



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년09월03일

(11) 등록번호 10-2700956

(24) 등록일자 2024년08월27일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

A61K 38/20 (2006.01) A61K 38/19 (2006.01)
A61K 38/21 (2006.01) A61K 45/06 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01) A61K 9/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 14/535 (2006.01)
C07K 14/54 (2024.01) C07K 14/56 (2006.01)
C12N 15/10 (2017.01)

(52) CPC특허분류

A61K 38/208 (2013.01)
A61K 38/193 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-7028213

(22) 출원일자(국제) 2018년02월27일

심사청구일자 2021년02월26일

(85) 번역문제출일자 2019년09월26일

(65) 공개번호 10-2019-0124750

(43) 공개일자 2019년11월05일

(86) 국제출원번호 PCT/US2018/019878

(87) 국제공개번호 WO 2018/160540

국제공개일자 2018년09월07일

(30) 우선권주장

62/464,981 2017년02월28일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020160010398 A*

WO2014066527 A2*

WO2017027843 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

사노피

프랑스 75017 파리 아브뉴 드 라 그랑 아르메 46

(72) 발명자

기제케, 프리데리케

독일 55131 마인츠 안 데르 골트그루베 12 비온테
크 아게 내

사헌, 우구르

독일 55131 마인츠 안 데르 골트그루베 12 비온테
크 아게 내

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

양영준, 김영

전체 청구항 수 : 총 23 항

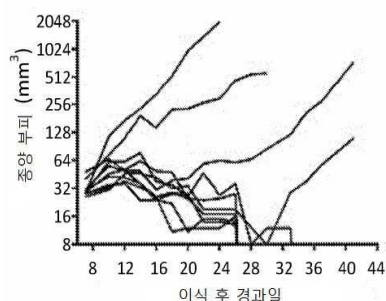
심사관 : 최승희

(54) 발명의 명칭 치료적 RNA

(57) 요약

본 개시는 고형 종양 암 치료를 위한 치료적 RNA의 분야에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61K 38/2086 (2013.01)
A61K 38/212 (2013.01)
A61K 45/06 (2013.01)
A61K 48/005 (2013.01)
A61K 9/0019 (2013.01)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/535 (2013.01)
C07K 14/5434 (2013.01)
C07K 14/5443 (2013.01)

(72) 발명자

위테르세인, 디미트리 지.

미국 08807 뉴저지주 브릿지워터 메일 코드: 55에
이-505에이 코퍼레이트 드라이브 55 사노피 내

와게나르, 티모시 알.

미국 08807 뉴저지주 브릿지워터 메일 코드: 55에
이-505에이 코퍼레이트 드라이브 55 사노피 내

(30) 우선권주장

17306089.8 2017년08월23일
유럽특허청(EPO)(EP)
62/597,527 2017년12월12일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA, IFN α 단백질을 암호화하는 RNA, 및 GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는, 대상체에서 고형 종양을 치료 또는 예방하는 데 사용하기 위한 조성물이며, 여기서

IL-12sc 단백질은 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고;

IL-15 스시 단백질은 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고;

IFN α 단백질은 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고;

GM-CSF 단백질은 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, RNA가 IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA, IFN α 단백질을 암호화하는 RNA, 및 GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA로 이루어진 것인 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서,

(i) IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA가 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나,

(ii) IL-12sc 단백질이 서열번호 14의 아미노산 서열을 포함하거나,

상기 (i) 및 (ii)의 조합인

조성물.

청구항 4

제1항에 있어서,

(i) IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA가 서열번호 26의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 26의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나,

(ii) IL-15 스시 단백질이 서열번호 24의 아미노산 서열을 포함하거나,

상기 (i) 및 (ii)의 조합인

조성물.

청구항 5

제1항에 있어서,

(i) IFN α 단백질을 암호화하는 RNA가 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하거나,

(ii) IFN α 단백질이 서열번호 19의 아미노산 서열을 포함하거나,

상기 (i) 및 (ii)의 조합인

조성물.

