미노산 서열  
QVQLQQSGPGLVKPSQTLTLCAISGDSVSYNAVWNWIRQSPSRGLEWLGRTYYRSGWYNDYAESVK  
SRITINPDTSKNQFSLQLNSVTPEDTAVYYCARSGHITVFGVNVDAFDMWGQGTMTVTVSS (서열 번호:  
159)

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 연결 서열을 가진 스플라이스 접합은 서열 번호: 151 이다

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 인간 T7 하류 상동성은 서열 번호: 125 이다

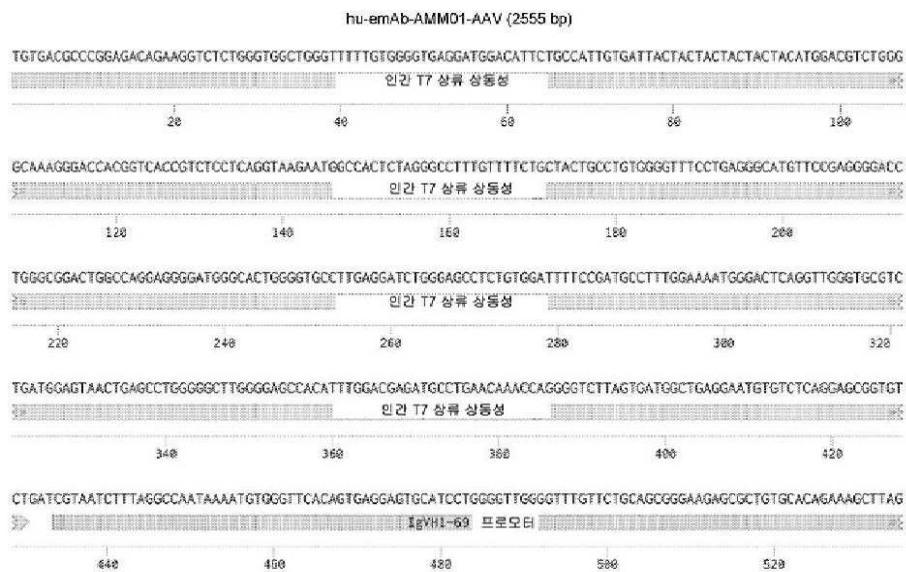
## 도면25fi

> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 신호 서열이 없는 Medi8852 경쇄 코딩 서열  
GATATTGATGACCCAGAGCCCTTCCAGCCTGTCCGCTTCAGTGCGGGATCGAGTGACCATTACCT  
GCCGAACAGCCAGAGCCTGAGCTCCTACACGCACTGGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAAGCCCCTA  
AGCTGCTGATCTACGCCGCTTCTAGTCGGGGGTCCGGAGTGCCAAAGCCGGTTCTCCGGATCTGGGA  
GTGGAACCGACTTTACCCTGACAATTTCAAGCCTGCAGCCCGAGGATTTGCTACATACTACTGTCA  
GCAGAGCAGAACTTTCCGGGAGGGCACTAAGGTGGAGATCAAACGGACTGTGGCCGCTCCTAGCG  
TGTTTCATCTTTCCACCTAGCGACGAGCAGCTGAAGTCTGGCACTGCCTCTGTCGTGTGCCTGCTGAA  
CAACTTCTACCCTCGAGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGTGGACAATGCCCTGCAGAGCGGCAACAG  
CCAAGAGTCTGTGACCGAGCAGGACTCCAAGGATTCCACCTACAGCCTGTCTAGCACCTGACTCT  
GAGCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAGTGACACACAGGGGACTGAGCA  
GCCCTGTGACCAAGAGCTTCAATCGGGGCGAGTGC (서열 번호: 283)

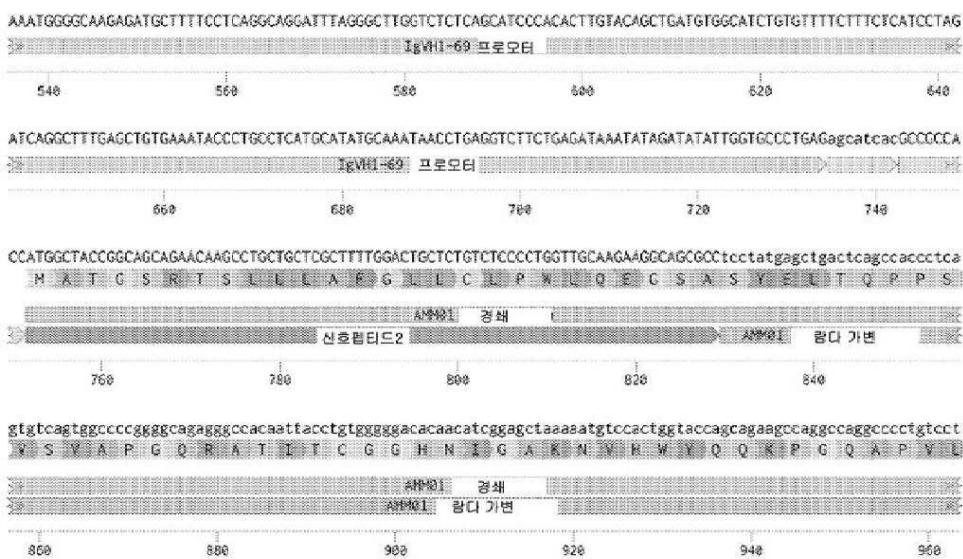
> hu-emAb-Medi8852-AAV 에서 신호 펩티드 없는 Medi8852 경쇄 아미노산 서열  
DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCRTSQSLSSYTHWYQQKPGKAPKLLIYAASSRSGVPSRFSGSGSGT  
DFLTISLQPEDFATYYCQQSRTFGQGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREA  
KVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRG  
EC (서열 번호: 288)



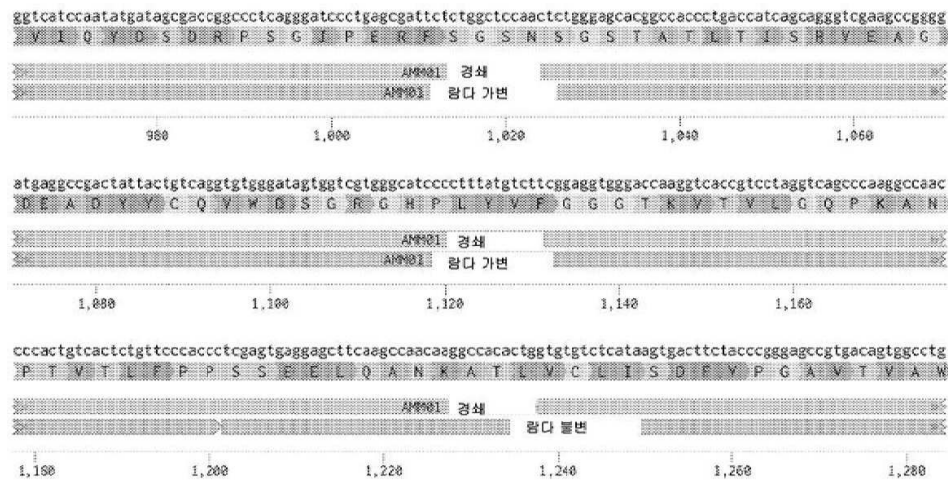
도면 25ga



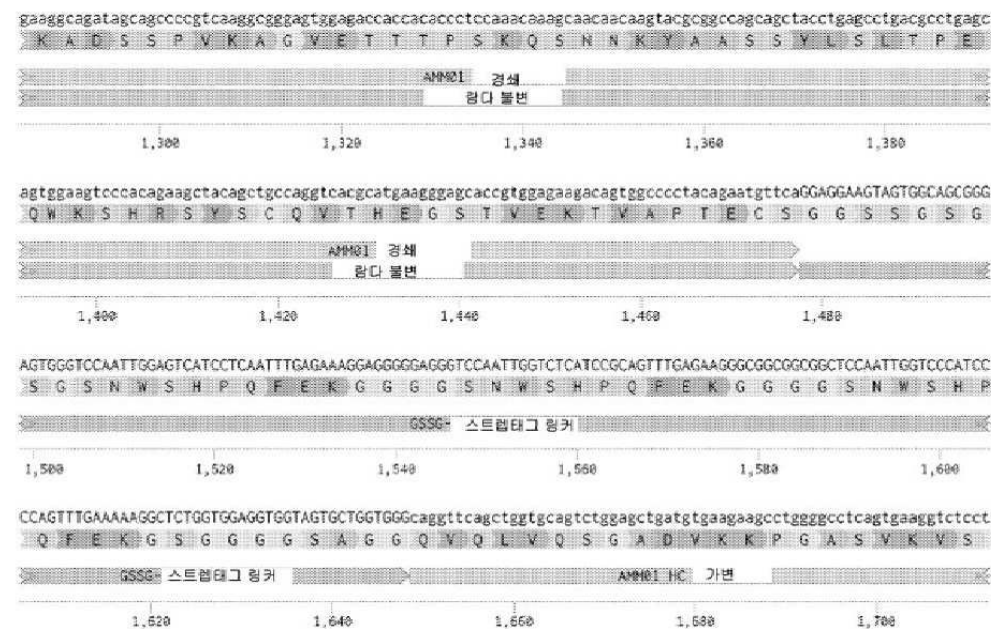
도면 25gb



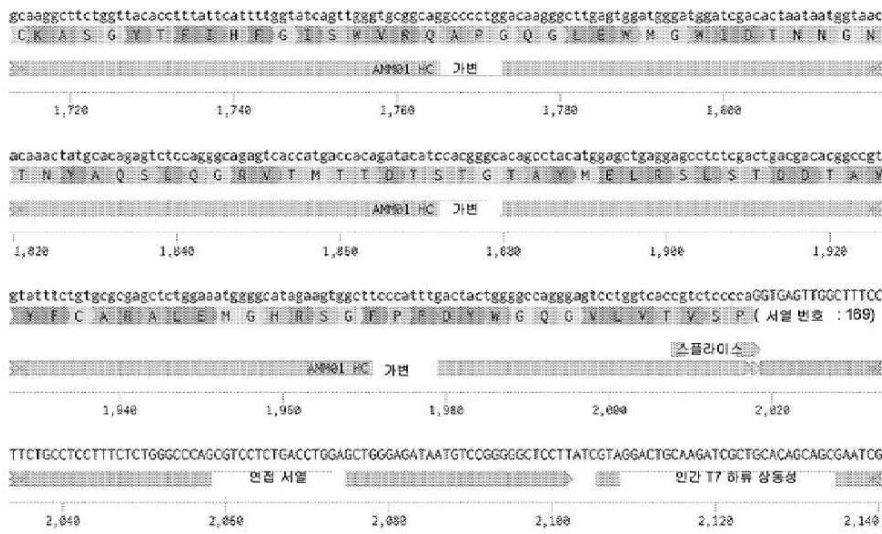
도면25gc



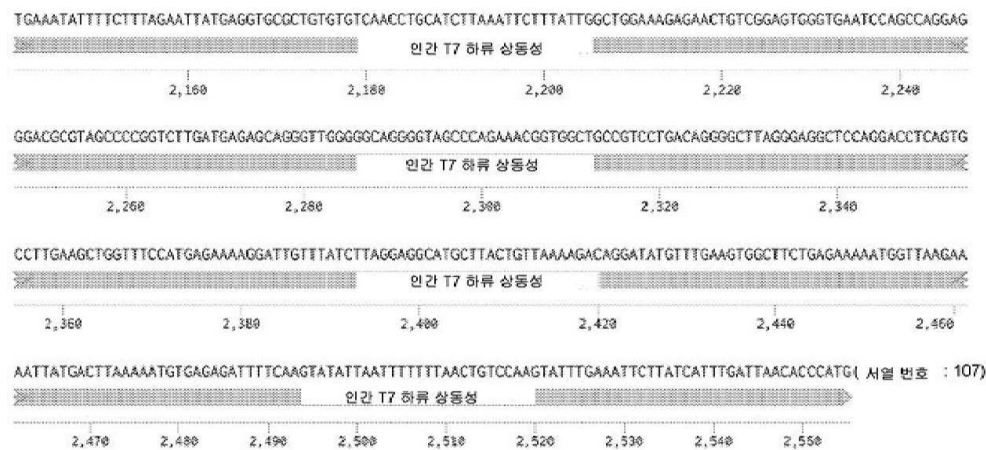
도면25gd



도면25ge



도면25gf





도면25gg

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 인간 T7 상류 상동성 영역은 서열 번호: 153 이다

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 IgVH1-69 프로모터는 서열 번호: 111 이다

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 신호 펩티드 코딩 서열은 서열 번호: 112 이다

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 AMM01 경쇄 코딩 서열

ATGGCTACCGGCAGCAGAACAAAGCCTGCTGCTCGCTTTTGGACTGCTCTGTCTCCCCTGGTTGCAA  
GAAGGCAGCGCCTCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCAGTGGCCCCGGGGCAGAGGGC  
CACAATTACCTGTGGGGGACACAACATCGGAGCTAAAAATGTCCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGG  
CCAGGCCCCCTGTCTGGTCATCCAATATGATAGCGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTC  
TGGCTCCAACCTCTGGGAGCAGGCCACCCTGACCATCAGCAGGGTGAAGCCGGGGATGAGGCCG  
ACTATTACTGTCAGGTGTGGGATAGTGGTCTGTGGGCATCCCCCTTTATGTCTTCGGAGGTGGGACCAA  
GGTCACCGTCTAGGTGAGCCCAAGGCCAACCCCACTGTCACTCTGTTCCCAACCCTCGAGTGAGGA  
GCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGT  
GGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACACACCCTCCAAACAAA  
GCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGAAGTCCCACAGAA  
GCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCCTACAGAATGTT  
CA (서열 번호: 161)

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 AMM01 램다 가변 경쇄 코딩 서열

TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCAGTGGCCCCGGGGCAGAGGGCCACAATTACCTGT  
GGGGGACACAACATCGGAGCTAAAAATGTCCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTG  
CTGGTCATCCAATATGATAGCGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACCTCTG  
GGAGCACGGCCACCCTGACCATCAGCAGGGTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTGAG  
GTGTGGGATAGTGGTCTGTGGGCATCCCCCTTTATGTCTTCGGAGGTGGGACCAAGGTCACCGTCTTA  
GGTCAGCCCAAGGCCAACCCCACTGTCACTCTGTTCCCACCC (서열 번호: 162)

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 램다 불변 경쇄 코딩 서열

TCGAGTGAGGAGCTTCAAGCCAACAAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGA  
GCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCAGATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCACACACC  
CTCCAAACAAAGCAACAACAAGTACGCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAA  
GTCCACAGAAAGCTACAGCTGCCAGGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCC  
CTACAGAATGTTCA (서열 번호: 163)

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 GSSG-스트랩태그 링커 코딩 서열은 서열 번호: 116 이다



도면25gh

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 AMM01 가변 중쇄 코딩 서열

CAGGTTCTGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGATGTGAAGAAGCCTGGGGCCTCAGTGAAGGTCTCCTGC  
AAGGCTTCTGGTTACACCTTTATTCATTTTGGTATCAGTTGGGTGCGGCAGGCCCTGGACAAGGGC  
TTGAGTGATGGGATGGATCGACACTAATAATGGTAACACAACTATGCACAGAGTCTCCAGGGCAG  
AGTCACCATGACCACAGATACATCCACGGGCACAGCCTACATGGAGCTGAGGAGCCTCTCGACTGA  
CGACACGGCCGTGATTCTGTGCGCGAGCTCTGGAAATGGGGCATAGAAGTGGCTTCCCATTGA  
CTACTGGGGCCAGGGAGTCTGGTCACCGTCTCCCCA (서열 번호: 164)

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 신호 펩티드 아미노산 서열은 서열 번호: 118 이다

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 AMM01 경쇄 아미노산 서열

MATGSRTSLLLAFGLLCLPWLQEGSASYELTQPPSVSVAPGQRATITCGHNGAKNVHWYQKPGQAP  
VLVIQYDSRPSGIPERFSGSNSGSTATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSGRGHPLYVFGGGTKVTVLGQ  
PKANPTVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTSPKQSNKYAASSYL  
SLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (서열 번호: 165)

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 AMM01 가변 경쇄 아미노산 서열

SYELTQPPSVSVAPGQRATITCGHNGAKNVHWYQKPGQAPVLVIQYDSRPSGIPERFSGSNSGST  
ATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSGRGHPLYVFGGGTKVTVLGQPKANPTVTLFPP (서열 번호: 166)

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 AMM01 램다 불변 경쇄 아미노산 서열

SSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTSPKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHR  
SYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS (서열 번호: 167)

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 GSSG-스트랩태그 링커 아미노산 서열은 서열 번호: 122 이다

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 AMM01 가변 중쇄 아미노산 서열

QVQLVQSGADVKKPGASVKVCKASGYTFIHFGISWVRQAPGQGLEWMGWIDTNNNGNTNYAQLQGR  
VTMTTDTSTGTAYMELRSLTDDTAVYFCARALEMGRHSRGPFDYWGQGVLTVP (서열 번호: 168)

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 연결 서열을 가진 스플라이스 접합은 서열 번호: 151 이다

> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 인간 T7 하류 상동성은 서열 번호: 125 이다

도면25gi

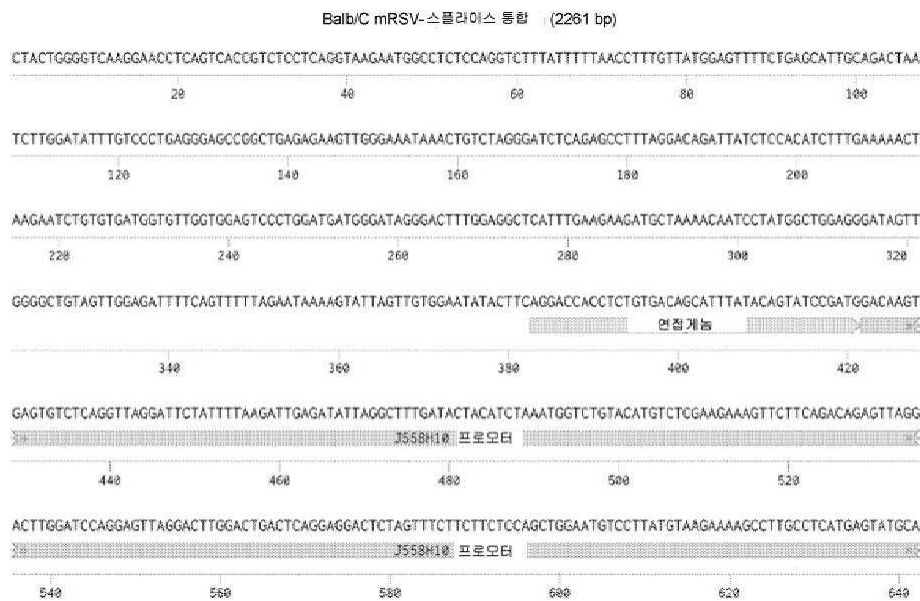
> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 신호 서열이 없는 AMM01 경쇄 코딩 서열

TCCTATGAGCTGACTCAGCCACCCTCAGTGTCAGTGGCCCCGGGGCAGAGGGCCACAATTACCTGT  
GGGGGACACAACATCGGAGCTAAAAATGTCCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTCT  
CTGGTCATCCAATATGATAGCGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACTCTG  
GGAGCACGGCCACCCTGACCATCAGCAGGGTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAG  
GTGTGGGATAGTGGTCTGTGGGCATCCCTTTATGTCTTCGGAGGTGGGACCAAGGTCACCGTCCTA  
GGTCAGCCCCAAGGCCAACCCCACTGTCACTCTGTTCCACCCCTCGAGTGAGGAGCTTCAAGCCAAC  
AAGGCCACACTGGTGTGTCTCATAAGTGACTTCTACCCGGGAGCCGTGACAGTGGCCTGGAAGGCA  
GATAGCAGCCCCGTCAAGGCGGGAGTGGAGACCAACACCCCTCCAAACAAAGCAACAACAAGTAC  
GCGGCCAGCAGCTACCTGAGCCTGACGCCTGAGCAGTGGAAAGTCCACAGAAGCTACAGCTGCCA  
GGTCACGCATGAAGGGAGCACCGTGGAGAAGACAGTGGCCCCTACAGAATGTTCA (서열 번호: 284)

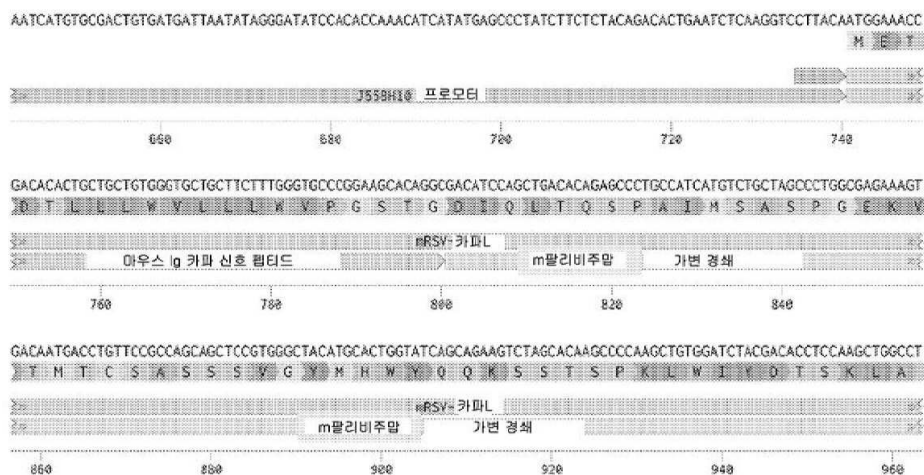
> hu-emAb-AMM01-AAV 에서 신호 펩티드가 없는 AMM01 경쇄 아미노산 서열

SYELTQPPSVSVAPGQRATITCGHNGAKNVHWYQKPGQAPVLVIQYDSRPSGIPERFSGSNSGST  
ATLTISRVEAGDEADYYCQVWDSGRGHPLYVFGGGTKVTVLGQPKANPTVTLFPPSSEELQANKATLV  
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTTSPKQSNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVE  
KTVAPTECS (서열 번호: 289)