청구항 6

제1항에 있어서,

(i) GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA가 서열번호 29의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 29의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하거나,

(ii) GM-CSF 단백질이 서열번호 27의 아미노산 서열을 포함하거나,

상기 (i) 및 (ii)의 조합인

조성물.

청구항 7

제1항에 있어서,

적어도 1종의 RNA가 적어도 하나의 우리딘 대신, 임의로는 각각의 우리딘 대신 개질된 뉴클레오시드를 포함하고,

임의로 각각의 RNA가 적어도 하나의 우리딘 대신, 임의로는 각각의 우리딘 대신 개질된 뉴클레오시드를 포함하는 것인

조성물.

청구항 8

제7항에 있어서, 개질된 뉴클레오시드가 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 및 5-메틸-우리딘(m^5U)으로부터 독립적으로 선택되는 것인 조성물.

청구항 9

제5항에 있어서,

적어도 1종의 RNA가 2가지 이상의 유형의 개질된 뉴클레오시드를 포함하며,

개질된 뉴클레오시드가 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 및 5-메틸-우리딘(m^5U)으로부터 독립적으로 선택되는 것인

조성물.

청구항 10

제1항에 있어서,

적어도 1종의 RNA가 5' 캡 $m_2^{7,3'-0}$ Gppp($m_1^{2'-0}$)ApG 또는 3'-O-Me- $m^7G(5')$ ppp(5')G를 포함하고,

임의로 각각의 RNA가 5' 캡 $m_2^{7,3'-0}$ Gppp($m_1^{2'-0}$)ApG 또는 3'-O-Me- $m^7G(5')$ ppp(5')G를 포함하는 것인

조성물.

청구항 11

제1항에 있어서, 적어도 1종의 RNA, 임의로는 각각의 RNA가

서열번호 2, 4 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열, 또는

서열번호 2, 4 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열

을 포함하는 5' UTR을 포함하는 것인 조성물.

청구항 12

제1항에 있어서, 적어도 1종의 RNA, 임의로는 각각의 RNA가

서열번호 8의 뉴클레오티드 서열, 또는

서열번호 8의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 3' UTR을 포함하는 것인 조성물.

청구항 13

제1항에 있어서,

적어도 1종의 RNA, 임의로는 각각의 RNA가 폴리-A 꼬리를 포함하며,

임의로 폴리-A 꼬리가 적어도 100개의 뉴클레오티드를 포함하거나, 또는

임의로 폴리-A 꼬리가 서열번호 78로 나타낸 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인

조성물.

청구항 14

제1항에 있어서, 1종 이상의 RNA가

a. $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ 또는 $3'-O-Me-m^7G(5')ppp(5')G$ 를 포함하는 5' 캡,

b. (i) 서열번호 2, 4 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열, 또는

(ii) 서열번호 2, 4 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 5' UTR,

c. (i) 서열번호 8의 뉴클레오티드 서열, 또는

(ii) 서열번호 8의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 3' UTR, 및

d. 적어도 100개의 뉴클레오티드를 포함하는 폴리-A 꼬리, 임의로는 서열번호 78을 포함하는 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인 조성물.

청구항 15

제1항에 있어서, RNA를 포함하는 약학적 조성물이며,

임의로 상기 약학적 조성물이 1종 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 또는 부형제를 더 포함하는 것인 조성물.

청구항 16

제1항 내지 제15항 중 어느 한 항에 따른 조성물을 포함하는 키트이며, 임의로 RNA가 개별 바이알에 존재하는 것인 키트.

청구항 17

제1항에 있어서, 추가의 치료제가 사용되며,

임의로 추가의 치료제는 항암 치료제, 임의로는 체크포인트 조절자이고,

임의로 체크포인트 조절자는 항-PD1 항체, 항-CTLA-4 항체, 또는 항-PD1 항체와 항-CTLA-4 항체의 조합물인 조성물.

청구항 18

제1항에 있어서, 고행 종양이 육종, 암종 또는 림프종인 조성물.

청구항 19

제1항에 있어서, 고행 종양이 폐, 결장, 난소, 자궁경부, 자궁, 복막, 고환, 음경, 허, 림프절, 췌장, 뼈, 유방, 전립선, 연조직, 결합조직, 신장, 간, 뇌, 갑상선 또는 피부에 존재하는 것인 조성물.

청구항 20

제1항에 있어서, 고행 종양이 상피성 종양, 호지킨 림프종(HL), 비 호지킨 림프종, 전립선 종양, 난소 종양, 신장세포 종양, 소화관 종양, 간 종양, 결장직장 종양, 맥관 구조가 있는 종양, 중피종 종양, 췌장 종양, 유방 종양, 육종 종양, 폐 종양, 결장 종양, 뇌 종양, 흑색종 종양, 소세포 폐 종양, 신경모세포종 종양, 고환 종양, 암종 종양, 선암종 종양, 신경아교종 종양, 고환종 종양, 망막모세포종 또는 골육종 종양인 조성물.

청구항 21

제1항에 있어서,

RNA가 종양 내 또는 종양 주위로 투여되거나,

RNA가 액체, 고체 또는 이의 조합물로서 제형화되거나,

RNA가 주사를 위해 제형화되거나,

대상체가 인간이거나,

RNA가 동시에 투여되거나,

RNA가 주사를 통해 투여되고, 이때, RNA는 주사 전에 액체 용액 중에서 함께 혼합되거나,

RNA가 RNA의 조합물을 포함하는 조성물을 투여함으로써 투여되거나,

상기 언급된 것의 하나 이상의 조합인

조성물.

청구항 22

IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA, IFN α 단백질을 암호화하는 RNA, 및 GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는, 대상체에서 종양의 크기 감소, 관해(remission) 중인 암의 재발 방지, 또는 암 전이 방지에 사용하기 위한 조성물이며, 여기서

IL-12sc 단백질은 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고;

IL-15 스시 단백질은 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고;

IFN α 단백질은 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고;

GM-CSF 단백질은 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인 조성물.

청구항 23

a. IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하고, 상기 RNA는 IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA, IFN α 단백질을 암호화하는 RNA, 및 GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA와 함께 투여되거나,

b. IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하고, 상기 RNA는 IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, IFN α 단백질을 암호화하는 RNA, 및 GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA와 함께 투여되거나,

c. IFN α 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하고, 상기 RNA는 IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA, IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, 및 GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA와 함께 투여되거나, 또는

d. GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하고, 상기 RNA는 IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA, IFN α

단백질을 암호화하는 RNA, 및 IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA와 함께 투여되는 것인,

대상체에서 고형 종양을 치료 또는 예방하는 데 사용하기 위한 조성물이며, 여기서

IL-12sc 단백질은 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고;

IL-15 스시 단백질은 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고;

IFN α 단백질은 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하고;

GM-CSF 단백질은 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인 조성물.

청구항 24

삭제

청구항 25

삭제

청구항 26

삭제

청구항 27

삭제

청구항 28

삭제

청구항 29

삭제

청구항 30

삭제

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

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 출원은 2017년 2월 28일 출원된 미국 가출원 제62/464,981호; 2017년 12월 12일 출원된 미국 가출원 제 62/597,527호; 및 2017년 8월 23일 출원된 유럽 특허출원 제17306089.8호에 대한 우선권의 이익을 주장하며, 이들 모두는 그 전체가 참조로서 포함된다.