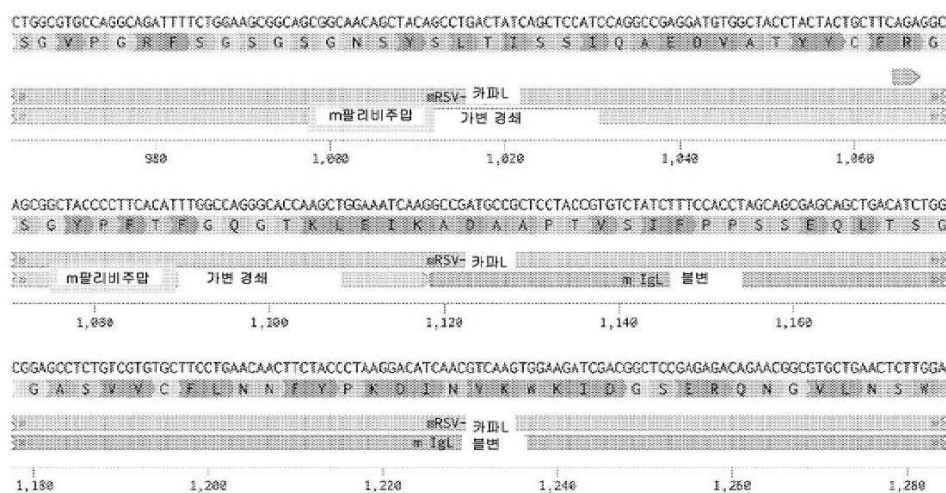
도면 25ha



도면 25hb

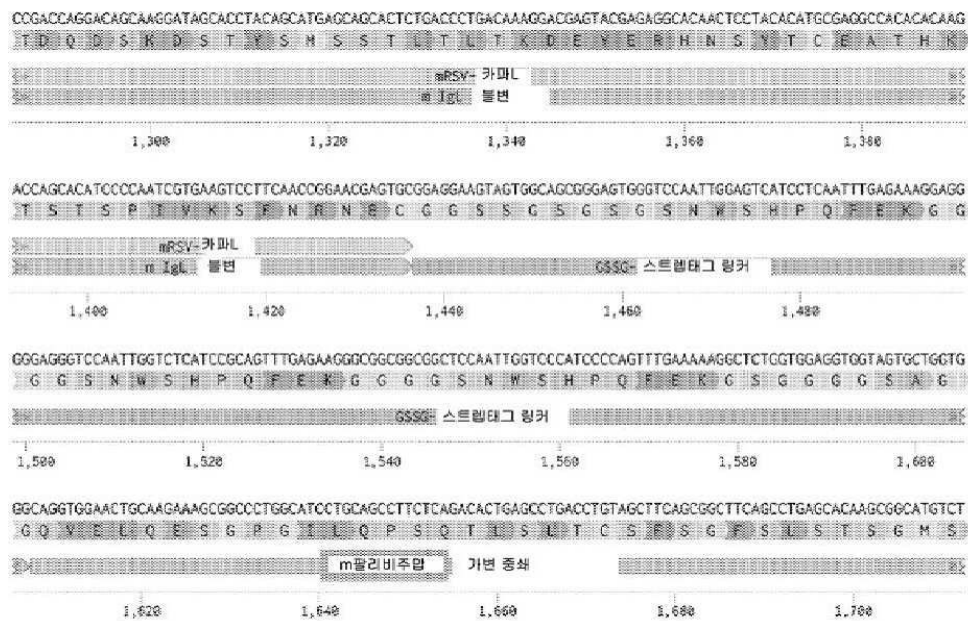


도면 25hc

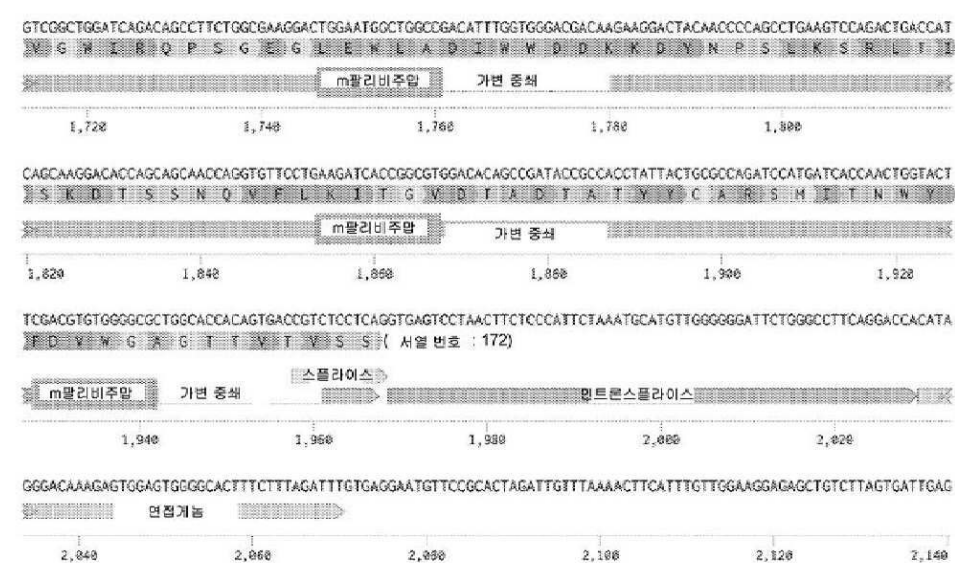




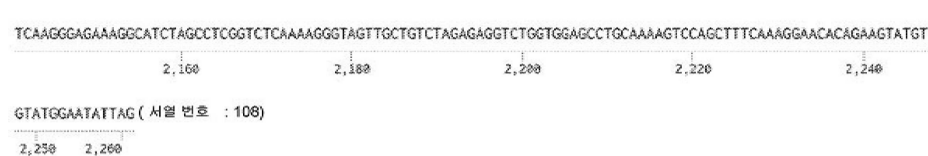
도면25hd



도면25he



도면25hf



도면 25hg

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 상류 연결 게놈 DNA

AGGACCACCTCTGTGACAGCATTATACAGTATCCGATG (서열 번호: 170)

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 J558H10 프로모터는 서열 번호: 128 이다

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 신호 펩티드 코딩 서열은 서열 번호: 129 이다

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 m 팔리비주맙 경쇄 코딩 서열은 서열 번호: 130 이다

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 m 팔리비주맙 가변 경쇄 코딩 서열은 서열 번호: 131 이다

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 m 팔리비주맙 카파 불변 경쇄 코딩 서열은 서열 번호: 132 이다

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 GSSG-스트랩테그 링커 코딩 서열은 서열 번호: 116 이다

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 m 팔리비주맙 가변 중쇄 코딩 서열은 서열 번호: 133 이다

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 신호 펩티드 아미노산 서열은 서열 번호: 134 이다

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 m팔리비주맵 경쇄 아미노산 서열은 서열 번호: 135 이다

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 m 팔리비주맙 가변 경쇄 아미노산 서열은 서열 번호: 136 이다

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 m 팔리비주맘 카파 불변 경쇄 아미노산 서열은 서열 번호: 137 이다

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 GSSG-스트랩테그 링커 아미노산 서열은 서열 번호: 122 이다

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 m 팔리비주마 가변 중쇄 아미노산 서열은 서열 번호: 138 이다

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 연결 서열을 가진 스플라이스 접합은 서열 번호: 139 이다

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 하류 연결 게놈 DNA

CATAGGGACAAAGAGTGGAGTGGGGCACTTTCTTTAGATTT (서열 번호: 171)

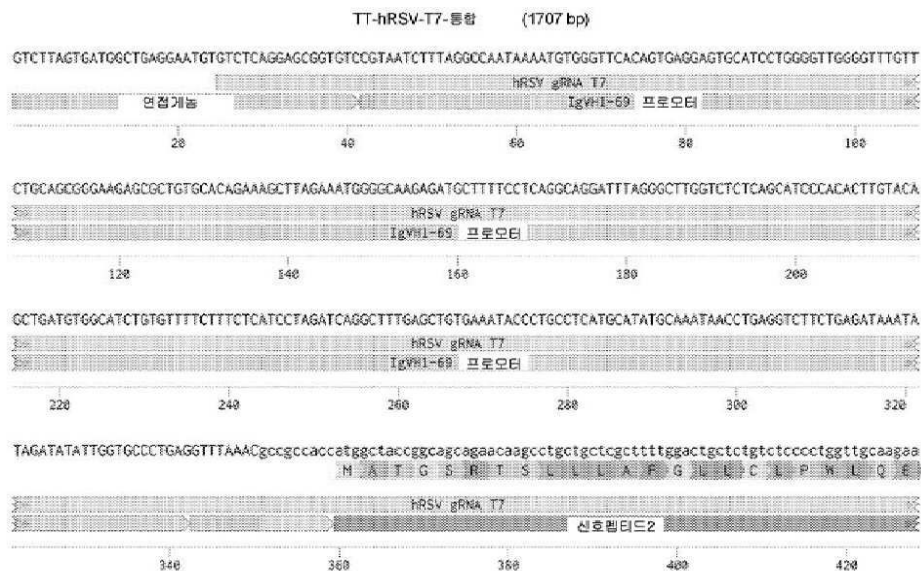
> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 신호 서열이 없는 m 팔리비주맙 경쇄 코딩 서열은 서열 번호:

281 이다

> Balb/C mRSV-스플라이스 통합에서 신호 펩티드가 없는 m 팔리비주맙 경쇄 아미노산 서열은 서열 번호:

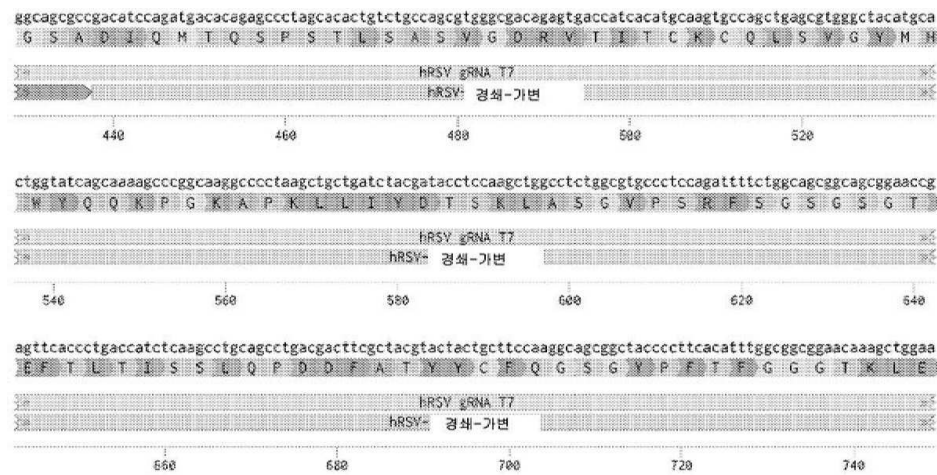
286 이다

도면25ia

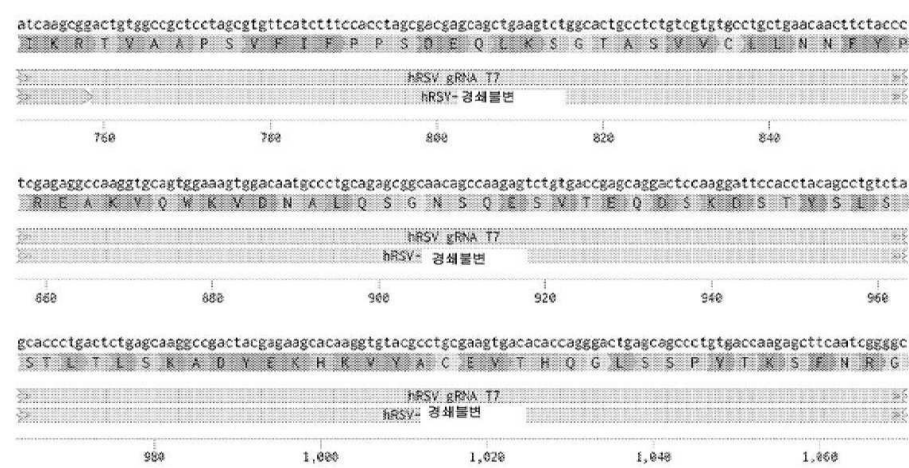




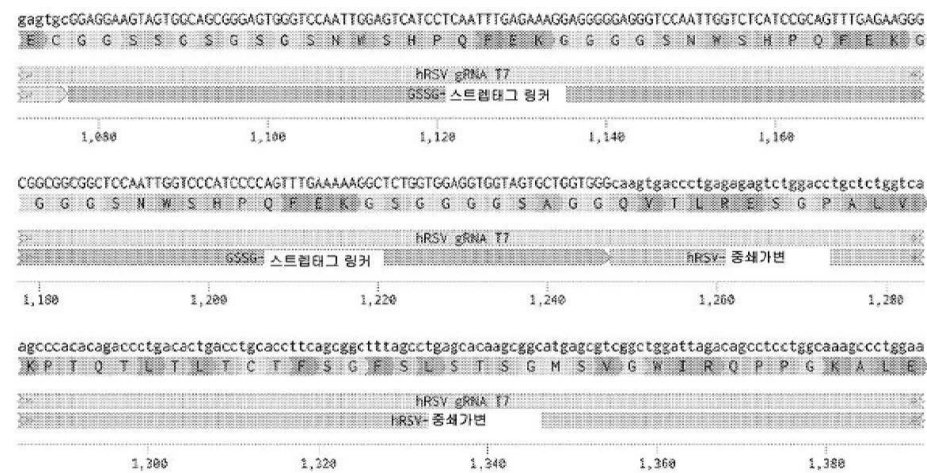
도면25ib



도면25ic

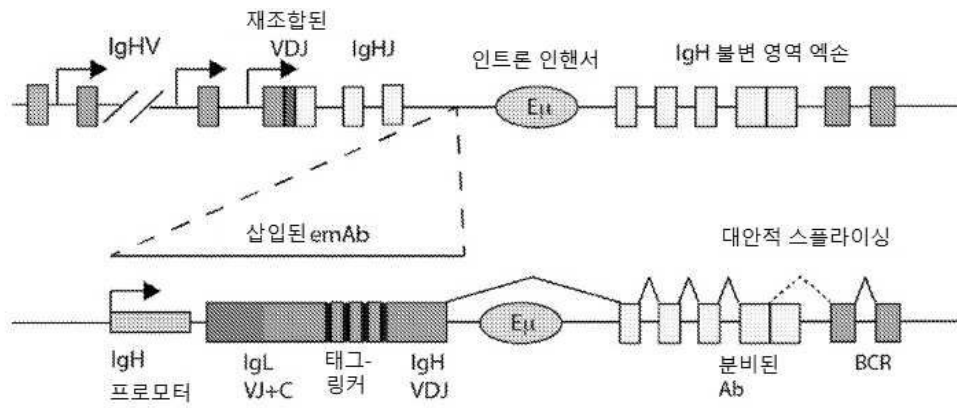


도면25id

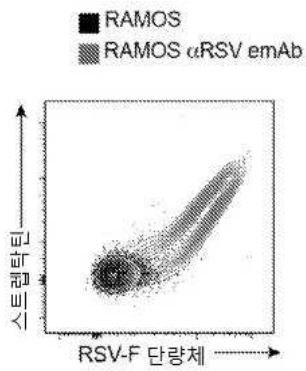




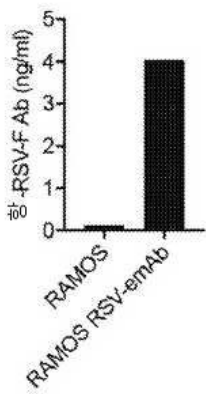
도면26a



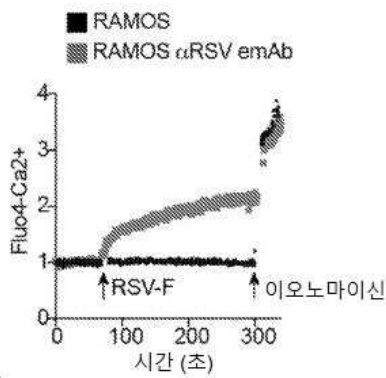
도면26b



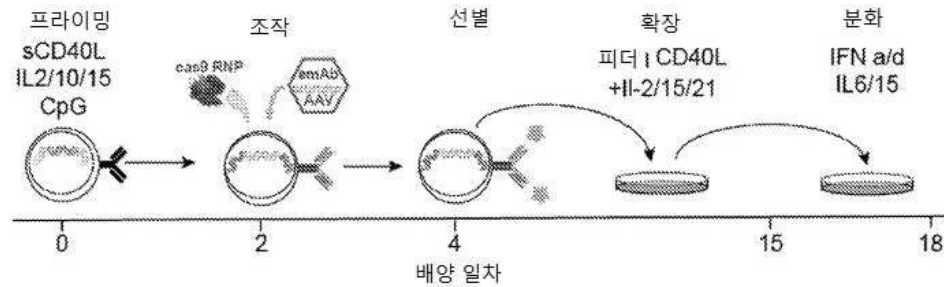
도면26c



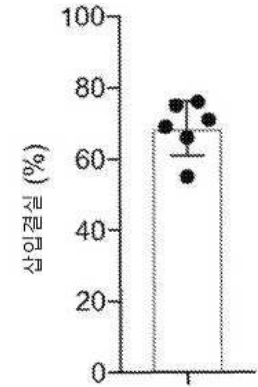
도면26d



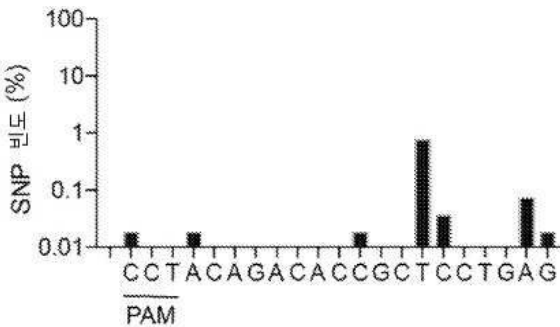
도면27a



도면27b

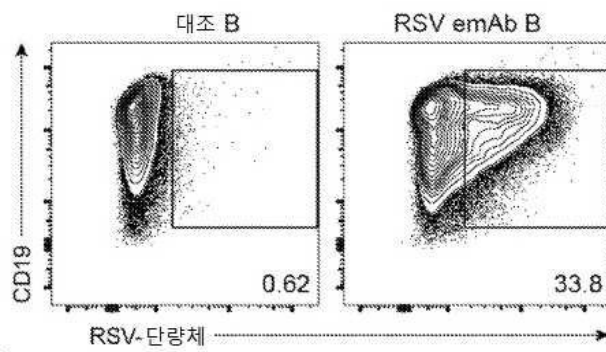


도면27c

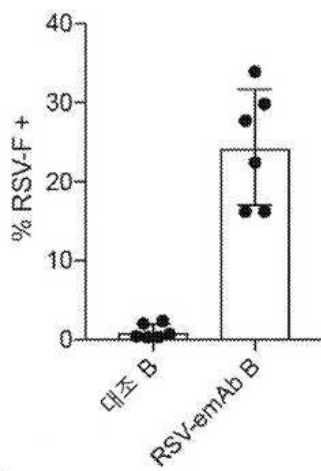




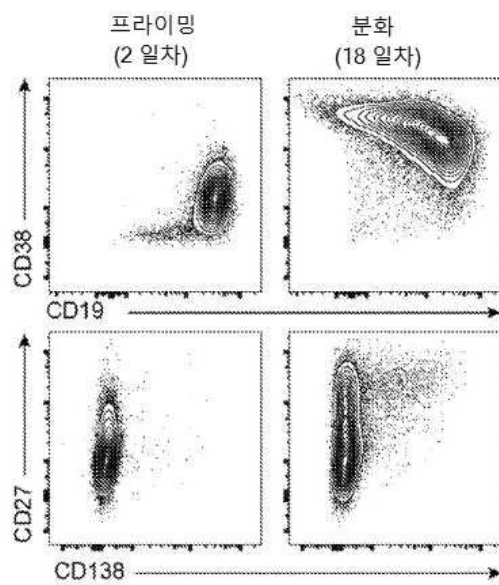
도면27d



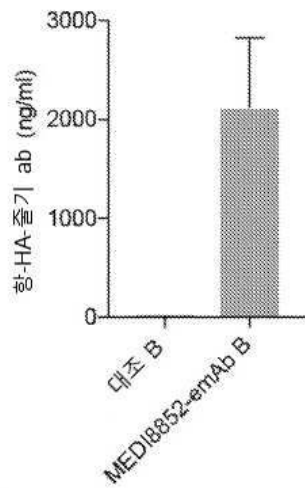
도면27e



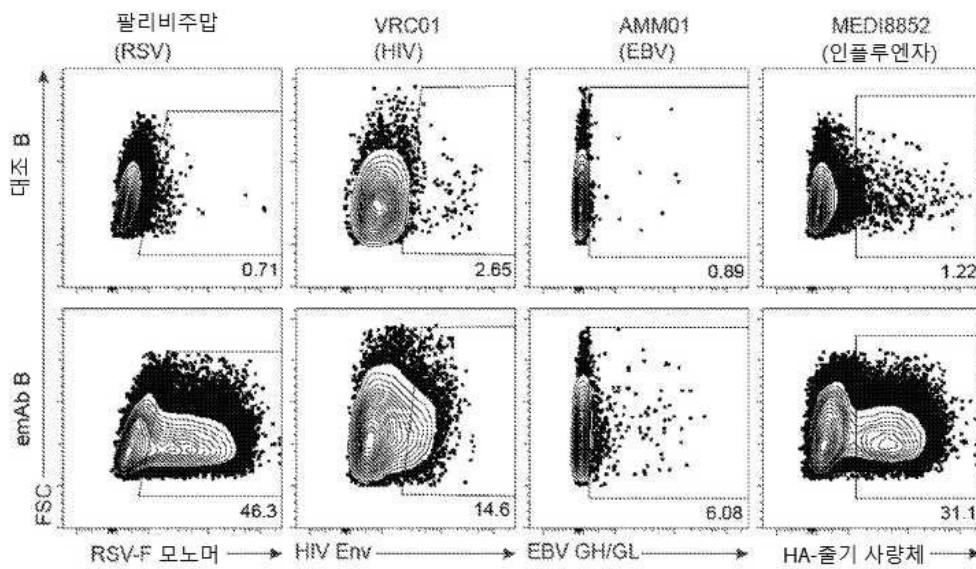
도면27f



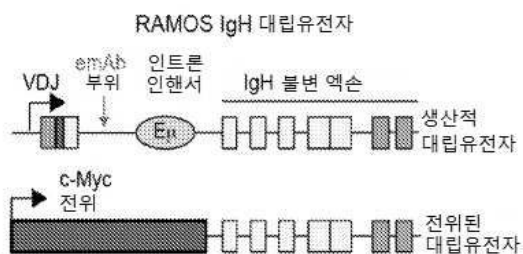
도면27g



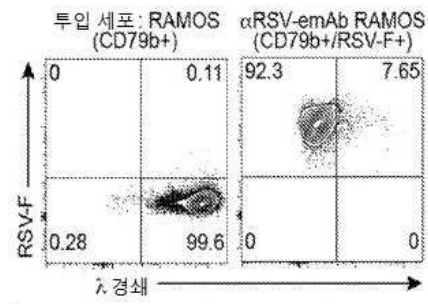
도면28



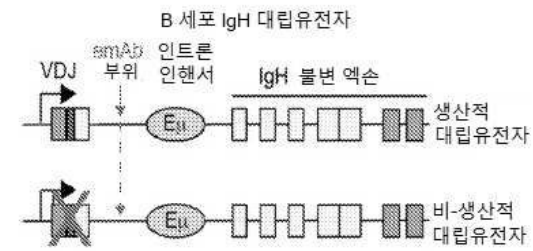
도면29a



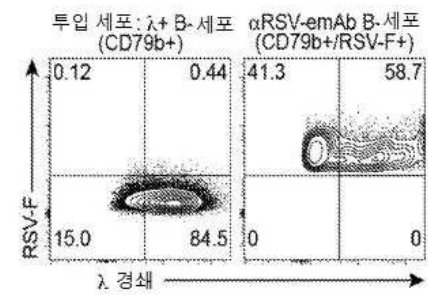
도면29b



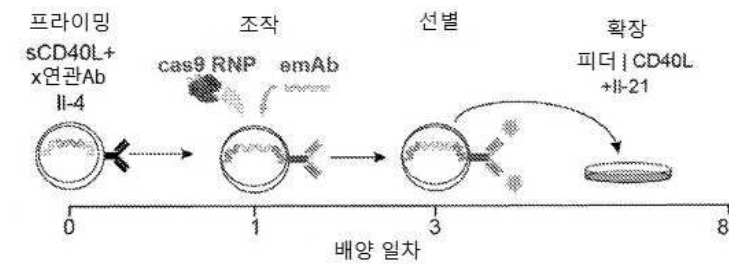
도면29c



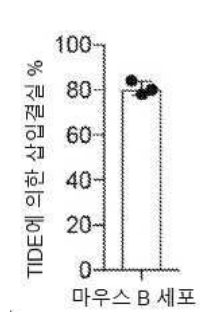
도면29d



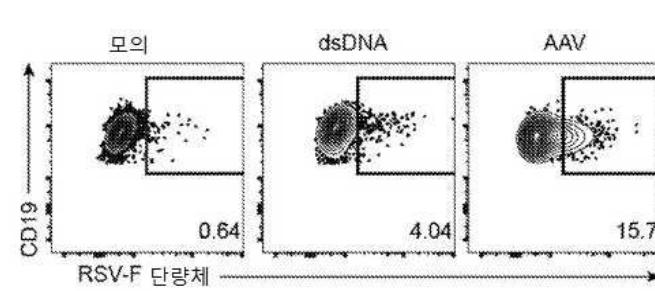
도면30a



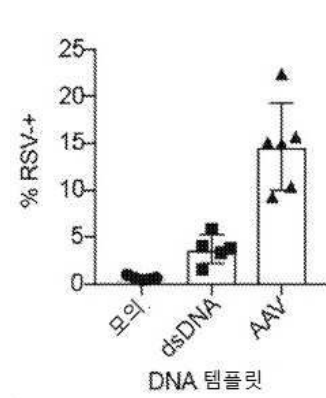
도면30b



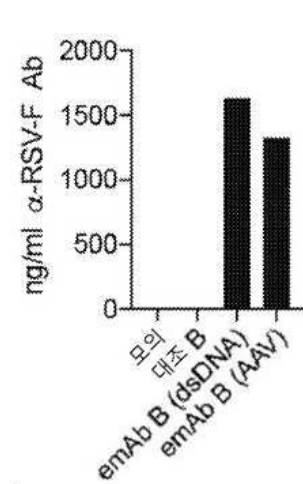
도면30c



도면30d

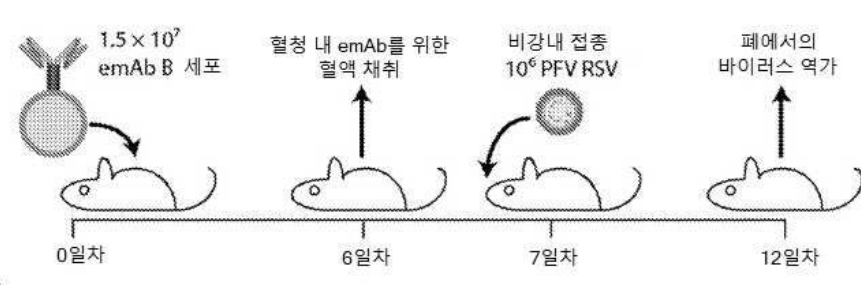


도면30e

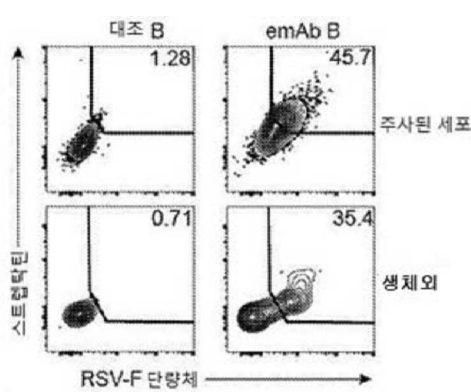




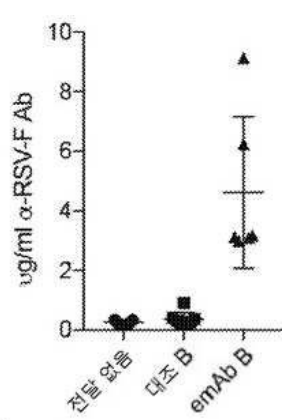
도면31a



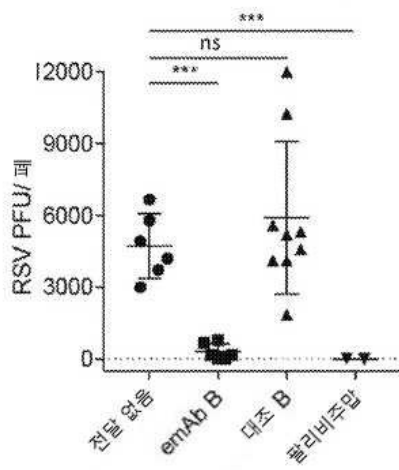
도면31b



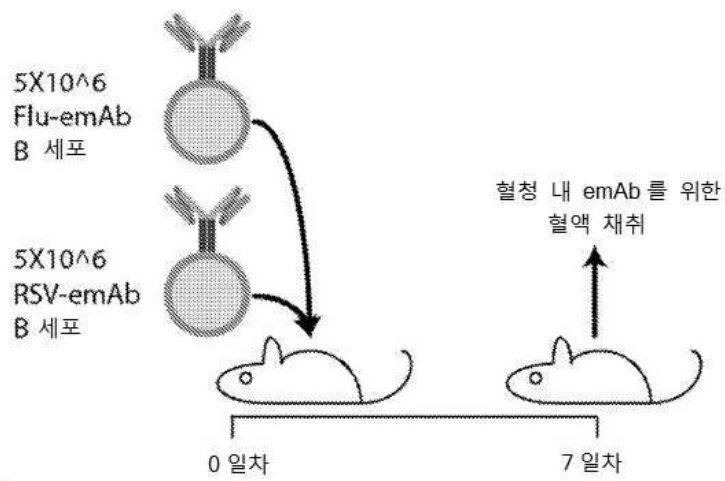
도면31c



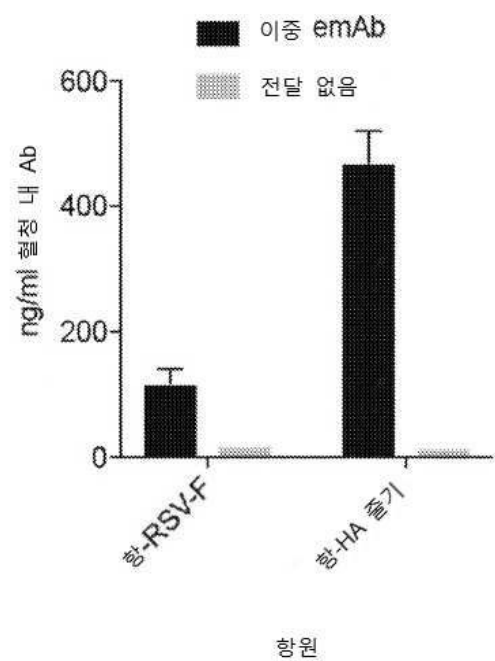
도면31d



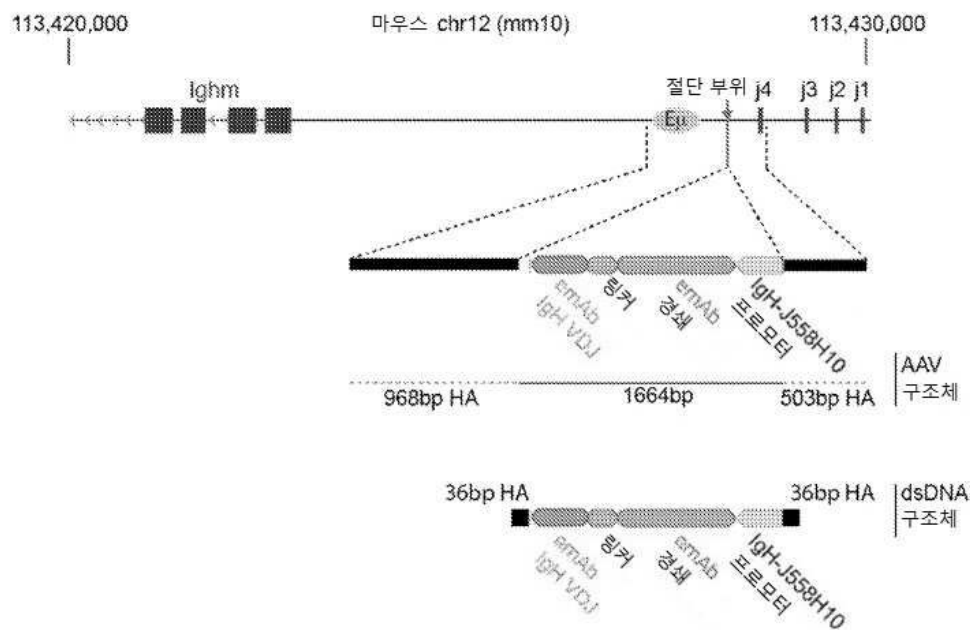
도면32a



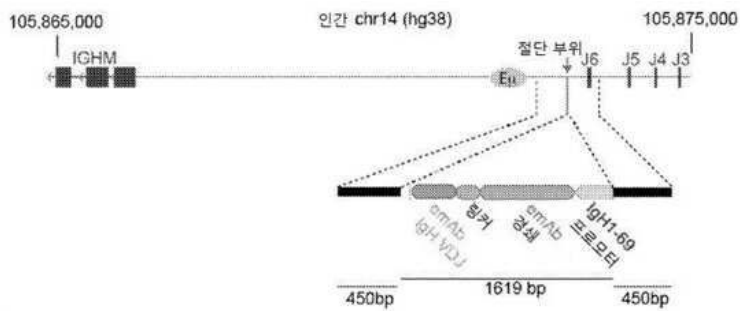
도면32b



도면33a



도면33b



# 서열 목록

## SEQUENCE LISTING

<110> FRED HUTCHINSON CANCER RESEARCH CENTER

<120> SYSTEMS AND METHODS TO PRODUCE B CELLS GENETICALLY MODIFIED TO  
EXPRESS SELECTED ANTIBODIES

<130> F053-0072PCT/18-024-WO-PCT

<150> 62/575,275

<151> 2017-10-20

<150> 62/580,303

<151> 2017-11-01

<150> 62/623,371

<151> 2018-01-29

<160> 366

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 722

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

ctacatggac gtctggggca aagggaccac ggtcacgcgc tcctcaggta agaatggcca 60

ctctagggcc ttgtttttct gctactgcct gtgggggtttc ctgagcattg caggttggtc 120

ctcggggcat gtccgaggg gacctgggcg gactggccag gaggggatgg gcactggggt 180

gccttagga tctgggagcc tctgtggatt ttccgatgcc ttggaaaat gggactcagg 240

ttgggtgcgt ctgatggagt aactgagcct gggggcttgg ggagccacat ttggacgaga 300

tgctgaaca aaccaggggt cttagtgatg gctgaggaat gtgtctcagg agcggtgtct 360

gtaggactgc aagatcgctg cacagcagcg aatcgtgaaa tttttcttt agaattatga 420

ggtgcgctgt gtgtcaacct gcactttaa ttctttattg gctggaaaga gaactgtcgg 480

agtgggtgaa tccagccagg agggacgcgt agccccggtc ttgatgagag cagggttggg 540

ggcaggggta gccagaaac ggtggctgcc gtccctgacag gggcttaggg aggtccagg 600

acctcagtgc cttgaagctg gtttccatga gaaaaggatt gtttatctta ggaggcatgc 660

ttactgttaa aagacaggat atgtttgaag tggcttctga gaaaaatggt taagaaaatt 720

at 722



<210> 2

<211> 1308

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 2

ctcacttttag gataagtttt aggtaaaatg tgcattcatta tctgaatta tticagttaa 60

gcatgttagt tggtaggcata agagaaaact caatcagata gtgctgaaga caggactgtg 120

gagacacctt agaaggacag attctgttcc gaatcacga tgcggcgtca gcaggactgg 180

cctagcggag gctctgggag ggtggctgcc aggcccgcc tgggctttgg gtctccccgg 240

actaccaga gctgggatgc gtggcttctg ctgccgggcc gactggctgc tcaggcccca 300

gcccttgta atggacttg aggaatgatt ccatgccaaa gctttgcaag gctcgcagtg 360

accaggcgcc cgacatgta agagacaggc agccgcgct gctgcatttg ctctcttaa 420

aactttgtat ttgacgtctt atttccacta gaaggggaac tggctttaat tgcttgatga 480

agagcaggag actcatttat gtgagtcttt tgagtacca ttgtctgggt cactccatt 540

taactttccc taaagcccat ttgaaggaga ggtcgacga gctgctccac aacctctgaa 600

tggggatggc atgggtaatg atgcttgaga acataccaag cccactggc atcgcccttg 660

tctaagtcat tgactgtagg tcatcatgc acccttgaag gtagccatg ccttccaaag 720

cgatttatgg taaatggcag aattttaagt ggcaaattca gataaaatgc atttcttggt 780

tgtttccaat gatgactgtt atctagaggg aatttaaagg caggggttta ctgcagactc 840

agaagggagg ggatgctccg ggaagggtga ggctctgagc atcacaatc cctcctcttg 900

gtgcagaaga tatgctgcca cttctagagc aaggggacct gctcattttt atcacagcac 960

aggctcctaa attcttggtc tcattctcaa gatgttttaa tgactttaaa gcagcaaaga 1020

aatattccac ccaggtagtg gaggttggtat atgattggtat atgctttgga accaaaaccc 1080

aggtggcgct ggggcaggac tgcagggaac tggggtatca agtagaggga gacaaaagat 1140

ggaagccagc ctggctgtgc aggaacccgg caatgagatg gctttagctg agacaagcag 1200

gtctggtggg ctgaccattt ctggccatga caactccatc cagctttcag aaatggactc 1260

agatgggcaa aactgaccta agctgaccta gactaaacaa ggctgaac 1308

<210> 3

<211> 582

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 3

ggactactgg ggtcaaggaa cctcagtcac cgtctcctca ggtaagaatg gcctctccag	60
gtctttatatt ttaacctttg ttaatggagt tcttgagcat tgcagactaa tcttggatat	120
ttgtccctga gggagccggc tgagagaagt tgggaaataa actgtctagg gatctcagag	180
cctttaggac agattatctc cacatctttg aaaaactaag aatctgtgtg atgggtttgg	240
tggagtcctt ggatgatggg atagggactt tggaggctca tttgaagaag atgctaaaac	300
aatcctatgg ctggagggat agttggggct gtagttggag attttcagtt tttagaataa	360
aagtattagt tgtggaatat acttcaggac cacctctgtg acagcattta tacagtatcc	420
gatgcatagg gacaaagagt ggagtggggc actttcttta gatttgtgag gaatgttccg	480
cactagattg tttaaaactt catttgttgg aaggagagct gtcttagtga ttgagtcaag	540
ggagaaaggc atctagcctc ggtctcaaaa gggtagtgtc tg	582

<210> 4

<211> 1528

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 4

ttatttcagt tgaacatgct ggttgggtgt tgagaggaca ctcagtcagt cagtgcagtg	60
aagggtctct aagccagtc accatgctctg tgtgaactcc ctcggccct gcttattgtt	120
gaatgggcca aaggtctgag accaggtgc tgctgggtag gcctggactt tgggtctccc	180
accagacct gggaatgat ggttgtggct tctgccacc atccacctgg ctgctcatgg	240
accagccagc ctgggtggtt ttgaaggaa aattccacac aaagactctg gacctctccg	300
aaaccaggca ccgcaaatgg taagccagag gcagccacag ctgtggctgc tgctcttaaa	360
gcttgtaaac tgtttctgct taagaggagc tgagtcttca gtcattgctt tagggggaga	420
aagagacatt tgtgtgtctt ttgagtaccg ttgtctgggt cactcacatt taactttcct	480
tgaaaaacta gtaaaagaaa aatgttgctt gttaaccaat aatcatagag ctcattgtac	540
tttgaggaaa tcttagaaa cgtgtataca attgtctgga attatttcag ttaagtgtat	600
tagtttaggt actgatgctg tctctacttc agttatacat gtgggtttga attttgaatc	660
tattctggct ctcttaagc agaaaattta gataaatgg atacctcagt ggtttttaat	720
ggtgggttta atatagaagg aatttaaat ggaagctaatt ttagaatcag taaggaggga	780
cccaggctaa gaaggcaatc ctgggattct ggaagaaaag atgtttttag tttttataga	840
aaacactact acattcttga tctacaactc aatgtgggtt aatgaatttg aagttgccag	900

taaagtact tcctggttgt taaagaatgg tatcaaagga cagtgccttag atccgaggtg 960

agtgtgagag gacaggggct ggggtatgga tacgcagaag gaaggccaca gctgtacaga 1020

attgagaaag aatagagacc tgcagttgag gccagcaggt cggtctgact aactctccag 1080

ccacagtaat gaccagaca gagaaagcca gactcataaa gcttgctgag caaaattaag 1140

ggaacaaggt tgagagccct agtaagcgag gctctaaaaa gcacagctga gctgagatgg 1200

gtgggcttct ctgagtgtt ctaaaatgcg ctaaactgag gtgattactc tgaggtaagc 1260

aaagctgggc ttgagccaaa atgaagtaga ctgtaatgaa ctggaatgag ctgggccgct 1320

aagctaaact aggctggctt aaccgagatg agccaaactg gaatgaactt cattaatcta 1380

ggttgaatag agctaaactc tactgcctac actggactgt tctgagctga gatgagctgg 1440

ggtgagctca gctatgctac gctgtgttgg ggtgagctga tctgaaatga gatactctgg 1500

agtagctgag atggggtgag atgggggtg 1528

<210> 5

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 5

ggtcctcggg gcatgttccg agg 23

<210> 6

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

gggcatgttc cgaggggacc tgg 23

<210> 7

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 7

gcattgcagg ttggtcctcg ggg 23

<210> 8

<211> 23

<212> DNA

<213> Homo sapiens  
 <400> 8  
 tcctcggggc atgttccgag ggg 23  
 <210> 9  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 9  
 ggcatgttcc gaggggacct ggg 23  
 <210> 10  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 10  
 gtctcaggag cggtgtctgt agg 23  
  
 <210> 11  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 11  
 agcattgcag gttggtcctc ggg 23  
 <210> 12  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 12  
 cctgggcgga ctggccagga ggg 23  
 <210> 13  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 13  
 actggggtgc cttgaggatc tgg 23  
 <210> 14



<211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 14  
  
 cccagtgcc catccccctcc tgg 23  
 <210> 15  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 15  
 ctaagacccc tggtttgctc agg 23  
 <210> 16  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 16  
 tgtggatttt ccgatgcctt tgg 23  
 <210> 17  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 17  
 aggaccaacc tgcaatgctc agg 23  
  
 <210> 18  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 18  
 ctcaggttgg gtgcgtctga tgg 23  
 <210> 19  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens

<400> 19	
ccctcctggc cagtcgccc agg	23
<210> 20	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 20	
ggccaggagg ggatgggcac tgg	23
<210> 21	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 21	
gagatgcctg aacaaccag ggg	23
<210> 22	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 22	
aggggtctta gtgatgctg agg	23
<210> 23	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 23	
atgggcactg gggtccttg agg	23
<210> 24	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 24	
ttccgatgcc ttggaaaat ggg	23
<210> 25	

<211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 25  
 ctgacgccgc atcggtgatt cgg 23  
 <210> 26  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 26  
 ttagacaagg gcgatgccag tgg 23  
 <210> 27  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 27  
 cgtgcgacct ctccttcaaa tgg 23  
 <210> 28  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 28  
  
 agcatatctt ctgcaccaag agg 23  
 <210> 29  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 29  
 atattccacc caggtagtgg agg 23  
 <210> 30  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 30

gtgcgacctc tccttcaaat ggg	23
<210> 31	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 31	
aggtccctt gcctagaag tgg	23
<210> 32	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 32	
ctctagataa cagtcacat tgg	23
<210> 33	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 33	
ttgtctaagt cattgactgt agg	23
<210> 34	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 34	
ccaaagcgat ttatggtaaa tgg	23
<210> 35	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 35	
tccttttgagt gaccattgtc tgg	23
<210> 36	
<211> 23	



<212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 36  
 ccatttacca taaatcgctt tgg 23  
 <210> 37  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 37  
 agggcgatgc cagtggggct tgg 23  
 <210> 38  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 38  
 agctaaagcc atctcattgc cgg 23  
  
 <210> 39  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 39  
 ccacaacctc tgaatgggga tgg 23  
 <210> 40  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 40  
 ttaattgctt gatgaagagc agg 23  
 <210> 41  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo sapiens  
 <400> 41  
 tagacaaggg cgatgccagt ggg 23

<210>	42	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Homo sapiens	
<400>	42	
aagctgacct agactaaaca agg		23
<210>	43	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Homo sapiens	
<400>	43	
gcaggaaccc ggcaatgaga tgg		23
<210>	44	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Homo sapiens	
<400>	44	
tctgttccga atcacgatg cgg		23
<210>	45	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Mus musculus	
<400>	45	
caactaccct ttgagaccg agg		23
<210>	46	
<211>	23	
<212>	DNA	
<213>	Mus musculus	
<400>	46	
ttatacagta tccgatgcat agg		23
<210>	47	
<211>	23	
<212>	DNA	

<213> Mus musculus  
 <400> 47  
 tatacagtat ccgatgcata ggg 23  
 <210> 48  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 48  
 catctagcct cggctcctcaa agg 23  
 <210> 49  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 49  
  
 cactctttgt ccctatgcat cgg 23  
 <210> 50  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 50  
 atctagcctc ggctcctcaaaa ggg 23  
 <210> 51  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 51  
 aagttttaa caatctagtg cgg 23  
 <210> 52  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 52  
 aagatgctaa aacaatccta tgg 23

<210> 53  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 53  
 tgctaaaaca atcctatggc tgg 23  
 <210> 54  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 54  
 aagtcctat cccatcatcc agg 23  
 <210> 55  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 55  
 gggagaaagg catctagcct cgg 23  
 <210> 56  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 56  
 tgagcattgc agactaatct tgg 23  
 <210> 57  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 57  
 ttagttgtgg aatatacttc agg 23  
 <210> 58  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus

<400> 58  
 tggaggagtc cctggatgat ggg 23  
 <210> 59  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 59  
 gtggagataa tctgtcctaa agg 23  
 <210> 60  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 60  
 agtcctatc ccatcatcca ggg 23  
 <210> 61  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 61  
 atcttggata tttgtccctg agg 23  
 <210> 62  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 62  
 gggatagttg gggctgtagt tgg 23  
 <210> 63  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 63  
 caggtaagaa tggcctctcc agg 23  
 <210> 64



<211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 64  
 tctctcagcc ggctccctca ggg 23  
 <210> 65  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 65  
 ccgaaaccag gcaccgcaaa tgg 23  
 <210> 66  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 66  
 caccgcaaat ggtaagccag agg 23  
  
 <210> 67  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 67  
 ggcttaccat ttgcggtgcc tgg 23  
 <210> 68  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 68  
 tgcggtgcct ggtttcggag agg 23  
 <210> 69  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 69

cagctatgct acgctgtgtt ggg	23
<210> 70	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Mus musculus	
<400> 70	
aaggacagtg cttagatccg agg	23
<210> 71	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Mus musculus	
<400> 71	
tcagtcagtc agtgacgtga agg	23
<210> 72	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Mus musculus	
<400> 72	
catgctggtt ggtggttgag agg	23
<210> 73	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Mus musculus	
<400> 73	
tcttttgagt accgttgtct ggg	23
<210> 74	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Mus musculus	
<400> 74	
tggcccatte aacaataagc agg	23
<210> 75	
<211> 23	

<212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 75  
 ctgggccgct aagctaaact agg 23  
 <210> 76  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 76  
 gccagcctag tttagcttag cgg 23  
 <210> 77  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 77  
  
 tgaagtagac tgtaatgaac tgg 23  
 <210> 78  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 78  
 gacctgggaa tgtatggttg tgg 23  
 <210> 79  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 79  
 ggtatggata cgcagaagga agg 23  
 <210> 80  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 80

gttgagagcc ctagtaagcg agg	23
<210> 81	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Mus musculus	
<400> 81	
gccgctaagc taaactaggc tgg	23
<210> 82	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Mus musculus	
<400> 82	
tcagctatgc tacgctgtgt tgg	23
<210> 83	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Mus musculus	
<400> 83	
ttttagagcc tcgcttacta ggg	23
<210> 84	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> Mus musculus	
<400> 84	
ctctatgatt attggttaac agg	23
<210> 85	
<211> 834	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 85	
gtagttgaaa agtggctcttg aaaaatacta aaatgaagcg cactctatca gaatatcaaa	60
gtgtttctcc ttaatcacia agagaaaacg agttaaccta aaaagattgt gaacacagtc	120
attatgaaaa taatgctctg aggtatcgaa aaagtatttg agattaatta tcacatgaag	180

ggataacaag ctaattttaa aaactttttg aatacagtca taaactctcc ctaagactgt 240  
 ttaatttctt aaacatctta ctttaaaaat gaatgcagtt tagaagttga tatgctgttt 300  
  
 gcacaaacta gcagttgata agctaagatt ggaaatgaaa ttcagatagt taaaaaaagc 360  
 cttttcagtt tcggtcagcc tcgccttatt ttagaaacgc aaattgtcca ggtgttgttt 420  
 tgctcagtag agcactttca gatctgggcc tgggcaaaac cacctcttca caaccagaag 480  
 tgataaattt accaattgtg tttttttgct tcctaaaata gactctcgcg gtgacctgct 540  
 tcctgccacc tgctgtgggt gccggagacc cccatgcagc catcttgact ctaattcatc 600  
 atctgcttcc agcttcgctc aattaattaa aaaaataaac ttgatttatg atggtcaaaa 660  
 cgcagtcctc catcggggcc gacagcactg tgctagtatt tcttagctga gcttgctttg 720  
  
 gcctcaattc cagacacata tcactcatgg gtgttaatca aatgataaga atttcaaata 780  
 ctgggacagt taaaaaaatt aatatacttg aaaatctctc acatttttaa gtca 834  
  
 <210> 86  
 <211> 1002  
 <212> DNA  
 <213> Mus musculus  
 <400> 86  
 agtctagata attgcattca tttaaaaaaa aagtctttct cctaaaatga atactcagaa 60  
 agtggctctg aaaaagattt gtgaagccgt ttgaccaga atgtcaaagt cttaatagta 120  
 aggcaaaaca aacaactaaa aaagatcatg aacaaagtca ctgtaaatgc ttcgggtatt 180  
 ggaaaagaat tgaatggaga ccaataatca gagggaagaa taatagagta attttaagaa 240  
  
 gttttctaaa tatattagaa attaaagaca ctaaagtcct tcaatttctt acataaccta 300  
 attttgaaaa tgaattctaa atacatttta gaagtcgata aacttaagtt tggggaaact 360  
 agaactactc aagctaaaat taaaagggtg aactcaataa gttaaaagag gacctctcca 420  
 gtttcggctg aatcctcaac ttattttaga aatgcaaatt acccaggtgg tgttttgctc 480  
 agcctggact ttcggtttgg tggggctgga cagagtgttt caaaaccact tcttcaaacc 540  
 acagctacaa gtttacctag tggttttatt ttcccttccc caaatagcct tgccacatga 600  
 cctgcttctt gccagctgct gcaggtgttc tggttctgat cggccatctt gactccaact 660  
  
 caacattgct caattcattt aaaaatattt gaaacttaat ttattattgt taaaagtcag 720  
 ttctgaatag gttatgagag agcctcactc ccattcctcg gttaaacctt aagtaatac 780  
 agttctacac aaacaagacc tcaaacgat tgacaagaat ttggacatt taaaaaatg 840  
 agtacttgaa aaccctctca cattttaag tcacagtatt taactatttt tcctaggaac 900



caacttaaga gtaaaagcaa catcttctaa tattccatac acatacttct gtgttccttt 960  
gaaagctgga cttttgcagg ctccaccaga cctctctaga ca 1002  
<210> 87  
<211> 20  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence

<220><223> mouse sgRNA-mIgH\_3 from FIG. 25A  
<400> 87  
uuauacagua uccgaugcau 20  
<210> 88  
<211> 20  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence

<220><223> human sgRNA-hIgH-6 from FIG. 25A  
<400> 88  
gcuaugcagg ugguccucg 20  
<210> 89  
<211> 20  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence

<220><223> human sgRNA-hIgH-7 from FIG. 25A  
<400> 89  
gucucaggag cggugucugu 20  
<210> 90  
<211> 36  
<212> DNA  
<213> Mus musculus  
<400> 90  
catcggatac tgtataaatg ctgtcacaga ggtggt 36  
<210> 91  
<211> 36  
<212> DNA  
<213> Mus musculus