[0002] 본 개시는 고형 종양을 치료하는 치료적 RNA의 분야에 관한 것이다. 국립 암 연구소는 고형 종양을 정상적으로 낭포 또는 액체 영역을 함유하지 않는 비정상적인 조직 덩어리로 정의한다. 고형 종양은 양성 및 악성(암성) 육종, 암종 및 림프종을 포함하고, 뇌, 난소, 유방, 결장 및 기타 조직을 포함한 임의의 조직 또는 기관에 물리적으로 위치할 수 있다. 암은 종종 두 가지 주요 유형인 고형 종양 암과 혈액암으로 나뉜다. 1500만 건 이상의 암이 매년 미국에서 진단되며 미국에서 500,000명 이상이 매년 암으로 사망할 것으로 추정된다.

배경 기술

[0003] 고형 종양 암은 특히 치료가 어렵다. 현재 치료법은 수술, 방사선요법, 면역요법 및 화학요법을 포함한다. 수술은 단독적으로는 작은 국소형 종양을 위한 적절한 치료법일 수 있지만, 대규모 침습 종양 및 대다수 전이성 악성 종양은 보통 수술에 의해 절제 불가능하다. 방사선요법 및 화학요법과 같은 기타 일반적인 치료법은 원치 않는 부작용 및 건강한 세포에 대한 손상과 관련이 있다.

[0004] 수술과 현재의 치료법이 때때로 고형 종양의 별크를 살해할 수 있지만, (잠재적으로 암 줄기세포를 포함한) 추가 세포가 치료법에도 살아남을 수 있다. 이러한 세포들은 시간이 지나면서 새로운 종양을 형성하여 암 재발을 초래할 수 있다. 다중 양식의 통상적인 치료법에도 무병 생존율은 여러 종류의 고형 종양의 경우 25% 미만이다. 다중 양식 치료법에 저항성이거나 치료 후에 재발한 고형 종양은 훨씬 더 치료가 어렵고, 장기간 생존율이 10% 미만이다.

[0005] 현재의 고형 종양의 치료의 단점을 극복할 수 있는 조성물, 용도 및 방법이 본 명세서에 개시된다. 본 명세서에 개시된 치료적 RNA의 투여는 종양 크기를 감소시킬 수 있고/있거나, 생존 기간을 연장할 수 있고/있거나, 종양의 전이 및/또는 재발로부터 보호할 수 있다.

발명의 내용

[0006] 구현예 1. 서열번호 14의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA 및 서열번호 27의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 조성물.

[0007] 구현예 2. 구현예 1에 있어서, 서열번호 24의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 IL-15 스시(sushi) 단백질을 암호화하는 RNA를 더 포함하는 조성물.

[0008] 구현예 3. 구현예 1에 있어서, 서열번호 9의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 IL-2 단백질을 암호화하는 RNA를 더 포함하는 조성물.

[0009] 구현예 4. 구현예 1에 있어서, 서열번호 19의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%,

85%, 또는 80% 동일한 IFN α 2b 단백질을 암호화하는 RNA를 더 포함하는 조성물.

- [0010] 구현예 5. 다음을 포함하는 조성물:
- [0011] a. 서열번호 14의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA;
- [0012] b. 서열번호 27의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA; 및
- [0013] c. 서열번호 19의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 IFN α 2b 단백질을 암호화하는 RNA.
- [0014] 구현예 6. 구현예 5에 있어서, 서열번호 24의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA를 더 포함하는 조성물.
- [0015] 구현예 7. 구현예 5에 있어서, 서열번호 9의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 IL-2 단백질을 암호화하는 RNA를 더 포함하는 조성물.
- [0016] 구현예 8. 구현예 1 내지 7 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 적어도 하나의 우리딘 대신 개질된 핵염기를 포함하는 것인, 조성물.
- [0017] 구현예 9. 구현예 1 내지 7 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 각각의 우리딘 대신 개질된 핵염기를 포함하는 것인, 조성물.
- [0018] 구현예 10. 구현예 8 또는 9에 있어서, 개질된 핵염기는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)인, 조성물.
- [0019] 구현예 11. 구현예 10에 있어서, 개질된 핵염기는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)인, 조성물.
- [0020] 구현예 12. 구현예 1 내지 11 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 5' 캡(cap)을 더 포함하는 것인, 조성물.
- [0021] 구현예 13. 구현예 1 내지 11 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 5' 캡을 더 포함하는 것인, 조성물.
- [0022] 구현예 14. 구현예 12 또는 13에 있어서, 5' 캡은 $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ 또는 $3'-O-Me-m^7G(5')ppp(5')G$ 인, 조성물.
- [0023] 구현예 15. 구현예 1 내지 14 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 5' UTR을 더 포함하는 것인, 조성물.
- [0024] 구현예 16. 구현예 1 내지 14 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 5' UTR을 더 포함하는 것인, 조성물.
- [0025] 구현예 17. 구현예 15 또는 16에 있어서, 5' UTR은 서열번호 2, 4, 또는 6의 뉴클레오티드, 또는 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성되는 것인, 조성물.
- [0026] 구현예 18. 구현예 1 내지 17 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 3' UTR을 더 포함하는 것인, 조성물.
- [0027] 구현예 19. 구현예 1 내지 17 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 3' UTR을 더 포함하는 것인, 조성물.
- [0028] 구현예 20. 구현예 18 또는 19에 있어서, 3' UTR은 서열번호 8의 뉴클레오티드, 또는 서열번호 8에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성되는 것인, 조성물.
- [0029] 구현예 21. 구현예 1 내지 20 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 것인, 조성물.
- [0030] 구현예 22. 구현예 1 내지 20 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 것인, 조성물.

- [0031] 구현예 23. 구현예 21 또는 22에 있어서, 폴리-A 꼬리는 적어도 100개의 뉴클레오타이드를 포함하는 것인, 조성물.
- [0032] 구현예 24. 구현예 1 내지 23 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, 조성물.
- [0033] 구현예 25. 구현예 1 내지 23 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, 조성물.
- [0034] 구현예 26. 구현예 24 또는 25에 있어서,
- [0035] a. 5' 캡은 $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ 또는 $3'-O-Me-m^7G(5')ppp(5')G$ 이고;
- [0036] b. 5' UTR은 서열번호 2, 4, 또는 6의 뉴클레오타이드, 또는 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성되고;
- [0037] c. 3' UTR은 서열번호 8의 뉴클레오타이드, 또는 서열번호 8에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성되고;
- [0038] d. 폴리-A 꼬리는 적어도 100개의 뉴클레오타이드를 포함하는 것인, 조성물.
- [0039] 구현예 27. 대상체에 구현예 1 내지 26 중 어느 한 구현예의 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체의 암 치료 또는 예방, 종양 크기 감소, 관해 중인 암의 재발 방지, 또는 암 전이 방지 방법.
- [0040] 구현예 28. 대상체의 암 치료 또는 예방, 종양 크기 감소, 관해 중인 암의 재발 방지, 또는 암 전이 방지 방법으로,
- [0041] a. 서열번호 14의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 IL-12sc 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA; 및
- [0042] b. 서열번호 27의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 GM-CSF 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 29의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA를 대상체에 투여하여,
- [0043] 대상체의 암을 치료 또는 예방하거나, 종양 크기를 감소시키거나, 관해 중인 암의 재발을 방지하거나, 암 전이를 방지하는 방법.
- [0044] 구현예 29. 구현예 28에 있어서, 서열번호 19의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 IFN α 2b 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA를 투여하는 단계를 더 포함하는 방법.
- [0045] 구현예 30. 구현예 28에 있어서, 서열번호 24의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 IL-15 스시 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 26의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA를 투여하는 단계를 더 포함하는 방법.
- [0046] 구현예 31. 구현예 28에 있어서, 서열번호 9의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 IL-2 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA를 투여하는 단계를 더 포함하는 방법.
- [0047] 구현예 32. 구현예 28에 있어서,
- [0048] a. 서열번호 24의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 IL-15 스시 단백질을 암호화하고/암호화하거나 서열번호 26의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA; 및
- [0049] b. 서열번호 19의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 IFN α 2b

단백질을 암호화하고/암호화하거나 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA를 투여하는 단계를 더 포함하는 방법.