<400> 91  
catagggaca aagagtggag tggggcactt tcttta 36

<210> 92  
<211> 36  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 92  
gacaccgtc ctgagacaca ttctcagcc atcact 36

<210> 93  
<211> 36  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 93

tgtaggactg caagatcgct gcacagcagc gaatcg 36

<210> 94  
<211> 37  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 94  
gggaccaacc tgcaatgctc aggaaacccc acaggca 37

<210> 95  
<211> 37  
<212> DNA  
<213> Homo sapiens

<400> 95  
ttcggggcat gtccgaggg gacctgggcg gactggc 37

<210> 96  
<211> 127  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220><223> upstream splicing oligonucleotide for mouse sgRNA-mIgh\_3

<400>  
> 96  
cttcgagaca tgtacagacc atttagatgt agtatcaaag cctaatatct caatcttaaa 60

atagaatcct aacctgagac actcacttgt ccatcgata ctgtataaat gctgtcacag 120  
 aggtggt 127  
 <210> 97  
 <211> 86  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> downstream splicing oligonucleotide for mouse sgRNA-mIgH\_3  
 <400> 97  
 cttctcccat tctaaatgca tggtgggggg attctgggcc ttcaggacca catagggaca 60  
 aagagtggag tggggcactt tcttta 86  
 <210> 98  
 <211> 127  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> upstream splicing oligonucleotide for human sgRNA-hIgH-7  
 <400> 98  
 gtgcacacgc ctcttccgc tgcagaacaa accccaaccc caggatgcac tcctcactgt 60  
 gaaccacat ttattggcc taaagattac ggacaccgct cctgagacac attcctcagc 120  
 catcact 127  
 <210> 99  
 <211> 86  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> downstream splicing oligonucleotide for human sgRNA-hIgH-7  
 <400> 99  
 gtctggggat agcggggagc cagggtgact gggccaggca agggctttgg tgtaggactg 60  
 caagatcgct gcacagcagc gaatcg 86  
 <210> 100  
 <211> 128  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> upstream splicing oligonucleotide for human sgRNA-hIgH-6  
 <400> 100

gtgcacagcg ctcttccgc tgcagaacaa accccaaccc caggatgcac tcctcactgt 60  
gaaccacat tttattggcc taaagattac ggggaccaac ctgcaatgct caggaaaccc 120  
cacaggca 128

<210> 101

<211> 87

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> downstream splicing oligonucleotide for human sgRNA-hIGH-6

<400> 101

gtctggggat agcggggagc cagggtgtact gggccaggca agggcttttg ttcggggcat 60  
gttccgaggg gacctgggcg gactggc 87

<210> 102

<211> 2531

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> human anti-RSV-emAb AAV

<400> 102

tgtgacgcc ggagacagaa ggtctctggg tggctgggtt tttgtgggt gaggatggac 60  
attctgcat tgtgattact actactacta ctacatggac gtctggggca aaggaccac 120

ggtcacgcgc tcctcaggta agaatggcca ctctagggcc tttgttttct gctactgcct 180  
gtggggtttc ctgagcattg cagggtgggc ctcggggcat gttccgaggg gacctgggcg 240  
gactggccag gaggggatgg gcactggggt gccttgagga tctgggagcc tctgtggatt 300  
ttccgatgcc ttggaaaaat gggactcagg ttgggtgcgt ctgatggagt aactgagcct 360  
gggggcttgg ggagccacat ttggacgaga tgctgaaca aaccaggggt cttagtatg 420  
gctgaggaat gtgtctcagg agcgtgtct gatcgtaac tttaggccaa taaaatgtgg 480  
gttcacagtg aggagtgcac cctgggggttg gggtttgttc tgcagcggga agagcgtgt 540

gcacagaaag cttagaaatg gggcaagaga tgcttttct caggcaggat ttagggcttg 600  
gtctctcagc atccacact tgtacagctg atgtggcatc tgtgttttct ttctcatcct 660  
agatcaggct ttgagctgtg aaataccctg cctcatgcat atgcaaataa cctgaggtct 720  
tctgagataa atatagatat attggtgccc tgaggtttaa acgccccac catggctacc 780  
ggcagcagaa caagcctgct gctcgtttt ggactgtct gtctcccctg gttgcaagaa 840  
ggcagcgccg acatccagat gacacagagc cctagcacac tgtctgccag cgtgggcgac 900

agagtgacca tcacatgcaa gtgccagctg agcgtgggct acatgcactg gtatcagcaa 960

aagcccgga aggcccta gctgctgac tacgatacct ccaagctggc ctctggcgtg 1020

ccctccagat tttctggcag cggcagcggg accgagttca ccctgacat ctcaagcctg 1080

cagcctgacg acttcgctac gtactactgc ttccaaggca gcggctaccc cttcacattt 1140

ggcggcgga caaagctgga aatcaagcgg actgtggcgg ctcttagcgt gttcatcttt 1200

ccacctagcg acgagcagct gaagtctggc actgcctctg tcgtgtgcct gctgaacaac 1260

ttctaccctc gagaggccaa ggtgcagtgg aaagtggaca atgccctgca gagcggcaac 1320

agccaagagt ctgtgaccga gcaggactcc aaggattcca cctacagcct gtctagcacc 1380

ctgactctga gcaaggccga ctacgagaag cacaaggtgt acgcctgcga agtgacacac 1440

cagggactga gcagccctgt gaccaagagc ttcaatcggg gcgagtgcgg aggaagtagt 1500

ggcagcggga gtgggtccaa ttggagtcac cctcaatttg agaaaggagg gggagggtcc 1560

aattggtctc atccgcagtt tgagaagggc ggcgcgggct ccaattgttc ccatccccag 1620

tttgaaaaag gctctggtgg aggtggtagt gctggtgggc aagtaccct gagagagtct 1680

ggacctgctc tggtaagcc cacacagacc ctgacctga cctgcacctt cagcggcttt 1740

agcctgagca caagcgcat gagcgtcggc tggattagac agcctcctgg caaagccctg 1800

gaatggctgg ccgacatttg gtgggacgac aagaaggact acaaccccag cctgaagtc 1860

cggctgacca tcagcaagga caccagcaag aaccaggtgg tgctgaaagt gaccaacatg 1920

gacctgccg acaccgccac ctactactgt gccagatcca tgatcacaa ctggtacttc 1980

gacgtgtggg gagccggcac cacaaccgtc tcttcaggta agtctgctgt ctggggatag 2040

cggggagcca ggtgtactgg gccaggcaag ggctttggat cgtaggactg caagatcgct 2100

gcacagcagc gaatcgtgaa atattttctt tagaattatg aggtgcgctg tgtgtcaacc 2160

tgcatcttaa attctttatt ggctggaaag agaactgtcg gagtgggtga atccagccag 2220

gagggacgcg tagccccggt cttgatgaga gcagggttgg gggcaggggt agcccagaaa 2280

cgggtgctgc cgtcctgaca ggggcttagg gaggtccag gacctcagt ccttgaagct 2340

ggtttccatg agaaaaggat tgtttatctt aggaggcatg cttactgtta aaagacagga 2400

tatgtttgaa gtggcttctg agaaaaatgg ttaagaaaat tatgacttaa aaatgtgaga 2460

gattttcaag tatattaatt tttttaactg tccaagtatt tgaaattctt atcatttgat 2520

taacacccat g 2531

<210> 103

<211> 3134

<212> DNA



<213> Artificial Sequence

<220><223> mouse anti-RSV emAb AAV

<400> 103

ccaggggtga ttctagtcag actctggggt tttgtcggg tataaggaa aaatccacta	60
ttgtgattac tatgctatgg actactgggg tcaaggaacc tcagtcaccg tctcctcagg	120
taagaatggc ctctccaggc ctttatTTTT aacctttgtt atggagtttt ctgagcattg	180
cagactaatc ttggatatTT gtccttgagg gagccggctg agagaagttg ggaaataaac	240
tgtctaggga tctcagagcc tttaggacag attatctcca catctttgaa aaactaagaa	300
tctgtgtgat gggtttggtg gagtcctgg atgatgggat agggactttg gaggcicatt	360
tgaggggat gctaaaacaa tcctatggct ggagggatag ttggggctgt agttgggat	420
tttcagtttt tagaataaaa gtattagttg tggaatatac ttcaggacca cctctgtgac	480
agcatttata caglatccga tggatgacaa gtgagtgtct caggttagga ttctatttta	540
agattgagat attaggcttt gatactacat ctaaatggtc tgtacatgtc tcgaagaaag	600
ttcttcagac agagttagga cttggatcca ggagttagga cttggactga ctcaggagga	660
ctctagtttc ttcttctcca gctggaatgt ccttatgtaa gaaaagcctt gcctcatgag	720
tatgcaaadc atgtgcgact gtgatgatta atatagggat atccacacca aacatcatat	780
gagccctatc ttctctacag acactgaatc tcaaggctct tacaatggaa accgacacac	840
tgctgtctgt gggtgtgtt ctttgggtgc ccggaagcac aggcgacatc cagctgacac	900
agagccctgc catcatgtct gctagccctg gcgagaaagt gacaatgacc tgttcgcga	960
gcagctccgt gggctacatg cactggtatc agcagaagtc tagcacaagc cccaagctgt	1020
ggatctacga cacctcaag ctggcctctg gcgtgccagg cagattttct ggaagcggca	1080
gcggcaacag ctacagcctg actatcagct ccatccaggc cgaggatgtg gctacctact	1140
actgcttcag aggcagcggc tacccttca catttgcca gggcaccaag ctggaaatca	1200
aggccgatgc cgtcctacc gtgtctatct ttccacctag cagcgagcag ctgacatctg	1260
gcggagcctc tgtcgtgtgc ttctgaaca acttctaccc taaggacatc aacgtcaagt	1320
ggaagatcga cggctccgag agacagaacg gcgtgctgaa ctcttgacc gaccaggaca	1380
gcaaggatag cacctacagc atgagcagca ctctgacct gacaaaggac gactacgaga	1440
ggcacaactc ctacacatgc gaggccacac acaagaccag cacatccca atcgtgaagt	1500
ccttcaaccg gaacgagtgc ggaggaagta gtggcagcgg gactgggtcc aattggagtc	1560

atcctcaatt tgagaaagga gggggagggt ccaattggtc tcatccgcag ttgagaagg 1620

gcggcggcgg ctccaattgg tcccatcccc agtttgaaaa aggcctctgt ggaggtggta 1680

gtgctgggtg gcaggtggaa ctgcaagaaa gcggccctgg catcctgcag ctttctcaga 1740

cactgagcct gacctgtagc ttcagcggct tcagcctgag cacaagcggc atgtctgtcg 1800

gctggatcag acagccttct ggcaaggac tggaatggct ggccgacatt tgggtgggacg 1860

acaagaagga ctacaacccc agcctgaagt ccagactgac catcagcaag gacaccagca 1920

gcaaccaggt gticctgaag atcacggcg tggacacagc cgataccgcc acctattact 1980

gcgccagatc catgatcacc aactgggtact tcgacgtgtg gggcgctggc accacagtga 2040

ccgtctcttc aggtgagtc taacttctcc cattctaaat gcatgttggg gggattctgg 2100

gccttcagga ccacatgta ccaaaagcca taacgatcgg tgggagtatt cattgtgtgc 2160

aagatccata gggacaaaga gtggagtggg gcactttctt tagattttgt agaatgttc 2220

cgcactagat tgtttaaac ttcatgtgtt ggaaggagag ctgtcttagt gattgagtca 2280

agggagaaa gcatctagcc tcggtctcaa aagggtagtt gctgtctaga gaggtctggt 2340

ggagcctgca aaagtcagc tttcaaagga acacagaagt atgtgtatgg aatattagaa 2400

gatgttgctt ttactctta gttggttcct agggaaaaata gttaaatact gtgacttta 2460

aatgtgagag ggttttcaag tactcatttt tttaaatg caaaatttt gtcaatcagt 2520

ttgaggtctt gtttgtgtag aactgatatt acttaagtt taaccgagga atgggagtga 2580

ggctctctca taacctatc agaactgact tttacaata ataaattaag tttaaaatat 2640

ttttaaatga attgagcaat gttgagttgg agtcaagatg gccgatcaga accagaacac 2700

ctgcagcagc tggcaggaag caggcatgt ggcaaggcta tttggggaag ggaaaataaa 2760

accactaggt aaactttag ctgtggtttg aagaagtgtt tttgaaacac tctgtccagc 2820

cccacaaac cgaaagtcca ggctgagcaa aacaccacct gggtaatgtt catttctaaa 2880

ataagttgag gattcagccg aaactggaga ggtcctcttt taacttattg agttcaacct 2940

tttaatttta gctttagtag ttctagtctt cccaaactta agtttatcga cttctaaaat 3000

gtatttagaa ttcatcttca aaattagggt atgtaagaaa ttgaaggact ttagtgtctt 3060

taatttctaa tatatttaga aaacttctta aaattactct attattcttc cctctgatta 3120

ttggtctcca ttca 3134

<210> 104

<211> 1736

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> ms-emAb-RSV-dsDNA

<400> 104

accacctctg tgacagcatt tatacagtat ccgatggatg acaagtgagt gtctcaggtt	60
aggattctat ttttaagattg agatattagg ctttgatact acatctaaat ggtctgtaca	120
tgtctcgaag aaagttcttc agacagagtt aggacttgga tccaggagtt aggacttgga	180
ctgactcagg aggactctag tttcttcttc tccagctgga atgtccttat gtaagaaaag	240
ccttgccctca tgagtatgca aatcatgtgc gactgtgatg attaatatag ggatatccac	300
accaaacatc atatgagccc tatcttctct acagacactg aatctcaagg tccttacaat	360
ggaaaccgac acactgtctg tgtgggtgct gcttctttgg gtgcccggaa gcacaggcga	420
catccagctg acacagagcc ctgccatcat gtctgctagc cctggcgaga aagtgacaat	480
gacctgttcc gccagcagct ccgtgggcta catgcactgg tatcagcaga agtctagcac	540
aagccccaag ctgtggatct acgacacctc caagctggcc tctggcgtgc caggcagatt	600
ttctggaagc ggcagcggca acagctacag cctgactatc agtccatcc aggccgagga	660
tgtggctacc tactactgct tcagaggcag cggctacccc ttcacatttg gccagggcac	720
caagctggaa atcaaggccg atgccgtctc taccgtgtct atctttccac ctagcagcga	780
gcagctgaca tctggcggag cctctgtcgt gtgcttcttg aacaattct accctaagga	840
catcaacgtc aagtggaaga tcgacggctc cgagagacag aacggcgtgc tgaactcttg	900
gaccgaccag gacagcaagg atagcaccta cagcatgagc agcactctga ccctgacaaa	960
ggacgagtac gagaggcaca actcctacac atgcgaggcc acacacaaga ccagcacatc	1020
cccaatcgtg aagtccitca accggaacga gtgcggagga agtagtgga gcgaggagtg	1080
gtccaattgg agtcacctc aatttgagaa aggaggggga gggccaatt ggtctcatcc	1140
gcagtttag aaggcgggcg gcggtccaa ttggtcccat cccagtttg aaaaaggctc	1200
tgggtggaggt ggtagtctg gtgggcaggt ggaactgcaa gaaagcggcc ctggcatcct	1260
gcagccttct cagacactga gcctgacctg tagcttcagc ggcttcagcc tgagcacaag	1320
cggcattgtc gtcggctgga tcagacagcc ttctggcgaa ggactggaat ggctggccga	1380
catttggtgg gacgacaaga aggactacaa cccagcctg aagtccagac tgaccatcag	1440
caaggacacc agcagcaacc aggtgttct gaagatcacc ggctgggaca cagccgatac	1500
cgccacctat tactgcgcca gatccatgat caccaactgg tacttcgacg tgtggggcgc	1560
tggcaccaca gtgaccgtct cctcaggtga gtccctaact ctccattct aaatgcatgt	1620
tggggggatt ctgggccttc aggaccacca tgtacaaaa gccataacga tcggtgggag	1680

tattcattgt ggtaagatc catagggaca aagagtggag tggggcactt tcttta 1736

<210> 105

<211> 2551

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> hu-emAb-VRC01-AAV

<400> 105

tgtgacgcc ggagacagaa ggtctctggg tggctgggtt tttgtgggt gaggatggac 60  
attctccat tgtattact actactacta ctacatggac gtctggggca aaggaccac 120  
ggtcaccgtc tcctcagga agaattggca ctctaggcc tttgtttct gctactgcct 180  
gtggggtttc ctgacattg caggttggtc ctggggcat gttccaggg gacctgggcg 240  
gactggccag gagggatgg gcactgggt gccttgagga tctgggagc tctgtgatt 300  
ttccgatgc tttgaaaat gggactcagg ttgggtgcgt ctgatggagt aactgacct 360

gggggcttgg ggagccacat ttggacgaga tgcctgaaca aaccagggt cttagtgatg 420  
gtcagggaat gtgtctcagg agcgtgtct gatcgtaac tttaggccaa taaaatgtg 480  
gttcacagtg aggagtgcac cctggggttg gggtttgtc tgcagcggga agagcgtgt 540  
gcacagaaag cttagaaatg gggcaagaga tgcctttct caggcaggat ttagggcttg 600  
gtctctcagc atccacact tgtacagtg atgtggcatc tgtgtttct ttctcatct 660  
agatcaggct ttgagctgtg aaataccctg cctcatgcat atgcaataa cctgaggtct 720  
tctgagataa atatatatat attggtgccc tgagagcatc acgccgccac catggctacc 780

ggcagcagaa caagcctgct gctcgtttt ggactgctct gtctcccctg gttgcaagaa 840  
ggcagcgccg aaattgtgtt gacacagtct ccaggcacc tgtctttgtc tccaggggaa 900  
acagccatca tctctgtcg gaccagttag tatggttct tagcctggta tcaacagagg 960  
cccggccagg ccccgaggt cgtcatctat tcgggtctta ctggggccgc tggcatcca 1020  
gacaggttca gcggcagtcg gtgggggcca gactacaatc tcaccatcag caacctggag 1080  
tcgggagatt ttggtgttta ttattgccag cagtatgaat ttttggcca ggggaccaag 1140  
gtccaggtcg acattaagcg cactgtggcc gtcctagcg tgttcatct tccacctagc 1200

gacgagcagc tgaagtctgg cactgcctct gtcgtgtgcc tgcgaacaa cttctacct 1260  
cgagaggcca aggtgcagtg gaaagtggac aatgccctgc agagcggcaa cagccaagag 1320  
tctgtgaccg agcaggactc caaggattcc acctacagcc tgtctagcac cctgactctg 1380  
agcaaggccg actacagaa gcacaagggtg tacgcctgcg aagtacaca ccagggactg 1440

agcagccctg tgaccaagag cttcaatcgg ggcgagtgcg gaggtcaag tggctccggg 1500  
 agtgggagca attggtcaca cccccagttt gaaaaaggcg gtggggggag taactggtct 1560  
 catccgcagt tcgaaaaggg tggaggaggg agcaactgga gtcattccaca atttgagaaa 1620  
  
 ggctcagggtg gtggtggtag cgctggggggg cagggtgcagc tgggtcagtc tgggggtcag 1680  
 atgaagaagc ctggcgagtc gatgagaatt tcttgtcggg cttctggata tgaatttatt 1740  
 gattgtacgc taaattggat tcgtctggcc cccgaaaaa ggcctgagtg gatgggatgg 1800  
 ctgaagcctc gaggtggcgc ggtcaactac gcacgtccac ttcagggcag agtgaccatg 1860  
 actcgagacg tttattccga cacagccttt ttggagctgc gctcgttgac agtagacgac 1920  
 acggccgtct acittttgac taggggaaaa aactgtgatt acaattggga cttcgaacac 1980  
 tggggccggg gcaccccggg catcgtctca tcaggtgagt tggctttcct tctgcctcct 2040  
  
 ttctctgggc ccagcgtcct ctgacctgga gctgggagat aatgtccggg ggctccttat 2100  
 cgtaggactg caagatcgct gcacagcagc gaatcgtgaa atattttctt tagaattatg 2160  
 aggtgcgctg tgtgtcaacc tgcatttaa attctttatt ggctggaaag agaactgtcg 2220  
 gagtgggtga atccagccag gagggacgcg tagccccggg cttgatgaga gcagggttgg 2280  
 gggcaggggg agcccagaaa cgggtggctgc cgtcctgaca ggggcttagg gaggcctcag 2340  
 gacctcagt ccttgaagct ggtttccatg agaaaaggat tgtttatctt aggaggcatg 2400  
 cttactgtta aaagacagga tatgtttgaa gtggcttctg agaaaaatgg ttaagaaaaat 2460  
  
 tatgacttaa aaatgtgaga gattttcaag tatattaatt tttttaactg tccaagtatt 2520  
 tgaaattctt atcatttgat taacacccat g 2551  
  
 <210> 106  
 <211> 2544  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> hu-emAb-Medi8852-AAV  
 <400> 106  
  
 tgtgacgcc ggagacagaa ggtctctggg tggctgggtt tttgtgggt gaggatggac 60  
 attctgcat tgtgattact actactacta ctacatggac gtctggggca aagggaccac 120  
 ggtcaccgtc tcctcaggta agaattggcca ctctagggcc tttgttttct gctactgcct 180  
 gtggggtttc ctgaggcat gttccgaggg gacctgggcg gactggccag gaggggatgg 240  
  
 gcactggggt gccttgagga tctgggagcc tctgtggatt ttcgatgcc tttggaaaat 300  
 gggactcagg ttgggtgcgt ctgatggagt aactgagcct gggggcttgg ggagccacat 360



ttggacgaga tgcctgaaca aaccaggggt cttagtgatg gctgaggaat gtgtctcagg	420
agcgggtgtct gatcgtaatc tttaggccaa taaaatgtgg gttcacagtg aggagtgcac	480
cctgggggttg gggtttgttc tgcagcggga agagcgctgt gcacagaaag cttagaaatg	540
gggcaagaga tgcttttctt caggcaggat ttagggcttg gtctctcagc atcccacact	600
tgtacagctg atgtggcatc tgtgttttct ttctcatcct agatcaggct ttgagctgtg	660
aaataacctg cctcatgcat atgcaataa cctgaggtct tctgagataa atatagatat	720
attggtgccc tgaggccgcc accatggcta ccggcagcag aacaagcctg ctgctcgctt	780
ttggactgct ctgtctcccc tggttgcaag aaggcagcgc cgatattcag atgaccaga	840
gcccttcag cctgtccgct tcagtggggg atcgagtgc cattacctgc cgaaccagcc	900
agagcctgag ctctacacg cactggtatc agcagaagcc cggcaaagcc cctaagctgc	960
tgatctacgc cgcttctagt cgggggtccg gagtgccaaag ccggttctcc ggatctggga	1020
gtggaaccga ctttacctg acaatttcaa gcctgcagcc cgaggatttc gctacatact	1080
actgtcagca gacgagaact ttcgggcagg gcactaaggt ggagatcaa cggactgtgg	1140
ccgtctctag cgtgttcate ttccaccta gcgacgagca gctgaagtct ggcactgcct	1200
ctgtctgtg cctgctgaac aacttctacc ctcgagaggc caaggtgcag tggaaagtgg	1260
acaatgccct gcagagcggc aacagccaag agtctgtgac cgagcaggac tccaaggatt	1320
ccacctacag cctgtctagc accctgactc tgagcaagge cgactacgag aagcacaagg	1380
tgtacgcctg cgaagtgaca caccagggac tgagcagccc tgtgaccaag agcttcaatc	1440
ggggcgagtg cggaggaagt agtggcagcg ggagtgggtc caattggagt catcctcaat	1500
ttgagaaagg agggggaggg tccaattggt ctcatccga gttigagaag ggcggcggcg	1560
gctccaattg gtcccatccc cagtttgaag aaggctctgg tggaggtggt agtgcctgtg	1620
ggcaggtcca gctgcagcag agcggccccg gactggtcaa gccttcacag aactgagcc	1680
tgacatgcgc cattagcgga gatagcgtga gctcctacaa tgccgtgtgg aactggatca	1740
ggcagctctc aagtcgagga ctggagtggc tgggacgaac atactataga tccgggtggt	1800
acaatgacta tgctgaatca gtgaaaagcc gaattactat caaccccgat acctccaaga	1860
atcagttctc tctgcagctg aacagtgtga ccctgagga cacagccgtg tactactgcg	1920
ccagaagcgg ccatatcacc gtctttggcg tcaatgtgga tgctttcgat atgtgggggc	1980
aggggactat ggicaccgtc tcttcaggig agttggcttt ccttctgcct cttttctctg	2040
ggcccagcgt cctctgacct ggagctggga gataatgtcc gggggctcct tatcgtagga	2100
ctgcaagatc gctgcacagc agcgaatcgt gaaatatatt ctttagaatt atgaggtgcg	2160
ctgtgtgtca acctgcatct taaattcttt attggctgga aagagaactg tcggagtggg	2220

tgaatccagc caggaggagc gcgtagcccc ggtcttgatg agagcagggt tgggggcagg 2280  
 ggtagccag aaacggtggc tgccgtcctg acaggggctt agggaggctc caggacctca 2340

gtgccttgaa gctggtttcc atgagaaaag gattgtttat cttaggaggc atgcttactg 2400  
 ttaaaagaca ggatatgttt gaagtggcct ctgagaaaaa tggtaagaa aattatgact 2460  
 taaaaatgtg agagattttc aagtatatta atttttttaa ctgtccaagt atttgaaatt 2520  
 ctatcattt gattaacacc catg 2544