- [0050] 구현예 33. 구현예 28에 있어서,
- [0051] a. 서열번호 9의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 IL-2 단백질을 암호화하고/암호화하거나 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA; 및
- [0052] b. 서열번호 19의 아미노산에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일한 IFN α 2b 단백질을 암호화하고/암호화하거나 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA를 투여하는 단계를 더 포함하는 방법.
- [0053] 구현예 34. 구현예 27 내지 33 중 어느 한 구현예에 있어서, 암은 육종, 암종, 또는 림프종인, 방법.
- [0054] 구현예 35. 구현예 27 내지 33 중 어느 한 구현예에 있어서, 암은 고형 종양인, 방법.
- [0055] 구현예 36. 구현예 35에 있어서, 고형 종양은 폐, 결장, 난소, 자궁경부, 자궁, 복막, 고환, 음경, 혀, 림프절, 췌장, 뼈, 유방, 전립선, 연조직, 결합조직, 신장, 간, 뇌, 갑상선, 또는 피부에 존재하는 것인, 방법.
- [0056] 구현예 37. 구현예 35에 있어서, 고형 종양은 상피성 종양, 호지킨 림프종(HL), 비 호지킨 림프종, 전립선 종양, 난소 종양, 신장세포 종양, 소화관 종양, 간 종양, 결합조직 종양, 맥관 구조가 있는 종양, 중피종 종양, 췌장 종양, 유방 종양, 육종 종양, 폐 종양, 결장 종양, 뇌 종양, 흑색종 종양, 소세포 폐 종양, 신경모세포종, 고환 종양, 암종, 선암종, 신경아교종 종양, 고환종 종양, 망막모세포종, 또는 골육종 종양인, 방법.
- [0057] 구현예 38. 구현예 27 내지 37 중 어느 한 구현예에 있어서, 조성물은 종양 내 또는 종양 주위로 투여되는 것인, 방법.
- [0058] 구현예 39. 구현예 38에 있어서, 주사된 종양 및 비 주사 종양 모두 제1 종양 또는 그 근처로의 종양 내 또는 종양 주위 주사 후에 크기가 감소되는 것인, 방법.
- [0059] 구현예 40. 구현예 27 내지 39 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체는 인간인, 방법.
- [0060] 구현예 41. 구현예 27 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, 또 다른 치료법도 투여되는 것인, 방법.
- [0061] 구현예 42. 구현예 41에 있어서, 다른 치료법은 종양을 절개, 절제, 또는 감량하는 수술인, 방법.
- [0062] 구현예 43. 구현예 41에 있어서, 다른 치료법은 면역요법, 방사선요법 또는 화학요법인, 방법.
- [0063] 구현예 44. 구현예 27 내지 43 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 적어도 하나의 우리딘 대신 개질된 핵염기를 포함하는 것인, 방법.
- [0064] 구현예 45. 구현예 27 내지 43 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 각각의 우리딘 대신 개질된 핵염기를 포함하는 것인, 방법.
- [0065] 구현예 46. 구현예 44 또는 45에 있어서, 개질된 핵염기는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)인, 방법.
- [0066] 구현예 47. 구현예 46에 있어서, 개질된 핵염기는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)인, 방법.
- [0067] 구현예 48. 구현예 27 내지 47 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 5' 캡을 더 포함하는 것인, 방법.
- [0068] 구현예 49. 구현예 27 내지 47 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 5' 캡을 더 포함하는 것인, 방법.
- [0069] 구현예 50. 구현예 48 또는 49에 있어서, 5' 캡은 $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ 또는 $3'-O-Me-m^7G(5')ppp(5')G$ 인, 방법.
- [0070] 구현예 51. 구현예 27 내지 50 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 5' UTR을 더 포함하는 것인, 방법.
- [0071] 구현예 52. 구현예 27 내지 50 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 5' UTR을 더 포함하는 것인, 방법.