<210> 107  
 <211> 2555  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> hu-emAb-AMM01-AAV  
 <400> 107

tgtgacgcc ggagacagaa ggtctctggg tggtctgggt tttgtgggt gaggatggac 60  
 attctgcca ttgtattact actactacta ctacatggac gtctggggca aagggaccac 120

ggtcaccgtc tcctcagga agaattggcca ctctagggcc tttgttttct gctactgcct 180  
 gtggggtttc ctgagggcag gttccgaggg gacctgggag gactggccag gaggggatgg 240  
 gcactggggt gccttgagga tctgggagcc tctgtggatt ttccgatgcc tttggaaaat 300  
 gggactcagg ttgggtgcgt ctgatggagt aactgagcct gggggcttgg ggagccacat 360  
 ttggacgaga tgcctgaaca aaccaggggt cttagtgtat gctgaggaat gtgtctcagg 420  
 agcgggtgtc gatcgtaatc tttaggcca taaaatgtgg gttcacagtg aggagtgcac 480  
 cctgggggtg gggttttgtc tgcagcggga agagcgctgt gcacagaaag cttagaaatg 540

gggcaagaga tgcttttctt caggcaggat ttagggcttg gtctctcagc atcccacact 600  
 tgtacagctg atgtggcatc tgtgttttct ttctcactc agatcaggct ttgagctgtg 660  
 aaataccctg cctcatgcat atgcaataa cctgaggtct tctgagataa atatagatat 720  
 attggtgccc tgagagcatc acgccgccac catggctacc ggcagcagaa caagcctgct 780  
 gctcgctttt ggactgctct gtctcccttg gttgcaagaa ggcagcgcct cctatgagct 840  
 gactcagcca ccctcagtg cagtggcccc ggggcagagg gccacaatta cctgtggggg 900  
 acacaacatc ggagctaaaa atgtccactg gtaccagcag aagccaggcc aggccctgt 960

cctggtcac caatatgata ggcaccggcc ctgaggatc cctgagcgat tctctggctc 1020  
 caactctggg agcacggcca ccctgacat cagcagggtc gaagccgggg atgaggccga 1080  
 ctattactgt caggtgtggg atagtggctg tgggcatccc ctttatgtct tcggaggtgg 1140

gaccaaggtc accgtcctag gtcagcccaa ggccaacccc actgtcactc tgttcccacc 1200  
ctcgagttag gagcttcaag ccaacaaggc cacactggtg tgtctcataa gtgacttcta 1260  
cccgaggagcc gtgacagtgg cctggaaggc agatagcagc cccgtcaagg cgggagtgga 1320  
gaccaccaca ccctccaaac aaagcaacaa caagtacgcg gccagcagct acctgagcct 1380

gacgcctgag cagtggaaagt cccacagaag ctacagctgc caggtcacgc atgaaggagg 1440  
cacctggag aagacagtgg cccctacaga atgttcagga ggaagtagtg gcagcgggag 1500  
tgggtccaat tggagtcac ctaatttga gaaaggaggg ggagggtcca attggtctca 1560  
tccgcagttt gagaaggcgc gcggcggctc caattggtcc catccccagt ttgaaaaagg 1620  
ctctggtgga ggtggttagt ctggtgggca ggttcagctg gtgcagtctg gagctgatgt 1680  
gaagaagcct ggggcctcag tgaaggtctc ctgcaaggct tctggttaca cttttattca 1740  
ttttggtatc agttgggtgc ggcaggcccc tggacaaggg cttgagtgga tgggatggat 1800

cgacactaat aatggtaaca caaactatgc acagagtctc cagggcagag tcacatgac 1860  
cacagataca tccacgggca cagcctacat ggagctgagg agcctctcga ctgacgacac 1920  
ggccgtgtat ttctgtgcgc gagctctgga aatggggcat agaagtggct tcccatttga 1980  
ctactggggc caggagatcc tggtcaccgt ctccccagggt gagtggctt tccttctgcc 2040  
tcctttctct gggcccagcg tcctctgacc tggagctggg agataatgtc cgggggctcc 2100  
ttatcgtagg actgcaagat cgctgcacag cagcgaatcg tgaaatattt tctttagaat 2160  
tatgaggtgc gctgtgtgtc aacctgcac ttaaattctt tattggctgg aaagagaact 2220

gtcggagtgg gtgaatccag ccaggaggga cgcgtagccc cggctttgat gagagcaggg 2280  
ttgggggcag gggtagccca gaaacgggtg ctgccgtcct gacaggggct tagggaggct 2340  
ccaggacctc agtgccttga agctggtttc catgagaaaa ggattgttta tcttaggagg 2400  
catgcttact gttaaaagac aggatatgtt tgaagtggct tctgagaaaa atggttaaga 2460  
aaattatgac ttaaaaatgt gagagatttt caagtatatt aattttttta actgtccaag 2520  
tatttgaaat tcttatcatt tgattaacac ccatg 2555

<210> 108  
<211> 2261  
<212> DNA  
<213> Artificial Sequence

<220><223> Balb/C mRSV-splice integration  
<400> 108  
ctactggggt caaggaacct cagtcaccgt ctctcagggt aagaatggcc tctccaggtc 60

tttattttta acctttgtta tggagttttc tgagcattgc agactaatct tggatatattg	120
tccctgaggg agccggctga gagaagttgg gaaataaact gtctagggat ctacagacct	180
ttaggacaga ttatctccac atctttgaaa aactaagaat ctgtgtgatg gtgttggtgg	240
agtccctgga tgatgggata gggacttttg aggctcattt gaagaagatg ctaaaacaat	300
cctatggctg gagggatagt tggggctgta gttggagatt ttcagttttt agaataaaag	360
tattagtgtt ggaatatact tcaggaccac ctctgtgaca gcatttatac agtatccgat	420
ggacaagtga gtgtctcagg ttaggattct attttaagat tgagatatta ggctttgata	480
ctacatctaa atggtctgta catgtctcga agaaagtctt tcagacagag ttaggacttg	540
gatccaggag ttaggacttg gactgactca ggaggactct agtttcttct tctccagctg	600
gaatgtcctt atgtaagaaa agccttgcct catgagtatg caaatcatgt gcgactgtga	660
tgattaatat agggatatcc acaccaaaca tcatatgagc cctatcttct ctacagacac	720
tgaatctcaa ggtccttaca atggaaaccg acacactgct gctgtgggtg ctgcttcttt	780
gggtgcccgg aagcacaggc gacatccagc tgacacagag ccctgccatc atgtctgcta	840
gccctggcga gaaagtgaca atgacctgtt ccgccagcag ctccgtgggc tacatgcact	900
ggtatcagca gaagtctagc acaagcccca agctgtggat ctacgacacc tccaagctgg	960
cctctggcgt gccaggcaga ttttctggaa gcggcagcgg caacagctac agcctgacta	1020
tcagctccat ccaggccgag gatgtggcta cctactactg cttcagaggc agcggctacc	1080
ccttcacatt tggccagggc accaagctgg aaatcaaggc cgatgccgt cctaccgtgt	1140
ctatctttcc acctagcagc gagcagctga catctggcgg agcctctgtc gtgtgcttcc	1200
tgaacaactt ctaccctaag gacatcaacg tcaagtggaa gatcgacggc tccgagagac	1260
agaacggcgt gctgaactct tggaccgacc aggacagcaa ggatagcacc tacagcatga	1320
gcagcactct gaccctgaca aaggacgagt acgagaggca caactcctac acatgcgagg	1380
ccacacacaa gaccagcaca tcccaatcg tgaagtctt caaccggaac gagtgcggag	1440
gaagtagtgg cagcgggagt gggccaatt ggagtcaccc tcaatttgag aaaggagggg	1500
gagggtccaa ttggtctcat ccgcagtgtg agaagggcgg cggcggctcc aattggtccc	1560
atccccagtt tgaaaaaggc tctggtggag gtggtagtgc tggtaggcag gtggaactgc	1620
aagaaagcgg ccttggcatc ctgcagcctt ctacagacact gagcctgacc ttagcttca	1680
gcggcttcag cctgagcaca agcggcatgt ctgtcggctg gatcagacag cttcttggcg	1740
aaggactgga atggctggcc gacatttggg gggacgacaa gaaggactac aaccccagcc	1800
tgaagtccag actgaccatc agcaaggaca ccagcagcaa ccaggtgttc ctgaagatca	1860
ccggcgtgga cacagccgat accgccacct attactgcgc cagatccatg atcaccaact	1920

ggtacttcga cgtgtggggc gctggcacca cagtgaccgt ctctcaggt gagtccaac 1980  
 ttctccatt ctaaagcat gttgggggga ttctgggcct tcaggaccac atagggacaa 2040  
  
 agagtggagt ggggcacttt ctttagattt gtgaggaatg ttccgacta gattgtttaa 2100  
 aacttcattt gtiggaagga gagctgtctt agtgattgag tcaagggaga aaggcatcta 2160  
 gcctcggtct caaaaggga gttgtgtctt agagaggtct ggtggagcct gcaaaagtcc 2220  
 agctttcaaa ggaacacaga agtatgtgta tggaatatta g 2261  
  
 <210> 109  
 <211> 1707  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> TT-hRSV-T7-integrated  
 <400> 109  
  
 gtcttagtga tggctgagga atgtgtctca ggagcggtgt ccgtaatctt taggccaata 60  
 aaatgtgggt tcacagtgag gagtgcattc tggggttggg gtttgttctg cagcgggaag 120  
  
 agcgtgtgac acagaaagct tagaaatggg gcaagagatg cttttcctca ggcaggattt 180  
 agggcttggg ctctcagcat cccacacttg tacagctgat gtggcatctg tgttttcttt 240  
 ctcatcctag atcaggcttt gagctgtgaa ataccctgcc tcatgcatat gcaataaacc 300  
 tgaggctctt tgagataaat atagatatat tgggtgccctg aggttttaac gccgccacca 360  
 tggctaccgg cagcagaaca agcctgtgac tcgcttttgg actgctctgt ctcccttggg 420  
 tgcaagaagg cagcggcgac atccagatga cacagagccc tagcacactg tctgccagcg 480  
 tgggcgacag agtgaccatc acatgcaagt gccagctgag cgtgggctac atgactggg 540  
  
 atcagcaaaa gcccggaag gccctaagc tgetgatcta cgatacctcc aagctggcct 600  
 ctggcgtgcc ctccagattt tctggcagcg gcagcgggac cgagttcacc ctgacctct 660  
 caagcctgca gcctgacgac ttctgtacgt actactgctt ccaaggcagc ggctaccct 720  
 tcacatttgg cggcggaaca aagctggaaa tcaagcggac tgtggccgt cctagcgtgt 780  
 tcatctttcc acctagcgac gagcagctga agtctggcac tgcctctgtc gtgtgcctgc 840  
 tgaacaactt ctacctcga gaggccaagg tgcagtggaa agtgagcaat gccctgcaga 900  
 gcggcaacag ccaagagtct gtgaccgagc aggactccaa ggattccacc tacagcctgt 960  
  
 ctagcaccct gactctgagc aaggccgact acgagaagca caaggtgtac gcctgcgaag 1020  
 tgacacacca gggactgagc agcctgtgta ccaagagctt caatcggggc gagtgcggag 1080  
 gaagtagtgg cagcgggagt gggccaatt ggagtcattc tcaatttgag aaaggagggg 1140



gagggtccaa ttggtctcat ccgcagtttg agaagggcgg cggcggctcc aattggtccc 1200  
atccccagtt tgaaaaaggc tctggtggag gtggtagtgc tgggtgggcaa gtgaccctga 1260  
gagagtctgg acctgctctg gtcaagccca cacagaccct gacactgacc tgcaccttca 1320  
gcggcttttag cctgagcaca agcggcatga gcgtcggctg gattagacag cctcctggca 1380

aagccctgga atggctggcc gacatttggg gggacgacaa gaaggactac aaccccagcc 1440  
tgaagtcccg gctgaccatc agcaaggaca ccagcaagaa ccaggtgggtg ctgaaagtga 1500  
ccaacatgga cctgcccagc accgccacct actactgtgc cagatccatg atcaccaact 1560  
ggtacttcga cgtgtgggga gccggcacca caaccgtctc ttcaggtgaag tctgctgtct 1620  
gggatagcgg gggagccagg tgtactgggc caggcaaggg ctttgggtga ggactgcaag 1680  
atcgctgcac agcagcgaat cgtgaaa 1707

<210> 110

<211> 450

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 110

tgtgacccc ggagacagaa ggtctctggg tggctgggtt tttgtgggtg gaggatggac 60  
attctgccat tgtattact actactacta ctacatggac gtctggggca aagggaccac 120  
ggtcaccgtc tcctcaggta agaatggcca ctctagggcc tttgttttct gctactgcct 180  
gtggggtttc ctgagcattg caggttggtc ctcggggcat gttccgaggg gacctgggcg 240  
gactggccag gaggggatgg gcactggggt gccttgagga tctgggagcc tctgtggatt 300  
ttccgatgcc ttggaaaaa gggactcagg ttgggtgcgt ctgatggagt aactgagcct 360  
gggggcttgg ggagccacat ttggacgaga tgctgaaca aaccaggggt cttagtgatg 420

gctgaggaat gtgtctcagg agcgggtgtct 450

<210> 111

<211> 300

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 111

gtaatcttta ggccaataaa atgtgggttc acagtgagga gtgcatcctg gggttggggt 60  
ttgttctgca gcgggaagag cgctgtgcac agaaagctta gaaatggggc aagagatgct 120  
tttctcagg caggatttag ggcttgggtc ctcagcatcc cacacttgta cagctgatgt 180  
ggcatctgtg ttttctttct catcctagat caggctttga gctgtgaaat accctgcctc 240

atgcatatgc aaataacctg aggtcttctg agataaatat agatatattg gtgccctgag 300

<210> 112

<211> 78

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Signal peptide coding sequence

<400> 112

atggctaccg gcagcagaac aagcctgctg ctgcgttttg gactgctctg tctcccctgg 60

ttgcaagaag gcagcgcc 78

<210> 113

<211> 717

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> hRSV light chain coding sequence

<400> 113

atggctaccg gcagcagaac aagcctgctg ctgcgttttg gactgctctg tctcccctgg 60

ttgcaagaag gcagcgccga catccagatg acacagagcc ctagcacact gtctgccagc 120

gtggcgaca gactgacat cacaatgaag tgccagctga gcgtgggcta catgactgg 180

tatcagcaaa agcccggcaa ggcccctaag ctgctgatct acgatactc caagctggcc 240

tctggcgtgc cctccagatt ttctggcagc ggagcgga cagagttcac cctgaccatc 300

tcaagcctgc agcctgacga cttcgtacg tactactgct tccaaggcag cggctacccc 360

ttcacatttg gcggcggaac aaagctggaa atcaagcgga ctgtggccgc tcctagcgtg 420

ttcatctttc cacctagcga cgagcagctg aagtctggca ctgcctctgt cgtgtgcctg 480

ctgaacaact tctaccctg agaggccaag gtgcagtgga aagtggacaa tgccctgcag 540

agcggcaaca gccaagagtc tgtgaccgag caggactcca aggattccac ctacagcctg 600

tctagcacc tgactctgag caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgaa 660

gtgacacacc agggactgag cagccctgtg accaagagct tcaatcgggg cgagtgc 717

<210> 114

<211> 321

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> hRSV variable light chain coding sequence

<400> 114

gacatccaga tgacacagag ccctagcaca ctgtctgccg gcgtgggcga cagagtgacc 60

atcacatgca agtgccagct gagcgtgggc tacatgcact ggtatcagca aaagcccggc 120

aaggccccta agctgctgat ctacgatacc tccaagctgg cctctggcgt gcctccaga 180

ttttctggca gcggcagcgg aaccgagttc accctgacca tctcaagcct gcagcctgac 240

gacttcgcta cgtactactg ctccaaggc agcggctacc cttcacatt tggcggcgga 300

acaaagctgg aaatcaagcg g 321

<210> 115

<211> 318

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> kappa constant light chain coding sequence

<400> 115

actgtggcgg ctccatagcgt gttcatcttt ccacctagcg acgagcagct gaagtctggc 60

actgcctctg tcgtgtgcct gctgaacaac ttctaccctc gagaggccaa ggtgcagtgg 120

aaagtggaca atgccctgca gagcggcaac agccaagagt ctgtgaccga gcaggactcc 180

aaggattcca cctacagcct gtctagcacc ctgactctga gcaaggccga ctacgagaag 240

cacaaggtgt acgcctgcga agtgacacac cagggactga gcagccctgt gaccaagagc 300

ttcaatcggg gcgagtgc 318

<210> 116

<211> 171

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> GSSG-streptag linker coding sequence

<400> 116

ggaggaagta gtggcagcgg gagtgggtcc aattggagtc atcctcaatt tgagaaagga 60

gggggagggt ccaattggtc tcatccgcag tttagaagg gcggcgccgg ctccaattgg 120

tcccatcccc agtttgaaaa aggctctggt ggaggtggta gtgctggtgg g 171

<210> 117

<211> 357

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> hRSV variable heavy chain coding sequence

<400> 117

caagtgacct ttagagagtc tggacctgct ctggtcaagc ccacacagac cctgacactg 60  
acctgacct tcagcggctt tagcctgagc acaagcggca tgagcgtcgg ctggattaga 120

cagcctcctg gcaaagccct ggaatggctg gccgacattt ggtgggacga caagaaggac 180  
tacaacccca gcctgaagtc ccgctgacc atcagcaagg acaccagcaa gaaccaggtg 240  
gtgctgaaag tgaccaacat ggacctgcc gacaccgcca cctactactg tgccagatcc 300  
atgatcacca actggtactt cgacgtgtgg ggagccggca ccacaaccgt ctcttca 357

<210> 118

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> signal peptide amino acid sequence

<400> 118

Met Ala Thr Gly Ser Arg Thr Ser Leu Leu Leu Ala Phe Gly Leu Leu  
1 5 10 15

Cys Leu Pro Trp Leu Gln Glu Gly Ser Ala  
20 25

<210> 119

<211> 239

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hRSV light chain amino acid sequence

<400> 119

Met Ala Thr Gly Ser Arg Thr Ser Leu Leu Leu Ala Phe Gly Leu Leu  
1 5 10 15

Cys Leu Pro Trp Leu Gln Glu Gly Ser Ala Asp Ile Gln Met Thr Gln  
20 25 30

Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr

35 40 45

Cys Lys Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys  
50 55 60

Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Leu	Leu	Ile	Tyr	Asp	Thr	Ser	Lys	Leu	Ala
65				70				75				80			
Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe
85				90				95							
Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Asp	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr
100				105				110							
Cys	Phe	Gln	Gly	Ser	Gly	Tyr	Pro	Phe	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys
115				120				125							
Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro
130				135				140							
Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu
145				150				155				160			
Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp
165				170				175							
Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp
180				185				190							
Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys
195				200				205							
Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln
210				215				220							
Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	

225	230	235
<210>	120	
<211>	107	
<212>	PRT	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	hRSV variable light chain amino acid sequence	
<400>	120	
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10
15		
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met		
20	25	30



His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35	40	45	
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser			
50	55	60	
Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp			
65	70	75	80
Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr			
85	90	95	
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg			
100	105		

<210> 121

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> kappa constant light chain amino acid sequence

<400> 121

Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln
1                      5                      10                      15
Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr
20                      25                      30
Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser
35                      40                      45

Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr
50                      55                      60
Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys
65                      70                      75                      80
His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro
85                      90                      95
Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
100                      105

<210> 122

<211> 57

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GSSG-streptag linker amino acid sequence

<400> 122

Gly Gly Ser Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln

1 5 10 15

Phe Glu Lys Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu

20 25 30

Lys Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly

35 40 45

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly

50

55

<210> 123

<211> 119

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hRSV variable heavy chain amino acid sequence

<400> 123

Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln

1 5 10 15

Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser

20 25 30

Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu

35 40 45

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val

65 70 75 80

Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85 90 95

Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala

100	105	110	
Gly Thr Thr Thr Val Ser Ser			
115			
<210> 124			
<211> 67			
<212> DNA			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> splice junction with flanking sequence in constructs of			
disclosure			
<400> 124			
caggtaagtc tgctgtctgg ggatagcggg gagccaggtg tactgggcca ggcaagggt		60	
ttggatc		67	
<210> 125			
<211> 450			
<212> DNA			
<213> Homo sapiens			
<400> 125			
gtaggactgc aagatcgctg cacagcagcg aatcgtgaaa tattttcttt agaattatga		60	
ggtgcgctgt gtgtcaacct gcattctaaa ttctttattg gctggaaaga gaactgtcgg		120	
agtgggtgaa tccagccagg agggacgcgt agccccggtc ttgatgagag cagggttggg		180	
ggcaggggta gcccagaaac ggtggctgcc gtcctgacag gggcttaggg aggctccagg		240	
acctcagtgc cttgaagctg gtttccatga gaaaaggatt gtttatctta ggaggcatgc		300	
ttactgttaa aagacaggat atgtttgaag tggcttctga gaaaaatggt taagaaaatt		360	
atgacttaaa aatgtgagag atttcaagt atattaattt ttttaactgt ccaagtattt		420	
gaaattctta tcatttgatt aacacccatg		450	
<210> 126			
<211> 415			
<212> PRT			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> signal peptide-light chain-streptag linker-variable heavy chain			
amino acid sequence in human anti-RSV emAb AAV			
<400> 126			

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

245 250 255  
 Glu Lys Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys  
 260 265 270  
 Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Ser  
 275 280 285  
 Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly

290 295 300  
 Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe  
 305 310 315 320  
 Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg  
 325 330 335  
 Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp  
 340 345 350  
 Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser

355 360 365  
 Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp  
 370 375 380  
 Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn  
 385 390 395 400  
 Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Thr Val Ser Ser  
 405 410 415

<210> 127

<211> 502

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 127

ccaggggtga ttctagtcag actctggggt tttgtcggg tataaggaa aaatccacta	60
ttgtgattac taigctatgg actactgggg tcaaggaacc tcagtcaccg tctcctcagg	120
taagaatggc ctctccaggt ctttatTTTT aacctttgtt atggagtttt ctgagcattg	180
cagactaatc ttggatatTT gtccctgagg gagccgctg agagaagttg ggaaataaac	240
tgtctaggga tctcagagcc tttaggacag attatctcca catctttgaa aaactaagaa	300
tctgtgtgat ggtgttggtg gaggccctgg atgatgggat agggactttg gaggtcatt	360

tgaggagat gctaaaacaa tcctatggct ggaggatag ttggggctgt agttggagat 420

tttcagtttt tagaataaaa gtattagttg tggaatatac ttcaggacca cctctgtgac 480

agcatttata cagtatccga tg 502

<210> 128

<211> 319

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 128

gacaagtgag tgctcagggt taggattcta ttttaagatt gagatattag gctttgatac 60

tacatctaaa tggctctgtac atgtctcgaa gaaagttctt cagacagagt taggacttgg 120

atccaggagt taggacttgg actgactcag gaggactcta gtttcttctt ctccagctgg 180

aatgtcctta tgtaagaaaa gccttgccctc atgagtatgc aaatcatgtg cgactgtgat 240

gattaatatata gggatatcca caccaaaca catatgagcc ctatcttctc tacagacact 300

gaatctcaag gtccttaca 319

<210> 129

<211> 60

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Signal peptide coding sequence

<400> 129

atggaaaccg acacactgct gctgtgggtg ctgcttcttt ggggtcccg aagcacaggc 60

<210> 130

<211> 696

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mRSV kappa light chain coding sequence

<400> 130

atggaaaccg acacactgct gctgtgggtg ctgcttcttt ggggtcccg aagcacaggc 60

gacatccagc tgacacagag ccctgccatc atgtctgcta gccctggcga gaaagtgaca 120

atgacctgtt ccgccagcag ctccgtgggc tacatgcact ggtatcagca gaagtctagc 180

acaagcccca agctgtggat ctacgacacc tccaagctgg cctctggcgt gccaggcaga 240

ttttctggaa gcggcagcgg caacagctac agcctgacta tcagctccat ccaggccgag 300



gatgtggcta cctactactg cttcagaggc agcggctacc cttcacatt tggccagggc 360  
 accaagctgg aaatcaaggc cgatgccgct cctaccgtgt ctatctttcc acctagcagc 420  
 gagcagctga catctggcgg agcctctgtc gtgtgcttcc tgaacaactt ctaccctaag 480

gacatcaacg tcaagtggaa gatcgacggc tccgagagac agaacggcgt gctgaactct 540  
 tggaccgacc aggacagcaa ggatagcacc tacagcatga gcagcactct gaccctgaca 600  
 aaggacgagt acgagaggca caactcctac acatgcgagg ccacacacaa gaccagcaca 660  
 tccccaatcg tgaagtcctt caaccggaac gagtgc 696

<210> 131  
 <211> 318  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mPalivizumab variable light chain coding sequence  
 <400> 131

gacatccagc tgacacagag cctgcccac atgtctgcta gccctggcga gaaagtgaca 60

atgacctgtt ccgccagcag ctccgtgggc tacatgcact ggtatcagca gaagtctagc 120  
 acaagcccca agctgtggat ctacgacacc tccaagctgg cctctggcgt gccaggcaga 180  
 ttttttggaa ggggcagcgg caacagctac agcctgacta tcagctccat ccaggccgag 240  
 gatgtggcta cctactactg cttcagaggc agcggctacc cttcacatt tggccagggc 300  
 accaagctgg aaatcaag 318

<210> 132  
 <211> 318  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mIgL kappa constant light chain coding sequence

<400> 132

gccgatgccg ctctaccgt gtctatcttt ccacctagca gcgagcagct gacatctggc 60  
 ggagcctctg tcgtgtgctt cctgaacaac ttctacccta aggacatcaa cgtcaagtgg 120  
 aagatcgacg gctccgagag acagaacggc gtgctgaact cttggaccga ccaggacagc 180  
 aaggatagca cctacagcat gagcagcact ctgaccctga caaaggacga gtacgagagg 240  
 cacaactcct acacatgcga ggccacacac aagaccagca catccccaat cgtgaagtcc 300  
 ttcaaccgga acgagtgc 318

<210> 133

<211> 360

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mPalivizumab variable heavy chain coding sequence

<400> 133

caggtggaac tgcaagaaag cgccctggc atcctgcagc cttctcagac actgagcctg	60
acctgtagct tcagcggctt cagcctgagc acaagcggca tgtctgtcgg ctggatcaga	120
cagccttctg gcgaaggact ggaatggctg gccgacattt ggtgggacga caagaaggac	180
tacaacccca gcctgaagtc cagactgacc atcagcaagg acaccagcag caaccaggtg	240
ttcctgaaga tcaccggcgt ggacacagcc gataccgcca cctattactg cgccagatcc	300
atgatcacca actggtactt cgacgtgtgg ggcgctggca ccacagtac cgtctcctca	360

<210> 134

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Signal peptide amino acid sequence

<400> 134

Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5				10					15		
Gly	Ser	Thr	Gly												
				20											

<210> 135

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> mRSV kappa light chain amino acid sequence

<400> 135

Met	Glu	Thr	Asp	Thr	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Leu	Leu	Leu	Trp	Val	Pro
1				5				10					15		
Gly	Ser	Thr	Gly	Asp	Ile	Gln	Leu	Thr	Gln	Ser	Pro	Ala	Ile	Met	Ser
				20				25					30		
Ala	Ser	Pro	Gly	Glu	Lys	Val	Thr	Met	Thr	Cys	Ser	Ala	Ser	Ser	Ser

35 40 45  
 Val Gly Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys  
 50 55 60  
 Leu Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg  
 65 70 75 80  
  
 Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser  
 85 90 95  
 Ile Gln Ala Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Arg Gly Ser Gly  
 100 105 110  
 Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ala Asp  
 115 120 125  
 Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr  
 130 135 140  
  
 Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys  
 145 150 155 160  
 Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly  
 165 170 175  
 Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser  
 180 185 190  
 Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn  
 195 200 205  
  
 Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val  
 210 215 220  
 Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys  
 225 230  
 <210> 136  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> mPalivizumab variable light chain amino acid sequence  
 <400> 136  
 Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly

1                    5                    10                    15  
Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met

20                    25                    30  
His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35                    40                    45  
Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50                    55                    60  
Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Ile Gln Ala Glu

65                    70                    75                    80  
Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Arg Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr

85                    90                    95  
Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100                    105

<210> 137

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> mIgL kappa constant light chain amino acid sequence

<400> 137

Ala Asp Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln

1                    5                    10                    15

Leu Thr Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr

20                    25                    30

Pro Lys Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln

35                    40                    45

Asn Gly Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr

50                    55                    60

Tyr Ser Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg

65                    70                    75                    80

His Asn Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro

85                    90                    95

Ile Val Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys

100

105

<210> 138

<211> 120

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> mPalivizumab variable heavy chain amino acid sequence

<400> 138

Gln Val Glu Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser Gln

1 5 10 15

Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser

20

25

30

Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Glu Gly Leu Glu

35

40

45

Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser

50

55

60

Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Ser Asn Gln Val

65 70 75 80

Phe Leu Lys Ile Thr Gly Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr

85

90

95

Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala

100

105

110

Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

115

120

<210> 139

<211> 64

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> splice junction with flanking sequence

<400> 139

caggtgagtc ctaacttcctc ccattctaaa tgcattgttg ggggattctg ggccttcagg 60

acca 64

<210> 140

<211> 968

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 140

catagggaca aagagtggag tggggcactt tctttagatt tgtgaggaat gttccgcact 60

agattgttta aaacttcatt tgttgaagg agagctgtct tagtgattga gtcaaggag 120

aaaggcatct agcctcggtc tcaaaagggt agttgctgtc tagagaggtc tggtaggagcc 180

tgcaaaagtc cagctttcaa aggaacacag aagtatgtgt atggaatatt agaagatgtt 240

gcttttactc ttaagtttgt tcctaggaaa aatagttaaa tactgtgact ttaaaatgtg 300

agagggtttt caagtactca tttttttaa tgcctaaaat ttttgtcaat cagtttgagg 360

tcttgtttgt gtagaactga tattacttaa agtttaaccg aggaatggga gtgaggctct 420

ctcataacct attcagaact gacttttaac aataataaat taagtttaaa atatttttaa 480

atgaattgag caatgttgag ttggagtcaa gatggccgat cagaaccaga acacctgcag 540

cagctggcag gaagcaggtc atgtggcaag gctatttggg gaagggaataa taaaaccact 600

aggtaaaact gtagctgtgg ttgaagaag tggttttgaa acactctgtc cagccccacc 660

aaaccgaaag tccaggctga gcaaacacc acctgggtaa tttgcatttc taaaataagt 720

tgaggattca gccgaaactg gagaggctct cttttaactt attgagttca acctttta 780

tttagcttga gtagttctag tttcccaaaa cttaagttaa tcgacttcta aaatgtattt 840

agaattcatt ttcaaaatta ggttatgtaa gaaattgaag gacttttagtgc tctttaattt 900

ctaataatatt tagaaaactt cttaaaatta cttctattatt cttccctctg attattggtc 960

tccattca 968

<210> 141

<211> 409

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> signal peptide-light chain-streptag linker-variable heavy chain  
amino acid sequence in mouse anti-RSV emAb AAV

<400> 141

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser



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

Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gly

275 280 285  
Gly Gln Val Glu Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser  
290 295 300  
Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr  
305 310 315 320  
Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Glu Gly Leu  
325 330 335  
Glu Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro

340 345 350  
Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Ser Asn Gln  
355 360 365  
Val Phe Leu Lys Ile Thr Gly Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr  
370 375 380  
Tyr Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly  
385 390 395 400  
Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
405

<210> 142

<211> 39

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 142

accacctctg tgacagcatt tatacagtat ccgatggat

39

<210> 143

<211> 39

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 143

atccataggg acaaagagtg gagtggggca ctttcttta

39

<210> 144

<211> 409

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> signal peptide-light chain-streptag linker-variable heavy chain

amino acid sequence in ms-emAb-RSV-dsDNA

<400> 144

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15  
Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser

20 25 30  
Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser

35 40 45  
Val Gly Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys

50 55 60  
Leu Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg

65 70 75 80  
Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser

85 90 95  
Ile Gln Ala Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Arg Gly Ser Gly

100 105 110  
Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ala Asp

115 120 125  
Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr

130 135 140  
Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys

145 150 155 160  
Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly

165 170 175  
Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser

180 185 190  
Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn

195 200 205

Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val  
210 215 220  
Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys Gly Gly Ser Ser Gly Ser Gly Ser  
225 230 235 240  
Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Gly Gly Gly Ser  
245 250 255  
Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp  
260 265 270  
Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gly  
275 280 285  
Gly Gln Val Glu Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser  
290 295 300  
Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr  
305 310 315 320  
Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Glu Gly Leu  
325 330 335  
Glu Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro  
340 345 350  
Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Ser Asn Gln  
355 360 365  
Val Phe Leu Lys Ile Thr Gly Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr  
370 375 380  
Tyr Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly  
385 390 395 400  
Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser  
405

<210> 145

<211> 708

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VRC01 light chain coding sequence

<400> 145

atggctaccg gcagcagaac aagcctgctg ctgcgttttg gactgctctg tctccctgg 60  
 ttgcaagaag gcagcgccga aattgtgttg acacagtctc caggcaccct gtctttgtct 120  
 ccaggggaaa cagccatcat ctcttgtcgg accagtcagt atggttcctt agcctggat 180  
 caacagaggc ccggccaggc ccccaggctc gtcattctatt cgggctctac tcgggccgct 240

ggcatcccag acaggttcag cggcagtcgg tgggggccag actacaatct caccatcagc 300  
 aacctggagt cgggagattt tgggttttat tattgccagc agtatgaatt ttttgccag 360  
 gggaccaagg tccaggtcga cattaagcgc actgtggccg ctctagcgt gtcatcttt 420  
 ccactagcg acgagcagct gaagtcctgc actgcctctg tcgtgtgcct gctgaacaac 480  
 ttctaccctc gagaggccaa ggtgcagtgg aaagtggaca atgccctgca gagcggaac 540  
 agccaagagt ctgtgaccga gcaggactcc aaggattcca cctacagcct gtctagcacc 600  
 ctgactctga gcaaggccga ctacgagaag cacaaggtgt acgcctgcga agtgacacac 660

cagggactga gcagccctgt gaccaagagc ttcaatcggg gcgagtgc 708

<210> 146  
 <211> 312  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> VRC01 variable light chain coding sequence  
 <400> 146

gaaattgtgt tgacacagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aacagccatc 60  
 atctcttgtc ggaccagtca gtatggttcc ttagcctggg atcaacagag gcccggccag 120  
 gccccaggc tcgtcatcta ttccggctct actcgggccg ctggcatccc agacaggttc 180  
 agcggcagtc ggtgggggcc agactacaat ctccatca gcaacctgga gtcgggagat 240

tttgggtttt attattgcca gcagtatgaa ttttttggcc aggggaccaa ggtccaggtc 300  
 gacattaagc gc 312

<210> 147  
 <211> 363  
 <212> DNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> VRC01 variable heavy chain coding sequence  
 <400> 147

caggtgcagc tgggtgcagtc tgggggtcag atgaagaagc ctggcgagtc gatgagaatt 60  
 tcttgcggg cttctggata tgaatttatt gattgtacgc taaattggat tcgtctggcc 120

cccggaaaaa ggccctgagtg gatgggatgg ctgaagcctc gaggtggcgc ggtcaactac 180

gcacgtccac ttcagggcag agtgaccatg actcgagacg tttattccga cacagccttt 240

ttggagctgc gctcgttgac agtagacgac acggccgtct actttgtac taggggaaaa 300

aactgtgatt acaattggga cttcgaacac tggggccggg gcaccccggt catcgtctca 360

tca 363

<210> 148

<211> 236

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VRC01 light chain amino acid sequence

<400> 148

Met Ala Thr Gly Ser Arg Thr Ser Leu Leu Leu Ala Phe Gly Leu Leu

1 5 10 15

Cys Leu Pro Trp Leu Gln Glu Gly Ser Ala Glu Ile Val Leu Thr Gln

20 25 30

Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Thr Ala Ile Ile Ser

35 40 45

Cys Arg Thr Ser Gln Tyr Gly Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro

50 55 60

Gly Gln Ala Pro Arg Leu Val Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Arg Ala Ala

65 70 75 80

Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Arg Trp Gly Pro Asp Tyr Asn

85 90 95

Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Ser Gly Asp Phe Gly Val Tyr Tyr Cys

100 105 110

Gln Gln Tyr Glu Phe Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Gln Val Asp Ile

115 120 125

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

145 150 155 160



Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr

195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225 230 235

<210> 149

<211> 104

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VRC01 variable light chain amino acid sequence

<400> 149

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Thr Ala Ile Ile Ser Cys Arg Thr Ser Gln Tyr Gly Ser Leu Ala

20 25 30

Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Val Ile Tyr Ser

35 40 45

Gly Ser Thr Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Arg

50 55 60

Trp Gly Pro Asp Tyr Asn Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Ser Gly Asp

65 70 75 80

Phe Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Glu Phe Phe Gly Gln Gly Thr

85 90 95

Lys Val Gln Val Asp Ile Lys Arg

100

<210> 150

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VRC01 variable heavy chain amino acid sequence

<400> 150

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gln Met Lys Lys Pro Gly Glu

1 5 10 15

Ser Met Arg Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr Glu Phe Ile Asp Cys

20 25 30

Thr Leu Asn Trp Ile Arg Leu Ala Pro Gly Lys Arg Pro Glu Trp Met

35 40 45

Gly Trp Leu Lys Pro Arg Gly Gly Ala Val Asn Tyr Ala Arg Pro Leu

50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Val Tyr Ser Asp Thr Ala Phe

65 70 75 80

Leu Glu Leu Arg Ser Leu Thr Val Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys

85 90 95

Thr Arg Gly Lys Asn Cys Asp Tyr Asn Trp Asp Phe Glu His Trp Gly

100 105 110

Arg Gly Thr Pro Val Ile Val Ser Ser

115 120

<210> 151

<211> 87

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> splice junction with flanking sequence in constructs of the  
disclosure

<400> 151

caggtgagtt ggccttcctt ctgcctcctt tctctgggcc cagcgtcttc tgacctggag 60

ctgggagata atgtccgggg gctcctt 87

<210> 152

<211> 414

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> signal peptide-light chain-streptag linker-variable heavy chain  
amino acid sequence in Hu-emAb-VRC01-AAV

<400> 152

Met Ala Thr Gly Ser Arg Thr Ser Leu Leu Leu Ala Phe Gly Leu Leu

1 5 10 15

Cys Leu Pro Trp Leu Gln Glu Gly Ser Ala Glu Ile Val Leu Thr Gln

20 25 30

Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly Glu Thr Ala Ile Ile Ser

35 40 45

Cys Arg Thr Ser Gln Tyr Gly Ser Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Arg Pro

50 55 60

Gly Gln Ala Pro Arg Leu Val Ile Tyr Ser Gly Ser Thr Arg Ala Ala

65 70 75 80

Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Arg Trp Gly Pro Asp Tyr Asn

85 90 95

Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Ser Gly Asp Phe Gly Val Tyr Tyr Cys

100 105 110

Gln Gln Tyr Glu Phe Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Gln Val Asp Ile

115 120 125

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr

195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Ser Ser

225 230 235 240

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly

245 250 255

Gly Gly Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Gly Gly

260 265 270

Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Ser Gly Gly Gly

275 280 285

Gly Ser Ala Gly Gly Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Gly Gln Met

290 295 300

Lys Lys Pro Gly Glu Ser Met Arg Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gly Tyr

305 310 315 320

Glu Phe Ile Asp Cys Thr Leu Asn Trp Ile Arg Leu Ala Pro Gly Lys

325 330 335

Arg Pro Glu Trp Met Gly Trp Leu Lys Pro Arg Gly Gly Ala Val Asn

340 345 350

Tyr Ala Arg Pro Leu Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Val Tyr

355 360 365

Ser Asp Thr Ala Phe Leu Glu Leu Arg Ser Leu Thr Val Asp Asp Thr

370 375 380

Ala Val Tyr Phe Cys Thr Arg Gly Lys Asn Cys Asp Tyr Asn Trp Asp

385 390 395 400

Phe Glu His Trp Gly Arg Gly Thr Pro Val Ile Val Ser Ser

405 410

<210> 153

<211> 430

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400

> 153

tgtgacgcc ggagacagaa ggtctctggg tggctgggtt tttgtgggtt gaggatggac 60

attctgccat tgtgattact actactacta ctacatggac gtctggggca aaggaccac 120

ggtcaccgtc tcctcaggtg agaattggcca ctctagggcc tttgttttct gctactgcct 180  
 gtgggggtttc ctgagggcat gttccgaggg gacctgggcg gactggccag gaggggatgg 240  
 gcactgggggt gccttgagga tctgggagcc tctgtggatt ttccgatgcc tttagaaaat 300  
 gggactcagg ttgggtgcgt ctgatggagt aactgagcct gggggccttg ggagccacat 360  
 ttggacgaga tgcctgaaca aaccaggggt cttagtgatg gctgaggaat gtgtctcagg 420

agcgggtgtct 430

<210> 154

<211> 708

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Medi8852 light chain coding sequence

<400> 154

atggctaccg gcagcagaac aagcctgctg ctgcgttttg gactgctctg tctccctgg 60  
 ttgcaagaag gcagcgccga tattcagatg acccagagcc cttccagcct gtccgcttca 120  
 gtgggggatc gagtgacatg tacctgccga accagccaga gcctgagctc ctacacgcac 180  
 tggatatcagc agaagcccgg caaagcccct aagctgctga tctacgccgc ttctagtcgg 240

gggtccggag tgccaagccg gttctccgga tctgggagtg gaaccgactt taccctgaca 300  
 atttcaagcc tgcagcccgga ggatttcgct acatactact gtcagcagag cagaactttc 360  
 gggcagggca ctaaggtgga gatcaaacgg actgtggccg ctctagcgt gttcatcttt 420  
 ccacctagcg acgagcagct gaagtctggc actgcctctg tcgtgtgcct gctgaacaac 480  
 ttctaccctc gagaggccaa ggtgcagtgg aaagtggaca atgccttgca gagcggcaac 540  
 agccaagagt ctgtgaccga gcaggactcc aaggattcca cctacagcct gtctagcacc 600  
 ctgactctga gcaaggccga ctacagagaag cacaaggtgt acgcctgcga agtgacacac 660

cagggactga gcagccctgt gaccaagagc ttcaatcggg gcgagtgc 708

<210> 155

<211> 309

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MEDI8852-VK anti-stem HA variable light chain coding sequence

<400> 155

gatattcaga tgacccagag cccttcagc ctgtccgctt cagtggggga tcgagtgacc 60  
 attacctgcc gaaccagcca gagcctgagc tcctacacgc actggtatca gcagaagccc 120

ggcaaagccc ctaagctgct gatctacgcc gcttctagtc ggggggtccgg agtgccaagc 180  
cggttctcgg gatctgggag tggaaaccgac tttaacctga caatttcaag cctgcagccc 240

gaggatttcg ctacatacta ctgtcagcag agcagaactt tcgggcaggg cactaaggtg 300  
gagatcaaa 309

<210> 156

<211> 384

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-stem HA variable heavy chain coding sequence

<400> 156

caggtccagc tgcagcagag cggccccgga ctggtcaagc cttcacagac actgagcctg 60  
acatgcgcc ttagcggaga tagcgtgagc tcctacaatg ccgtgtggaa ctggatcagg 120  
cagtctcaa gtcgaggact ggagtggctg ggacgaacat actatagatc cgggtggtac 180

aatgactatg ctgaatcagt gaaaagccga attactatca accccgatac ctccaagaat 240  
cagttctctc tgcagctgaa cagtgtgacc cctgaggaca cagccgtgta ctactgcgcc 300  
agaagcggcc atatcaccgt ctttggcgtc aatgtggatg ctttcgatat gtgggggcag 360  
gggactatgg tcaccgtctc ttca 384

<210> 157

<211> 236

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Medi8852 light chain amino acid sequence

<400> 157

Met Ala Thr Gly Ser Arg Thr Ser Leu Leu Leu Ala Phe Gly Leu Leu

1 5 10 15

Cys Leu Pro Trp Leu Gln Glu Gly Ser Ala Asp Ile Gln Met Thr Gln

20 25 30

Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr

35 40 45

Cys Arg Thr Ser Gln Ser Leu Ser Ser Tyr Thr His Trp Tyr Gln Gln

50 55 60

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Arg



65                                      70                                      75                                      80

Gly Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

85                                      90                                      95

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr

100                                      105                                      110

Tyr Cys Gln Gln Ser Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

115                                      120                                      125

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

130                                      135                                      140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

145                                      150                                      155                                      160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

165                                      170                                      175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

180                                      185                                      190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr

195                                      200                                      205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser

210                                      215                                      220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys

225                                      230                                      235

<210> 158

<211> 103

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> MEDI8852-VK anti-stem HA variable light chain amino acid sequence

<400> 158

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1                                      5                                      10                                      15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Ser Leu Ser Ser Tyr

20                                      25                                      30

Thr His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile  
 35 40 45  
 Tyr Ala Ala Ser Ser Arg Gly Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly  
 50 55 60  
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro  
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg Thr Phe Gly Gln  
 85 90 95  
 Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys  
 100

<210> 159

<211> 128

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> anti-stem HA variable heavy chain amino acid sequence

<400> 159

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu Val Lys Pro Ser Gln  
 1 5 10 15  
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp Ser Val Ser Ser Tyr

20 25 30  
 Asn Ala Val Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro Ser Arg Gly Leu Glu  
 35 40 45  
 Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Gly Trp Tyr Asn Asp Tyr Ala  
 50 55 60  
 Glu Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro Asp Thr Ser Lys Asn  
 65 70 75 80  
 Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val

85 90 95  
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly His Ile Thr Val Phe Gly Val Asn Val  
 100 105 110  
 Asp Ala Phe Asp Met Trp Gly Gln Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser  
 115 120 125

<210> 160

<211> 421

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> signal peptide-light chain-streptag linker-variable heavy chain  
amino acid sequence in hu-emAb-Medi8852-AAV

<400> 160

Met Ala Thr Gly Ser Arg Thr Ser Leu Leu Leu Ala Phe Gly Leu Leu

1 5 10 15

Cys Leu Pro Trp Leu Gln Glu Gly Ser Ala Asp Ile Gln Met Thr Gln

20 25 30

Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr

35 40 45

Cys Arg Thr Ser Gln Ser Leu Ser Ser Tyr Thr His Trp Tyr Gln Gln

50 55 60

Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Ala Ala Ser Ser Arg

65 70 75 80

Gly Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp

85 90 95

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr

100 105 110

Tyr Cys Gln Gln Ser Arg Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile

115 120 125

Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp

130 135 140

Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn

145 150 155 160

Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu

165 170 175

Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp

180 185 190

Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr  
195 200 205

Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser  
210 215 220

Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Ser Ser  
225 230 235 240

Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly  
245 250 255

Gly Gly Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Gly Gly  
260 265 270

Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Ser Gly Gly Gly  
275 280 285

Gly Ser Ala Gly Gly Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Gly Leu  
290 295 300

Val Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ala Ile Ser Gly Asp  
305 310 315 320

Ser Val Ser Ser Tyr Asn Ala Val Trp Asn Trp Ile Arg Gln Ser Pro  
325 330 335

Ser Arg Gly Leu Glu Trp Leu Gly Arg Thr Tyr Tyr Arg Ser Gly Trp  
340 345 350

Tyr Asn Asp Tyr Ala Glu Ser Val Lys Ser Arg Ile Thr Ile Asn Pro  
355 360 365

Asp Thr Ser Lys Asn Gln Phe Ser Leu Gln Leu Asn Ser Val Thr Pro  
370 375 380

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Gly His Ile Thr Val  
385 390 395 400

Phe Gly Val Asn Val Asp Ala Phe Asp Met Trp Gly Gln Gly Thr Met  
405 410 415

Val Thr Val Ser Ser  
420

<210> 161

<211> 726

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AMM01 light chain coding sequence

<400> 161

```

atggctaccg gcagcagaac aagcctgctg ctgcttttg gactgctctg tctccctgg      60

ttgcaagaag gcagcgctc ctatgagctg actcagccac cctcagtgtc agtggccccg      120
gggcagaggg ccacaattac ctgtggggga cacaacatcg gagctaaaaa tgtccactgg      180
taccagcaga agccaggcca ggccccgtc ctggtcatcc aatatgatag cgaccggccc      240
tcagggatcc ctgagcgatt ctctggctcc aactctggga gcacggccac cctgaccatc      300
agcagggtcg aagccgggga tgaggccgac tattactgtc aggtgtggga tagtggtcgt      360
gggcaccccc tttatgtctt cggaggtggg accaaggtca ccgtcctagg tcagcccaag      420
gccaacccca ctgtcactct gttccaccc tcgagtgagg agcttcaagc caacaaggcc      480

acactggtgt gtctcataag tgacttctac cgggagccg tgacagtggc ctggaaggca      540
gatagcagcc ccgtcaaggc gggagtggag accaccacac cctccaaaca aagcaacaac      600
aagtacgcgg ccagcagcta cctgagcctg acgcctgagc agtggaagtc ccacagaagc      660
tacagctgcc aggtcacgca tgaaggagc accgtggaga agacagtggc ccctacagaa      720
tgttca                                           726

```

<210> 162

<211> 372

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AMM01 lambda variable light chain coding sequence

<400> 162

```

tcctatgagc tgactcagcc accctcagtg tcagtggccc cggggcagag ggccacaatt      60
acctgtgggg gacacaacat cggagctaaa aatgtccact ggtaccagca gaagccaggc      120
caggcccctg tcctggatcat ccaatatgat agcgaccggc cctcagggat cctgagcga      180
ttctctggct ccaactctgg gagcacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg      240
gatgaggccg aciattactg tcagggtgtg gatagtggc gtgggcatcc cttttatgtc      300
ttcggagggt ggaccaaggt caccgtccta ggtagccca aggccaaccc cactgtcact      360
ctgttccac cc                                           372