- [0072] 구현예 53. 구현예 51 또는 52에 있어서, 5' UTR은 서열번호 2, 4, 또는 6의 뉴클레오티드, 또는 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성되는 것인, 방법.
- [0073] 구현예 54. 구현예 27 내지 54 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 3' UTR을 더 포함하는 것인, 방법.
- [0074] 구현예 55. 구현예 27 내지 54 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 3' UTR을 더 포함하는 것인, 방법.
- [0075] 구현예 56. 구현예 54 또는 55에 있어서, 3' UTR은 서열번호 8의 뉴클레오티드, 또는 서열번호 8에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성되는 것인, 방법.
- [0076] 구현예 57. 구현예 27 내지 56 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 것인, 방법.
- [0077] 구현예 58. 구현예 27 내지 56 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 것인, 방법.
- [0078] 구현예 59. 구현예 57 또는 58에 있어서, 폴리-A 꼬리는 적어도 100개의 뉴클레오티드를 포함하는 것인, 방법.
- [0079] 구현예 60. 구현예 27 내지 59 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, 방법.
- [0080] 구현예 61. 구현예 27 내지 59 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, 방법.
- [0081] 구현예 62. 구현예 60 또는 61에 있어서,
- [0082] a. 5' 캡은 $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ 또는 $3'-O-Me-m^7G(5')ppp(5')G$ 이고;
- [0083] b. 5' UTR은 서열번호 2, 4, 또는 6의 뉴클레오티드, 또는 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성되고;
- [0084] c. 3' UTR은 서열번호 8의 뉴클레오티드, 또는 서열번호 8에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성되고;
- [0085] d. 폴리-A 꼬리는 적어도 100개의 뉴클레오티드를 포함하는 것인, 방법.
- [0086] 구현예 63. 서열번호 11에 대해 적어도 83% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 코돈 최적화 DNA.
- [0087] 구현예 64. 구현예 63에 있어서, 서열번호 11에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA.
- [0088] 구현예 65. 서열번호 13에 대해 적어도 83% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 코돈 최적화 RNA.
- [0089] 구현예 66. 구현예 65에 있어서, 서열번호 13에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 RNA.
- [0090] 구현예 67. 구현예 63 또는 64의 DNA로부터 생성된 RNA.
- [0091] 구현예 68. 코돈 최적화 DNA로서,
- [0092] a. 서열번호 16의 뉴클레오티드 1 내지 984에 대해 적어도 78% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오티드;
- [0093] b. 서열번호 16의 뉴클레오티드 1027 내지 1623에 대해 적어도 81% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오티드; 및
- [0094] c. a) 및 b)의 뉴클레오티드 사이의 링커를 암호화하는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA.