```

<210> 163

&lt;211&gt; 276

<212> DNA

### <213> Artificial Sequence

<220><223> lambda constant light chain coding sequence

<400> 163

tcgagtgagg agcttcaagc caacaaggcc acactgggtgt gtctcataag tgactttctac	60
ccgggagccg tgacagtggc ctggaaggca gatagcagcc ccgtcaaggc gggagtggag	120
accaccacac cctccaaaca aagcaacaac aagtacgcgg ccagcagcta cctgagcctg	180
acgcctgagc agtggaaagtc ccacagaagc tacagctgcc aggtcacgca tgaaggggagc	240
accgtggaga agacagtggc ccctacagaa tgttca	276

<210> 164

<211> 369

<212> DNA

### <213> Artificial Sequence

<220><223> AMM01 variable heavy chain coding sequence

<400>	164
-------	-----

caggttcagc tggatgcagtc tggagctgat gtgaagaagc ctggggcctc agtgaaggtc	60
tcttgcgaagg cttctgggta cacccttatt cattttggta tcagttgggt gcggcaggcc	120
cctggacaag ggcttgagtg gatgggatgg atcgacacta ataatggtaa cacaaactat	180
gcacagagtc tccagggcag agtcaccatg accacagata catccacggg cacagcctac	240
atggagctga ggagcctctc gactgacgac acggccgtgt atttctgtgc gcgagctctg	300

gaaatggggc atagaagtgg ctgccattt gactactggg gccagggagt cctggtcacc 360  
gtctcccca 369

<210> 165

<211> 242

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AMM01 light chain amino acid sequence

<400> 165

Met Ala Thr Gly Ser Arg Thr Ser Leu Leu Leu Ala Phe Gly Leu Leu

1                      5                      10                      15

Cys Leu Pro Trp Leu Gln Glu Gly Ser Ala Ser Tyr Glu Leu Thr Gln



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

<210> 166

<211> 124

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AMM01 variable light chain amino acid sequence

<400> 166

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15

Arg Ala Thr Ile Thr Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ala Lys Asn Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Gln

35 40 45

Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Ser Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Gly Arg Gly His

85 90 95

Pro Leu Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln

100 105 110

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro

115 120

<210> 167

<211> 92

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AMM01 lambda constant light chain amino acid sequence

<400> 167

Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile

1 5 10 15

Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser

20 25 30

Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser

35 40 45

Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln  
50 55 60  
Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser  
65 70 75 80

Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser  
85 90

<210> 168

<211> 123

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AMM01 variable heavy chain amino acid sequence

<400> 168

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Asp Val Lys Lys Pro Gly Ala  
1 5 10 15  
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile His Phe  
20 25 30  
Gly Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met

35 40 45  
Gly Trp Ile Asp Thr Asn Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Ser Leu  
50 55 60  
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Gly Thr Ala Tyr  
65 70 75 80  
Met Glu Leu Arg Ser Leu Ser Thr Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys  
85 90 95  
Ala Arg Ala Leu Glu Met Gly His Arg Ser Gly Phe Pro Phe Asp Tyr

100 105 110  
Trp Gly Gln Gly Val Leu Val Thr Val Ser Pro  
115 120

<210> 169

<211> 422

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> signal peptide-light chain-streptag linker-variable heavy chain

amino acid sequence in hu-emAb-AMM01-AAV

<400> 169

Met Ala Thr Gly Ser Arg Thr Ser Leu Leu Leu Ala Phe Gly Leu Leu

1 5 10 15

Cys Leu Pro Trp Leu Gln Glu Gly Ser Ala Ser Tyr Glu Leu Thr Gln

20 25 30

Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln Arg Ala Thr Ile Thr Cys

35 40 45

Gly Gly His Asn Ile Gly Ala Lys Asn Val His Trp Tyr Gln Gln Lys

50 55 60

Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Gln Tyr Asp Ser Asp Arg Pro

65 70 75 80

Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser Asn Ser Gly Ser Thr Ala

85 90 95

Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr

100 105 110

Cys Gln Val Trp Asp Ser Gly Arg Gly His Pro Leu Tyr Val Phe Gly

115 120 125

Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln Pro Lys Ala Asn Pro Thr

130 135 140

Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu Leu Gln Ala Asn Lys Ala

145 150 155 160

Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr Pro Gly Ala Val Thr Val

165 170 175

Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys Ala Gly Val Glu Thr Thr

180 185 190

Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr Ala Ala Ser Ser Tyr Leu

195 200 205

Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His Arg Ser Tyr Ser Cys Gln

210 215 220

Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys Thr Val Ala Pro Thr Glu  
225 230 235 240  
Cys Ser Gly Gly Ser Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asn Trp Ser His  
245 250 255  
Pro Gln Phe Glu Lys Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln  
260 265 270  
Phe Glu Lys Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu  
275 280 285  
Lys Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Gln Val Gln Leu Val  
290 295 300  
Gln Ser Gly Ala Asp Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser  
305 310 315 320  
Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Ile His Phe Gly Ile Ser Trp Val  
325 330 335  
Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asp Thr  
340 345 350  
Asn Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Ser Leu Gln Gly Arg Val Thr  
355 360 365  
Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Gly Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser  
370 375 380  
Leu Ser Thr Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Ala Arg Ala Leu Glu  
385 390 395 400  
Met Gly His Arg Ser Gly Phe Pro Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Val  
405 410 415  
Leu Val Thr Val Ser Pro  
420

<210> 170

<211> 39

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 170

aggaccacct ctgtgacagc atttatacag tatccgatg

<210> 171

<211> 41

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 171

catagggaca aagagtggag tggggcactt tcttttagatt t 41

<210> 172

<211> 409

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> signal peptide-light chain-streptag linker-variable heavy chain

amino acid sequence in Balb/C mRSV-Splice Integration

<400> 172

Met Glu Thr Asp Thr Leu Leu Leu Trp Val Leu Leu Leu Trp Val Pro

1 5 10 15

Gly Ser Thr Gly Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser

20 25 30

Ala Ser Pro Gly Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser

35 40 45

Val Gly Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys

50 55 60

Leu Trp Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg

65 70 75 80

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser

85 90 95

Ile Gln Ala Glu Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Arg Gly Ser Gly

100 105 110

Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ala Asp

115 120 125

Ala Ala Pro Thr Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr

130 135 140

Ser Gly Gly Ala Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys

145                      150                      155                      160  
 Asp Ile Asn Val Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly  
                          165                      170                      175  
 Val Leu Asn Ser Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser  
  
                          180                      185                      190  
 Met Ser Ser Thr Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn  
                          195                      200                      205  
 Ser Tyr Thr Cys Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val  
                          210                      215                      220  
 Lys Ser Phe Asn Arg Asn Glu Cys Gly Gly Ser Ser Gly Ser Gly Ser  
 225                      230                      235                      240  
 Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Gly Gly Gly Ser  
  
                          245                      250                      255  
 Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp  
                          260                      265                      270  
 Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gly  
                          275                      280                      285  
 Gly Gln Val Glu Leu Gln Glu Ser Gly Pro Gly Ile Leu Gln Pro Ser  
                          290                      295                      300  
 Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr  
  
 305                      310                      315                      320  
 Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Glu Gly Leu  
                          325                      330                      335  
 Glu Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro  
                          340                      345                      350  
 Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Ser Asn Gln  
                          355                      360                      365  
 Val Phe Leu Lys Ile Thr Gly Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Tyr  
  
                          370                      375                      380  
 Tyr Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly  
 385                      390                      395                      400



Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

405

<210> 173

<211> 41

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 173

gtcttagtga tggctgagga atgtgtctca ggagcgggtgt c 41

<210> 174

<211> 41

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 174

tgttaggactg caagatcgct gcacagcagc gaatcgtgaa a 41

<210> 175

<211> 415

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> signal peptide-light chain-streptag linker-variable heavy chain

amino acid sequence in TT-hRSV-T7-integrated

<400> 175

Met Ala Thr Gly Ser Arg Thr Ser Leu Leu Leu Ala Phe Gly Leu Leu

1 5 10 15

Cys Leu Pro Trp Leu Gln Glu Gly Ser Ala Asp Ile Gln Met Thr Gln

20 25 30

Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr

35 40 45

Cys Lys Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met His Trp Tyr Gln Gln Lys

50 55 60

Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Thr Ser Lys Leu Ala

65 70 75 80

Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe

85 90 95

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr

100 105 110

Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys

115 120 125

Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro

130 135 140

Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu

145 150 155 160

Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp

165 170 175

Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp

180 185 190

Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys

195 200 205

Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln

210 215 220

Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly

225 230 235 240

Gly Ser Ser Gly Ser Gly Ser Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe

245 250 255

Glu Lys Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys

260 265 270

Gly Gly Gly Gly Ser Asn Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys Gly Ser

275 280 285

Gly Gly Gly Gly Ser Ala Gly Gly Gln Val Thr Leu Arg Glu Ser Gly

290 295 300

Pro Ala Leu Val Lys Pro Thr Gln Thr Leu Thr Leu Thr Cys Thr Phe

305 310 315 320

Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Ser Val Gly Trp Ile Arg

325 330 335

Gln Pro Pro Gly Lys Ala Leu Glu Trp Leu Ala Asp Ile Trp Trp Asp

340 345 350  
Asp Lys Lys Asp Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Arg Leu Thr Ile Ser

355 360 365  
Lys Asp Thr Ser Lys Asn Gln Val Val Leu Lys Val Thr Asn Met Asp

370 375 380  
Pro Ala Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Ser Met Ile Thr Asn

385 390 395 400  
Trp Tyr Phe Asp Val Trp Gly Ala Gly Thr Thr Thr Val Ser Ser

405 410 415

<210> 176

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T2A self-cleaving peptide

<400> 176

Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu

1 5 10 15

Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 177

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> P2A self-cleaving peptide

<400> 177

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val

1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 178

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E2A self-cleaving peptide

<400> 178

Gly Ser Gly Gln Cys Thr Asn Tyr Ala Leu Leu Lys Leu Ala Gly Asp

1 5 10 15

Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro Pro

20

<210> 179

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> F2A self-cleaving peptide

<400> 179

Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala

1 5 10 15

Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20 25

<210> 180

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Gly-Ser linker

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> Gly-Ser linker (GGS)n, where n=1 to 100

<400> 180

Gly Gly Ser

1

<210> 181

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Gly-Ser linker

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> Gly-Ser linker (GGGS)n, where n=1 to 100

<400> 181

Gly Gly Gly Ser

1

<

<210> 182

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Gly-Ser linker

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> Gly-Ser linker (GGGGS)<sub>n</sub>, where n=1 to 100

<400> 182

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 183

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> linker

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> linker (KESGSVSSEQLAQFRSLD)<sub>n</sub>, where n=1 to 100

<400> 183

Lys Glu Ser Gly Ser Val Ser Ser Glu Gln Leu Ala Gln Phe Arg Ser

1 5 10 15

Leu Asp

<210> 184

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> linker

<220><221> MISC\_FEATURE

<223> linker (EGKSSGSGSESKST)<sub>n</sub>, where n=1 to 100

<400> 184

Glu Gly Lys Ser Ser Gly Ser Gly Ser Glu Ser Lys Ser Thr

1 5 10

<210> 185

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> exemplary signal peptide derived from human IgH heavy chains

<400> 185

Met Glu Leu Gly Leu Ser Trp Ile Phe Leu Leu Ala Ile Leu Lys Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 186

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> exemplary signal peptide derived from human IgH heavy chains

<400> 186

Met Glu Leu Gly Leu Arg Trp Val Phe Leu Val Ala Ile Leu Glu Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 187

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> exemplary signal peptide derived from human IgH heavy chains

<400> 187

Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp

1 5 10 15

Val Leu Ser

<210> 188

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> exemplary signal peptide derived from human IgH heavy chains

<400> 188

Met Asp Trp Thr Trp Arg Ile Leu Phe Leu Val Ala Ala Ala Thr Gly

1                      5                      10                      15

Ala His Ser

<210> 189

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> exemplary signal peptide derived from human IgH heavy chains

<400> 189

Met Asp Trp Thr Trp Arg Phe Leu Phe Val Val Ala Ala Ala Thr Gly

1                      5                      10                      15

Val Gln Ser

<210> 190

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> exemplary signal peptide derived from human IgH heavy chains

<400> 190

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Leu Phe Leu Val Ala Ile Leu Lys Gly

1                      5                      10                      15

Val Gln Cys

<210> 191

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence



<220><223> exemplary signal peptide derived from human IgH heavy chains

<400> 191

Met Glu Phe Gly Leu Ser Trp Val Phe Leu Val Ala Leu Phe Arg Gly

1 5 10 15

Val Gln Cys

<210> 192

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> exemplary signal peptide derived from human IgH heavy chains

<400> 192

Met Asp Leu Leu His Lys Asn Met Lys His Leu Trp Phe Phe Leu Leu

1 5 10 15

Leu Val Ala Ala Pro Arg Trp Val Leu Ser

20 25

<210> 193

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> exemplary signal peptide derived from human IgL light chains

<400> 193

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

Leu Ser Gly Ala Arg Cys

20

<210> 194

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> exemplary signal peptide derived from human IgL light chains

<400> 194

Met Lys Tyr Leu Leu Pro Thr Ala Ala Ala Gly Leu Leu Leu Leu Ala

1                    5                    10                    15

Ala Gln Pro Ala Met Ala

20

<210> 195

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Strep tag II

<400> 195

Trp Ser His Pro Gln Phe Glu Lys

1                    5

<210> 196

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Flag tag

<400> 196

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys

1                    5

<210> 197

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Xpress tag

<400> 197

Asp Leu Tyr Asp Asp Asp Asp Lys

1                    5

<210> 198

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Avi tag

<400> 198

Gly Leu Asn Asp Ile Phe Glu Ala Gln Lys Ile Glu Trp His Glu

1 5 10 15

<210> 199

<211> 26

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> calmodulin tag

<400> 199

Lys Arg Arg Trp Lys Lys Asn Phe Ile Ala Val Ser Ala Ala Asn Arg

1 5 10 15

Phe Lys Lys Ile Ser Ser Ser Gly Ala Leu

20 25

<210> 200

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> HA tag

<400> 200

Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Asp Tyr Ala

1 5

<210> 201

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Myc tag

<400> 201

Glu Gln Lys Leu Ile Ser Glu Glu Asp Leu

1 5 10

<210> 202

<211> 13

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Softag 1

<400> 202

Ser Leu Ala Glu Leu Leu Asn Ala Gly Leu Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 203

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223>

> Softag 3

<400> 203

Thr Gln Asp Pro Ser Arg Val Gly

1 5

<210> 204

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> V5 tag

<400> 204

Gly Lys Pro Ile Pro Asn Pro Leu Leu Gly Leu Asp Ser Thr

1 5 10

<210> 205

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> variable light chain amino acid sequence of exemplary mouse

palivizumab

<400> 205

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Leu Ser Thr Ser Pro Lys Leu Gln Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60  
 Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Ile Gln Ala Glu

65 70 75 80  
 Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Arg Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr

85 90 95  
 Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100 105  
 <210> 206  
 <211> 106  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> variable light chain amino acid sequence of exemplary human  
 anti-RSV antibody  
 <400> 206  
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15  
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met

20 25 30  
 His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45  
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60  
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp

65 70 75 80  
 Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr Phe

85 90 95  
 Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg

100 105  
 <210> 207  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH1 of exemplary anti-RSV antibody

<400> 207

Gly Ala Ser Ile Asn Ser Asp Asn Tyr Tyr Trp Thr

1 5 10

<210> 208

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 of exemplary anti-RSV antibody

<400> 208

His Ile Ser Tyr Thr Gly Asn Thr Tyr Tyr Thr Pro Ser Leu Lys Ser

1 5 10 15

<210> 209

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 of exemplary anti-RSV antibody

<400> 209

Cys Gly Ala Tyr Val Leu Ile Ser Asn Cys Gly Trp Phe Asp Ser

1 5 10 15

<210> 210

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 of exemplary anti-RSV antibody

<400> 210

Gln Ala Ser Gln Asp Ile Ser Thr Tyr Leu Asn

1 5 10

<210> 211

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 of exemplary anti-RSV antibody

<400> 211

Gly Ala Ser Asn Leu Glu Thr

1 5

<210> 212

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 of exemplary anti-RSV antibody

<400> 212

Gln Gln Tyr Gln Tyr Leu Pro Tyr Thr

1 5

<210> 213

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH1 of exemplary 10E8 anti-HIV antibody

<400> 213

Gly Phe Asp Phe Asp Asn Ala Trp

1 5

<210> 214

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 of exemplary 10E8 anti-HIV antibody

<400> 214

Ile Thr Gly Pro Gly Glu Gly Trp Ser Val

1 5 10

<210> 215

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 of exemplary 10E8 anti-HIV antibody

<400> 215



Thr Gly Lys Tyr Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr Pro Pro Gly Glu Glu

1 5 10 15

Tyr Phe Gln Asp

20

<210> 216

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 of exemplary 10E8 anti-HIV antibody

<400> 216

Thr Gly Asp Ser Leu Arg Ser His Tyr Ala Ser

1 5 10

<210> 217

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 of exemplary 10E8 anti-HIV antibody

<400> 217

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser

1 5

<210> 218

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 of exemplary 10E8 anti-HIV antibody

<400> 218

Ser Ser Arg Asp Lys Ser Gly Ser Arg Leu Ser Val

1 5 10

<210> 219

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH1 of exemplary VRC01 anti-HIV antibody

<400> 219

Gly Tyr Glu Phe Ile Asp Cys Thr

1 5

<210> 220

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 of exemplary VRC01 anti-HIV antibody

<400> 220

Lys Pro Arg Gly Gly Ala Val Asn

1 5

<210> 221

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 of exemplary VRC01 anti-HIV antibody

<400> 221

Arg Gly Lys Asn Cys Asp Tyr Asn Trp Asp Phe Glu His Trp

1 5 10

<210> 222

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 of exemplary VRC01 anti-HIV antibody

<400> 222

Gln Gln Tyr Glu Phe

1 5

<210> 223

<211> 30

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH1 of exemplary anti-Dengue virus antibody

<400> 223

Glu Val Gln Leu His Gln Ser Gly Ala Glu Leu Val Lys Pro Gly Ala

1                    5                    10                    15  
Ser Val Lys Leu Ser Cys Thr Val Ser Gly Phe Asn Ile Lys

20                    25                    30  
<210> 224  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> CDRH2 of exemplary anti-Dengue virus antibody  
<400> 224

Trp Val Lys Gln Arg Pro Glu Gln Gly Leu Glu Trp Ile

1                    5                    10  
<210> 225  
<211> 31  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> CDRH3 of exemplary anti-Dengue virus antibody  
<400> 225

Ala Thr Ile Lys Ala Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr Leu Gln Leu

1                    5                    10                    15  
Ile Ser Leu Thr Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Phe  
20                    25                    30

<210> 226  
<211> 23  
<212> PRT  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> CDRL1 of exemplary anti-Dengue virus antibody  
<400> 226

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ser Val Ser Val Gly

1                    5                    10                    15  
Glu Thr Val Thr Ile Thr Cys  
20

<210> 227

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 of exemplary anti-Dengue virus antibody

<400> 227

Trp Tyr Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr

1 5 10 15

<210> 228

<211> 32

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 of exemplary anti-Dengue virus antibody

<400> 228

Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Gln Tyr Ser

1 5 10 15

Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Ser Glu Asp Phe Gly Thr Tyr Tyr Cys

20 25 30

<210> 229

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH1 of exemplary anti-Dengue virus antibody

<400> 229

Tyr Thr Phe Thr Asp Tyr Ala Ile Thr

1 5

<210> 230

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 of exemplary anti-Dengue virus antibody

<400> 230

Gly Leu Ile Ser Thr Tyr Tyr Gly Asp Ser Phe Tyr Asn Gln Lys Phe

1 5 10 15

Lys Gly

<210> 231

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 of exemplary anti-Dengue virus antibody

<400> 231

Thr Ile Arg Asp Gly Lys Ala Met Asp Tyr

1 5 10

<210> 232

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 of exemplary anti-Dengue virus antibody

<400> 232

Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val His Ser Asn Gly Asn Thr Tyr Leu His

1 5 10 15

<210> 233

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 of exemplary anti-Dengue virus antibody

<400> 233

Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser

1 5

<210> 234

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 of exemplary anti-Dengue virus antibody

<400> 234

Ser Gln Ser Thr His Val Pro Tyr Thr

1 5

<210> 235

<211> 118

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> variable heavy chain of exemplary pertussis antibody

<400> 235

Gln Val Gln Leu Gln Gln Pro Gly Ser Glu Leu Val Arg Pro Gly Ala

1 5 10 15

Ser Val Lys Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Lys Phe Thr Ser Tyr

20 25 30

Trp Met His Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile

35 40 45

Gly Asn Ile Phe Pro Gly Ser Gly Ser Thr Asn Tyr Asp Glu Lys Phe

50 55 60

Asn Ser Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Asn Thr Ala Tyr

65 70 75 80

Met Gln Leu Ser Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Thr Arg Trp Leu Ser Gly Ala Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

100 105 110

Thr Val Thr Val Ser Ser

115

<210> 236

<211> 106

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> variable light chain of exemplary pertussis antibody

<400> 236

Gln Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Leu Met Ser Ala Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Ser Phe Met

20 25 30

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Arg Ser Ser Pro Lys Pro Trp Ile Tyr

35

40

45

Leu Thr Ser Asn Leu Pro Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser

50

55

60

Gly Ser Gly Thr Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Met Glu Ala Glu

65

70

75

80

Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Trp Ser Ser His Pro Pro Thr

85

90

95

Phe Gly Ser Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys

100

105

<210> 237

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH1 of exemplary anti-hepatitis C antibody

<400> 237

Ser Tyr Gly Met His Trp

1

5

<210> 238

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 of exemplary anti-hepatitis C antibody

<400> 238

Val Ile Trp Leu Asp Gly Ser Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1

5

10

15

Gly Arg

<210> 239

<211> 17

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence



<220><223> CDRH3 of exemplary anti-hepatitis C antibody

<400> 239

Ala Arg Asp Ile Phe Thr Val Ala Arg Gly Val Ile Ile Tyr Phe Asp

1 5 10 15

Tyr

<210> 240

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 of exemplary anti-hepatitis C antibody

<400> 240

Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Tyr Leu Ala

1 5 10

<210> 241

<211> 7

<

212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 of exemplary anti-hepatitis C antibody

<400> 241

Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr

1 5

<210> 242

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 of exemplary anti-hepatitis C antibody

<400> 242

Gln Gln Arg Ser Asn Trp Val Thr

1 5

<210> 243

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH1 of exemplary anti-influenza virus antibody

<400>

> 243

Gly Met Thr Ser Asn Ser Leu Ala

1 5

<210> 244

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 of exemplary anti-influenza virus antibody

<400> 244

Ile Ile Pro Val Phe Glu Thr Pro

1 5

<210> 245

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 of exemplary anti-influenza virus antibody

<400> 245

Ala Thr Ser Ala Gly Gly Ile Val Asn Tyr Tyr Leu Ser Phe Asn Ile

1 5 10 15

<210> 246

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 of exemplary anti-influenza virus antibody

<400> 246

Gln Thr Ile Thr Thr Trp

1 5

<210> 247

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 of exemplary anti-influenza virus antibody

<400> 247

Gln Gln Tyr Ser Thr Tyr Ser Gly Thr

1 5

<210> 248

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH1 of exemplary anti-EBV AMMO1 antibody

<400> 248

Tyr Thr Phe Ile His Phe Gly Ile Ser Trp

1 5 10

<210> 249

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 of exemplary anti-EBV AMMO1 antibody

<400> 249

Ile Asp Thr Asn Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Ser Leu Gln Gly

1 5 10 15

<210> 250

<211> 15

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 of exemplary anti-EBV AMMO1 antibody

<400> 250

Arg Ala Leu Glu Met Gly His Arg Ser Gly Phe Pro Phe Asp Tyr

1 5 10 15

<210> 251

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 of exemplary anti-EBV AMMO1 antibody

<400> 251

Gly Gly His Asn Ile Gly Ala Lys Asn Val His

1 5 10

<210> 252

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 of exemplary anti-EBV AMMO1 antibody

<400> 252

Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser

1 5

<210> 253

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 of exemplary anti-EBV AMMO1 antibody

<400> 253

Cys Gln Val Trp Asp Ser Gly Arg Gly His Pro Leu Tyr Val

1 5 10

<210> 254

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> beginning of heavy chain of infliximab

<400> 254

Glu Val Lys Leu Glu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

Ser Met Lys

<210> 255

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> beginning of light chain of infliximab

<400> 255

Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Leu Ser Val Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Arg

<210> 256

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH1 of exemplary infliximab

<400> 256

Ile Phe Ser Asn His Trp

1 5

<210> 257

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 of exemplary infliximab

<400> 257

Arg Ser Lys Ser Ile Asn Ser Ala Thr His

1 5 10

<210> 258

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 of exemplary infliximab

<400> 258

Asn Tyr Tyr Gly Ser Thr Tyr

1 5

<210> 259

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 of exemplary infliximab

<400> 259

Phe Val Gly Ser Ser Ile His

1 5

<210

> 260

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 of exemplary infliximab

<400> 260

Lys Tyr Ala Ser Glu Ser Met

1 5

<210> 261

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 of exemplary infliximab

<400> 261

Gln Ser His Ser Trp

1 5

<210> 262

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH1 of exemplary adalimumab

<400> 262

Thr Phe Asp Asp Tyr Ala

1 5

<210> 263

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH2 of exemplary adalimumab

<400> 263

Thr Trp Asn Ser Gly His Ile Asp

1 5

<210> 264

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRH3 of exemplary adalimumab

<400> 264

Val Ser Tyr Leu Ser Thr Ala Ser Ser Leu

1 5 10

<210> 265

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL1 of exemplary adalimumab

<400>

> 265

Gly Ile Arg Asn Tyr Leu Ala

1 5

<210> 266

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 of exemplary adalimumab

<400> 266

Tyr Ala Ala Ser Thr Leu Gln

1 5

<210> 267

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 of exemplary adalimumab

<400> 267

Arg Tyr Asn Arg Ala

1 5



<210> 268  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> CDRH1 of exemplary certolizumab

<400> 268  
 Val Phe Thr Asp Tyr Gly  
 1 5

<210> 269  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> CDRH2 of exemplary certolizumab  
 <400> 269

Asn Thr Tyr Ile Gly Glu Pro Ile  
 1 5

<210> 270  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> CDRH3 of exemplary certolizumab  
 <400> 270

Gly Tyr Arg Ser Tyr Ala Met  
 1 5

<210> 271  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Artificial Sequence

<  
 <220><223> CDRL1 of exemplary certolizumab

<400> 271  
 Asn Val Gly Thr Asn Val Ala

1 5  
 <210> 272

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL2 of exemplary certolizumab

<400> 272

Tyr Ser Ala Ser Phe Leu Tyr

1 5

<210> 273

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> CDRL3 of exemplary certolizumab

<400> 273

Gln Tyr Asn Ile Tyr

1 5

<210> 274

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mouse forward oligo for amplification of region flanking cut site

<400> 274

gggtccacca gacctctcta 20

<210> 275

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mouse reverse oligo for amplification of region flanking cut site

<400> 275

aacctcagtc accgtctcct 20

<210> 276

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223>

human forward oligo for amplification of region flanking cut site

<400> 276

acagtaagca tgcctcctaa g 21

<210> 277

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> human reverse oligo for amplification of region flanking cut site

<400> 277

gccactctag ggcctttgtt 20

<210> 278

<211> 65

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mouse forward primer to amplify anti-RSV-emAb template

<400> 278

accacctctg tgacagcatt tatacagtat ccgatggaca agtgagtgtc tcaggttagg 60

attct 65

<210> 279

<211> 61

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mouse reverse primer to amplify anti-RSV-emAb template

<400> 279

taaagaaagt gcccactcc actctttgtc cctatgcttg accacaatga atactccac 60

c 61

<210> 280

<211> 639

<212> DNA

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> hRSV light chain coding sequence without signal sequence in human

anti-RSV emAb AAV

<400> 280

gacatccaga tgacacagag ccctagcaca ctgtctgccg gcgtgggcga cagagtgacc 60  
atcacatgca agtgccagct gagcgtgggc tacatgcact ggtatcagca aaagcccggc 120  
aaggccccta agctgtgat ctacgatacc tccaagctgg cctctggcgt gccctccaga 180  
ttttctggca gcggcagcgg aaccgagttc accctgacca tctcaagcct gcagcctgac 240  
gacttcgcta cgtactactg cttccaaggc agcggctacc cttcacatt tggcggcgga 300

acaaagctgg aaatcaagcg gactgtggcc gtccttagcg tgttcattt tccacctagc 360  
gacgagcagc tgaagtctgg cactgcctct gtcgtgtgcc tgctgaacaa cttctaccct 420  
cgagaggcca aggtgcagtg gaaagtggac aatgccctgc agagcggcaa cagccaagag 480  
tctgtgaccg agcaggactc caaggattcc acctacagcc tgtctagcac cctgactctg 540  
agcaaggccg actacgagaa gcacaaggtg tacgcctgcg aagtgcaca ccagggactg 600  
agcagccctg tgaccaagag cttcaatcgg ggcgagtgc 639

<210> 281

<211> 636

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> mRSV kappa light chain coding sequence without signal sequence in  
mouse anti-RSV emAb AAV

<400> 281

gacatccagc tgacacagag ccctgccatc atgtctgcta gccctggcga gaaagtgaca 60  
atgacctgtt ccgccagcag ctccgtgggc tacatgcact ggtatcagca gaagtctagc 120  
acaagcccca agctgtggat ctacgacacc tccaagctgg cctctggcgt gccaggcaga 180  
ttttctggaa gcggcagcgg caacagctac agcctgacta tcagctccat ccaggccgag 240  
gatgtggcta cctactactg cttcagaggc agcggctacc cttcacatt tggccagggc 300  
accaagctgg aaatcaagcg cgatgccgct cctaccgtgt ctatctttcc acctagcagc 360

gagcagctga catctggcgg agcctctgtc gtgtgcttcc tgaacaactt ctaccctaag 420  
gacatcaacg tcaagtggaa gatcgacggc tccgagagac agaacggcgt gctgaactct 480  
tggaccgacc aggacagcaa ggatagcacc tacagcatga gcagcactct gaccctgaca 540  
aaggacgagt acgagaggca caactcctac acatgcgagg ccacacacaa gaccagcaca 600  
tccccaatcg tgaagtcctt caaccggaac gagtgc 636

<210> 282

<211> 630

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> VRC01 light chain coding sequence without signal sequence in

Hu-emAb-VRC01-AAV

<400> 282

```
gaaattgtgt tgacacagtc tccaggcacc ctgtctttgt ctccagggga aacagccatc      60
atctcttgtc ggaccagtca gtatggttcc ttagcctggg atcaacagag gcccggccag      120
gccccaggc tcgtcatcta ttcgggctct actcgggccg ctggcatccc agacaggttc      180
agcggcagtc ggtgggggcc agactacaat ctcacatca gcaacctgga gtcgggagat      240
tttgggtgtt attattgcca gcagtatgaa ttttttggcc aggggaccaa ggtccaggtc      300
gacattaagc gcactgtggc cgctcctagc gtgttcatct ttccacctag cgacgagcag      360
ctgaagtctg gcactgcctc tgtcgtgtgc ctgctgaaca acttctaccc tcgagaggcc      420
```

```
aaggtgcagt ggaaagtgga caatgccctg cagagcggca acagccaaga gtctgtgacc      480
gagcaggact ccaaggattc cacctacagc ctgtctagca ccctgactct gagcaaggcc      540
gactacgaga agcacaaggt gtacgcctgc gaagtgcac accagggact gagcagccct      600
gtgaccaaga gcttcaatcg gggcgagtgc      630
```

<210> 283

<211> 630

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Medi8852 light chain coding sequence without signal sequence in

hu-emAb-Medi8852-AAV

<400> 283

```
gatattcaga tgacctagag cccttcagc ctgtccgctt cagtggggga tcgagtgacc      60

attacctgcc gaaccagcca gacctgagc tcctacagc actggtatca gcagaagccc      120
ggcaaagccc ctaagctgct gatctacgcc gcttctagtc ggggtccgg agtgccaagc      180
cggttctccg gatctgggag tggaaccgac ttaccctga caattcaag cctgcagccc      240
gaggatttcg ctacatacta ctgtcagcag agcagaactt tcgggcaggg cactaagggtg      300
gagatcaaac ggactgtggc cgctcctagc gtgttcatct ttccacctag cgacgagcag      360
ctgaagtctg gcactgcctc tgtcgtgtgc ctgctgaaca acttctaccc tcgagaggcc      420
aaggtgcagt ggaaagtgga caatgccctg cagagcggca acagccaaga gtctgtgacc      480

gagcaggact ccaaggattc cacctacagc ctgtctagca ccctgactct gagcaaggcc      540
```

gactacgaga agcacaaggt gtacgcctgc gaagtgcac accagggact gagcagccct 600

gtgaccaaga gcttcaatcg gggcgagtgc 630

<210> 284

<211> 648

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AMM01 light chain coding sequence without signal sequence in  
hu-emAb-AMM01-AAV

<400> 284

tcctatgagc tgactcagcc accctcagtgc tcagtggccc cggggcagag ggccacaatt 60

acctgtgggg gacacaacat cggagctaaa aatgtccact ggtaccagca gaagccaggc 120

caggcccttg tcttggtcat ccaatatgat agcgaccggc cctcagggat ccctgagcga 180

ttctctggct ccaactctgg gagcacggcc accctgacca tcagcagggt cgaagccggg 240

gatgaggcgg actattactg tcaggtgtgg gatagtggtc gtgggcatcc cctttatgtc 300

ttcggagggtg ggaccaaggt caccgtccta ggtcagccca aggccaaccc cactgtcact 360

ctgttccac cctcagatga ggagcttcaa gccaacaagg ccacactggt gtgtctcata 420

agtgacttct acccgggagc cgtgacagtgc gcctggaagg cagatagcag ccccgtaag 480

gcgggagtgg agaccaccac accctccaaa caaagcaaca acaagtacgc ggccagcagc 540

tacctgagcc tgacgcctga gcagtggaag tcccacagaa gctacagctg ccaggtcacg 600

catgaaggga gcaccgtgga gaagacagtgc gccctacag aatgttca 648

<210> 285

<211> 213

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> hRSV light chain amino acid sequence without signal peptide in  
human anti-RSV emAb AAV

<400> 285

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Cys Gln Leu Ser Val Gly Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr

35 40 45  
 Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser  
 50 55 60  
 Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Asp  
 65 70 75 80  
 Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Gln Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr

85 90 95  
 Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro  
 100 105 110  
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr  
 115 120 125  
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys  
 130 135 140  
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu

145 150 155 160  
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser  
 165 170 175  
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala  
 180 185 190  
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe  
 195 200 205  
 Asn Arg Gly Glu Cys

210

<210

> 286

<211> 212

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> mRSV kappa light chain amino acid sequence without signal peptide  
 in mouse anti-RSV emAb AAV

<400> 286

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ile Met Ser Ala Ser Pro Gly  
 1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Met Thr Cys Ser Ala Ser Ser Ser Val Gly Tyr Met

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Ser Thr Ser Pro Lys Leu Trp Ile Tyr

35 40 45

Asp Thr Ser Lys Leu Ala Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Gly Ser Gly Asn Ser Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Ile Gln Ala Glu

65 70 75 80

Asp Val Ala Thr Tyr Tyr Cys Phe Arg Gly Ser Gly Tyr Pro Phe Thr

85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Ala Asp Ala Ala Pro Thr

100 105 110

Val Ser Ile Phe Pro Pro Ser Ser Glu Gln Leu Thr Ser Gly Gly Ala

115 120 125

Ser Val Val Cys Phe Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Lys Asp Ile Asn Val

130 135 140

Lys Trp Lys Ile Asp Gly Ser Glu Arg Gln Asn Gly Val Leu Asn Ser

145 150 155 160

Trp Thr Asp Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Met Ser Ser Thr

165 170 175

Leu Thr Leu Thr Lys Asp Glu Tyr Glu Arg His Asn Ser Tyr Thr Cys

180 185 190

Glu Ala Thr His Lys Thr Ser Thr Ser Pro Ile Val Lys Ser Phe Asn

195 200 205

Arg Asn Glu Cys

210

<210> 287

<211> 210

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> VRC01 light chain amino acid sequence without signal peptide in



Hu-emAb-VRC01-AAV

<400> 287

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Gly Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly

1 5 10 15

Glu Thr Ala Ile Ile Ser Cys Arg Thr Ser Gln Tyr Gly Ser Leu Ala

20 25 30

Trp Tyr Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Val Ile Tyr Ser

35 40 45

Gly Ser Thr Arg Ala Ala Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Arg

50 55 60

Trp Gly Pro Asp Tyr Asn Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Ser Gly Asp

65 70 75 80

Phe Gly Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Glu Phe Phe Gly Gln Gly Thr

85 90 95

Lys Val Gln Val Asp Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe

100 105 110

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val

115 120 125

Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp

130 135 140

Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr

145 150 155 160

Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr

165 170 175

Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val

180 185 190

Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly

195 200 205

Glu Cys

210

<210> 288

<211> 210

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Medi8852 light chain amino acid sequence without signal peptide

in hu-emAb-Medi8852-AAV

<400> 288

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Thr Ser Gln Ser Leu Ser Ser Tyr

20 25 30

Thr His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Arg Gly Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Arg Thr Phe Gly Gln

85 90 95

Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe

100 105 110

Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val

115 120 125

Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp

130 135 140

Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr

145 150 155 160

Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr

165 170 175

Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val

180 185 190

Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly

195 200 205

Glu Cys

210

<210> 289

<211> 216

<212>

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> AMM01 light chain amino acid sequence without signal peptide in  
hu-emAb-AMM01-AAV

<400> 289

Ser Tyr Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Gln

1 5 10 15

Arg Ala Thr Ile Thr Cys Gly Gly His Asn Ile Gly Ala Lys Asn Val

20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Gln

35 40 45

Tyr Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser

50 55 60

Asn Ser Gly Ser Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Val Glu Ala Gly

65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Gly Arg Gly His

85 90 95

Pro Leu Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly Gln

100 105 110

Pro Lys Ala Asn Pro Thr Val Thr Leu Phe Pro Pro Ser Ser Glu Glu

115 120 125

Leu Gln Ala Asn Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu Ile Ser Asp Phe Tyr

130 135 140

Pro Gly Ala Val Thr Val Ala Trp Lys Ala Asp Ser Ser Pro Val Lys

145 150 155 160

Ala Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Ser Lys Gln Ser Asn Asn Lys Tyr

165 170 175

Ala Ala Ser Ser Tyr Leu Ser Leu Thr Pro Glu Gln Trp Lys Ser His

180	185	190	
Arg Ser Tyr Ser Cys Gln Val Thr His Glu Gly Ser Thr Val Glu Lys			
195	200	205	
Thr Val Ala Pro Thr Glu Cys Ser			
210	215		
<210> 290			
<211> 20			
<212> RNA			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Human _1_gRNA_1 from FIG. 11B			
<400> 290			
gguccucggg gcauguuccg			20
<210> 291			
<211> 20			
<212> RNA			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Human _1_gRNA_2 from FIG. 11B			
<400> 291			
gggcauguuc cgaggggacc			20
<210> 292			
<211> 20			
<212> RNA			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Human _1_gRNA_4 from FIG. 11B			
<400> 292			
uccucggggc auguuccgag			20
<210> 293			
<211> 20			
<212> RNA			
<213> Artificial Sequence			
<220><223> Human _1_gRNA_5 from FIG. 11B			
<400> 293			
ggcauguucc gaggggaccu			20

<210> 294  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Human \_1\_gRNA\_7 from FIG. 11B  
 <400> 294  
 agcauugcag guugguccuc 20  
 <210> 295  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Human \_1\_gRNA\_8 from FIG. 11B  
 <400> 295  
 ccugggcgga cuggccagga 20  
 <210> 296  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Human \_1\_gRNA\_9 from FIG. 11B  
 <400> 296  
 acuggggugc cuugaggau 20  
 <210> 297  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Human \_1\_gRNA\_10 from FIG. 11B  
 <400> 297  
 cccagugcc caucccucc 20  
 <210> 298  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Human \_1\_gRNA\_11 from FIG. 11B  
 <400> 298

cuaagacccc ugguuuguuc 20

<210> 299

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human \_1\_gRNA\_12 from FIG. 11B

<400> 299

uguggauuuu ccgaugccuu 20

<210> 300

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human \_1\_gRNA\_13 from FIG. 11B

<400> 300

aggaccaacc ugcaaugcuc 20

<210> 301

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human \_1\_gRNA\_14 from FIG. 11B

<400> 301

cucagguugg gugcgucuga 20

<210> 302

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human \_1\_gRNA\_15

<400> 302

cccuccuggc caguccgccc 20

<210> 303

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human \_1\_gRNA\_16 from FIG. 11B

<400> 303

ggccaggagg ggaugggcac

20

<210> 304

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human \_1\_gRNA\_17

<400> 304

gagaugccug aacaaccag

20

<210> 305

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human \_1\_gRNA\_18 from FIG. 11B

<400> 305

aggggucuaa gugauggcug

20

<210> 306

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human \_1\_gRNA\_19 from FIG. 11B

<400> 306

augggcacug gggugccuug

20

<210> 307

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human \_1\_gRNA\_20 from FIG. 11B

<400> 307

uuccgaugcc uuuggaaaau

20

<210> 308

<211> 20

<212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Human\_2\_gRNA\_1 from FIG. 12B  
 <400> 308  
 cugacgccgc aucggugauu 20  
 <210> 309  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Human\_2\_gRNA\_2 from FIG. 12B  
 <  
 400> 309  
 uuagacaagg gcgaugccag 20  
 <210> 310  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Human\_2\_gRNA\_3 from FIG. 12B  
 <400> 310  
 cgugcgaccu cuccuucaaa 20  
 <210> 311  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Human\_2\_gRNA\_4 from FIG. 12B  
 <400> 311  
 agcauauuu cugcaccaag 20  
 <210> 312  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Human\_2\_gRNA\_5 from FIG. 12B  
 <400> 312  
 auauuccacc cagguagugg 20



<210> 313

<211> 20

<212> RNA

### <213> Artificial Sequence

<220><223> Human\_2\_gRNA\_6 from FIG. 12B

<400> 313

gugcgaccuc uccuucaau

20

<210> 314

<211> 20

<212> RNA

### <213> Artificial Sequence

<220><223> Human\_2\_gRNA\_7 from FIG. 12B

<400> 314

agguccccuu gcucuagaag

20

<210> 315

<211> 20

<212> RNA

### <213> Artificial Sequence

<220><223> Human\_2\_gRNA\_8 from FIG. 12B

<400> 315

cucuagauaa cagucauau

20

<210> 316

<211> 20

<212> RNA

### <213> Artificial Sequence

<220><223> Human\_2\_gRNA\_9 from FIG. 12B

<400> 316

uugucuaagu cauugacugu

20

<210> 317

<211> 20

<212> RNA

### <213> Artificial Sequence

<220><223> Human\_2\_gRNA\_10 from FIG. 12B

<400

> 317  
 ccaaagcgau uuaugguaaa 20  
 <210> 318  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Human\_2\_gRNA\_11 from FIG. 12B  
 <400> 318  
 uuuuuugagu gaccuuuguc 20  
 <210> 319  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Human\_2\_gRNA\_12 from FIG. 12B  
 <400> 319  
 ccuuuuacca uaaaucgcuu 20  
 <210> 320  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Human\_2\_gRNA\_13 from FIG. 12B  
 <400> 320  
 agggcgauhc caguggggcu 20  
 <210> 321  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Human\_2\_gRNA\_14 from FIG. 12B  
 <400> 321  
 agcuaaagcc aucuauugc 20  
 <210> 322  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence

<220><223> Human\_2\_gRNA\_15 from FIG. 12B

<400> 322

ccacaaccuc ugaauaggga

20

<210> 323

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human\_2\_gRNA\_16 from FIG. 12B

<400> 323

uuauugcuu gaugaagagc

20

<210> 324

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human\_2\_gRNA\_17 from FIG. 12B

<400> 324

uagacaaggc cgaugccagu

20

<210> 325

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human\_2\_gRNA\_18 from FIG. 12B

<400> 325

aagcugaccu agacuaaaca

20

<210> 326

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human\_2\_gRNA\_19 from FIG. 12B

<400> 326

gcaggaaccc ggcaaugaga

20

<210> 327

<211> 20

<212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Human\_2\_gRNA\_20 from FIG. 12B  
 <400> 327  
 ucuguuccga aucaccgaug 20  
 <210> 328  
 <211> 20  
  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Mouse\_1\_gRNA\_1 from FIG. 13B  
 <400> 328  
 caacuacccu uuugagaccg 20  
 <210> 329  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Mouse\_1\_gRNA\_3 from FIG. 13B  
 <400> 329  
 uauacaguau ccgaugcaua 20  
 <210> 330  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Mouse\_1\_gRNA\_4 from FIG. 13B  
 <400> 330  
 caucuagccu cggucuaaaa 20  
  
 <210> 331  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Mouse\_1\_gRNA\_5 from FIG. 13B  
 <400> 331  
 cacucuuugu ccuauugcau 20

<210> 332  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Mouse\_1\_gRNA\_6 from FIG. 13B  
 <400> 332  
 aucuagccuc ggucucaaaa 20  
 <210> 333  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Mouse\_1\_gRNA\_7 from FIG. 13B  
 <400>  
 > 333  
 aaguuuuuuu caaucuagug 20  
 <210> 334  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Mouse\_1\_gRNA\_8 from FIG. 13B  
 <400> 334  
 aagaugcuua aacaauccua 20  
 <210> 335  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Mouse\_1\_gRNA\_9 from FIG. 13B  
 <400> 335  
 ugcuaaaaca auccuauggc 20  
 <210> 336  
 <211> 20  
 <212>  
 > RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Mouse\_1\_gRNA\_10 from FIG. 13B

<400> 336  
aagucccuau ccacaucaucc 20  
<210> 337  
<211> 20  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Mouse\_1\_gRNA\_11 from FIG. 13B  
<400> 337  
gggagaaagg caucuagccu 20  
<210> 338  
<211> 20  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Mouse\_1\_gRNA\_12 from FIG. 13B  
<400> 338  
ugagcauugc agacuaaucu 20  
<210> 339  
<211> 20  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Mouse\_1\_gRNA\_13 from FIG. 13B  
<400> 339  
uuaguugugg aaauacuuc 20  
<210> 340  
<211> 20  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> Mouse\_1\_gRNA\_14 from FIG. 13B  
<400> 340  
ugguggaguc ccuggaugau 20  
<210> 341  
<211> 20  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence

<220><223> Mouse\_1\_gRNA\_15 from FIG. 13B

<400> 341

guggagauaa ucuguccuaa 20

<210> 342

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Mouse\_1\_gRNA\_16 from FIG. 13B

<400> 342

agucccuauc ccaucaucca 20

<210> 343

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Mouse\_1\_gRNA\_17 from FIG. 13B

<400> 343

aucuuggaua uuugucccug 20

<210> 344

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Mouse\_1\_gRNA\_18 from FIG. 13B

<400> 344

gggauaguug gggcuguagu 20

<210> 345

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Mouse\_1\_gRNA\_19 from FIG. 13B

<400> 345

cagguaagaa ugccucucc 20

<210> 346

<211> 20

<212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> Mouse\_1\_gRNA\_20 from FIG. 13B  
 <400> 346  
 ucucucagcc ggcucccuca 20  
  
 <210> 347  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_1 from FIG. 14B  
 <400> 347  
 ccgaaaccag gcaccgcaaa 20  
  
 <210> 348  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_2 from FIG. 14B  
 <400> 348  
 caccgcaaa gguagccag 20  
  
 <210> 349  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_3 from FIG. 14B  
  
 <400> 349  
 ggcuuaccu uugcggugcc 20  
  
 <210> 350  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_4 from FIG. 14B  
 <400> 350  
 ugcggugccu gguuucggag 20



<210> 351  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_5 from FIG. 14B  
 <400> 351  
 cagcuaugcu acgcuguguu 20  
 <210> 352  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_6 from FIG. 14B  
 <400> 352  
 aaggacagug cuuagaucg 20  
 <210> 353  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_7 from FIG. 14B  
 <400> 353  
 ucagucaguc agugacguga 20  
 <210> 354  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_8 from FIG. 14B  
 <400> 354  
 caugcugguu ggugguugag 20  
 <210> 355  
 <211> 20  
 <212> RNA  
 <213> Artificial Sequence  
 <220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_9 from FIG. 14B

<400> 355  
ucuuuugagu accguugucu 20  
<210> 356  
<211> 20  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_10 from FIG. 14B  
<400> 356  
uggcccauuc aacaauaagc 20  
<210> 357  
<211> 20  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_11 from FIG. 14B  
<400> 357  
cugggccgcu aagcuaaacu 20  
<210> 358  
<211> 20  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_12 from FIG. 14B  
<400> 358  
gccagccuag uuuagcuuag 20  
<210> 359  
<211> 20  
<212> RNA  
<213> Artificial Sequence  
<220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_13 from FIG. 14B  
<400> 359  
ugaaguagac uguaaugaac 20  
<210> 360  
<211> 20  
<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_14 from FIG. 14B

<400> 360

gaccugggaa uguaugguug

20

<210> 361

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_15 from FIG. 14B

<400> 361

gguauggaua cgcagaagga

20

<210> 362

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_16 from FIG. 14B

<400> 362

guugagagcc cuaguaagcg

20

<210> 363

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_17 from FIG. 14B

<400> 363

gccgcuaagc uaaacuaggc

20

<210> 364

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_18 from FIG. 14B

<400> 364

ucagcuaugc uacgcugugu

20

<210> 365

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_19 from FIG. 14B

<400> 365

uuuuagagcc ucgcuuacua

20

<210> 366

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> MOUSE\_2\_gRNA\_\_20 from FIG. 14B

<400> 366

cucuaugauu auugguuaac

20