- [0095] 구현예 69. 구현예 68에 있어서, 링커는 서열번호 16의 뉴클레오타이드 985 내지 1026을 포함하는 것인, DNA.
- [0096] 구현예 70. 구현예 68 또는 69에 있어서, 부분 a)는 서열번호 16의 뉴클레오타이드 1 내지 984에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80%, 또는 75% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드를 포함하고; 부분 b)는 서열번호 16의 뉴클레오타이드 1027 내지 1623에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드를 포함하는 것인, DNA.
- [0097] 구현예 71. 코돈 최적화 RNA로서,
- [0098] a. 서열번호 18의 뉴클레오타이드 1 내지 984에 대해 적어도 78% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드;
- [0099] b. 서열번호 18의 뉴클레오타이드 1027 내지 1623에 대해 적어도 81% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드; 및
- [0100] c. a) 및 b)의 뉴클레오타이드 사이의 링커를 암호화하는 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성된 RNA.
- [0101] 구현예 72. 구현예 71에 있어서, 링커는 서열번호 18의 뉴클레오타이드 985 내지 1026을 포함하는 것인, RNA.
- [0102] 구현예 73. 구현예 71 또는 72에 있어서, 부분 a)는 서열번호 18의 뉴클레오타이드 1 내지 984에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80%, 또는 75% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드를 포함하고; 부분 b)는 서열번호 18의 뉴클레오타이드 1027 내지 1623에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드를 포함하는 것인, RNA.
- [0103] 구현예 74. 구현예 68 내지 70 중 어느 한 구현예의 DNA로부터 생성된 RNA.
- [0104] 구현예 75. 서열번호 21에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성된 코돈 최적화 DNA.
- [0105] 구현예 76. 구현예 75에 있어서, 서열번호 21에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성된 DNA.
- [0106] 구현예 77. 서열번호 23에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성된 코돈 최적화 RNA.
- [0107] 구현예 78. 구현예 77에 있어서, 서열번호 23에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성된 RNA.
- [0108] 구현예 79. 구현예 75 또는 76의 DNA로부터 생성된 RNA.
- [0109] 구현예 80. DNA로서,
- [0110] a. 서열번호 25의 뉴클레오타이드 1 내지 321에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오타이드;
- [0111] b. 서열번호 25의 뉴클레오타이드 382 내지 729에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오타이드; 및
- [0112] c. a) 및 b)의 뉴클레오타이드 사이의 링커를 암호화하는 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성된 DNA.
- [0113] 구현예 81. 구현예 80의 DNA로부터 생성된 RNA.
- [0114] 구현예 82. RNA로서,
- [0115] a. 서열번호 26의 뉴클레오타이드 1 내지 321에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오타이드;
- [0116] b. 서열번호 26의 뉴클레오타이드 382 내지 729에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오타이드; 및
- [0117] c. a) 및 b)의 뉴클레오타이드 사이의 링커를 암호화하는 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성된 RNA.
- [0118] 구현예 83. 서열번호 28에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 인접한

뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA.

- [0119] 구현예 84. 구현예 83의 DNA로부터 생성된 RNA.
- [0120] 구현예 85. 서열번호 29에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 RNA.
- [0121] 구현예 86. 구현예 67, 74, 79, 81, 및 84 중 어느 한 구현예에 있어서, RNA는 시험관 내에서 DNA로부터 전사되는 것인, RNA.
- [0122] 구현예 87. 구현예 65 내지 67, 71 내지 74, 78 내지 79, 81 내지 82, 및 84 내지 85 중 어느 한 구현예에서, 적어도 하나의 우리딘은 개질된 핵염기로 교체되는 것인, RNA.
- [0123] 구현예 88. 구현예 65 내지 67, 71 내지 74, 78 내지 79, 81 내지 82, 및 84 내지 85 중 어느 한 구현예에서, 각 우리딘은 개질된 핵염기로 교체되는 것인, RNA.
- [0124] 구현예 89. 구현예 87 또는 88에 있어서, 개질된 핵염기는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)인, RNA.
- [0125] 구현예 90. 구현예 89에 있어서, 개질된 핵염기는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)인, RNA.
- [0126] 구현예 91. 구현예 65 내지 67, 71 내지 74, 78 내지 79, 81 내지 82, 및 84 내지 90 중 어느 한 구현예에서, 5' 캡을 더 포함하는, RNA.
- [0127] 구현예 92. 구현예 91에 있어서, 5' 캡은 $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ 또는 $3'-O-Me-m^7G(5')ppp(5')G$ 인, RNA.
- [0128] 구현예 93. 구현예 65 내지 67, 71 내지 74, 78 내지 79, 81 내지 82, 및 84 내지 92 중 어느 한 구현예에 있어서, 5' UTR을 더 포함하는, RNA.
- [0129] 구현예 94. 구현예 93에 있어서, 5' UTR은 서열번호 2, 4, 또는 6의 뉴클레오티드, 또는 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성되는 것인, RNA.
- [0130] 구현예 95. 구현예 65 내지 67, 71 내지 74, 78 내지 79, 81 내지 82, 및 84 내지 94 중 어느 한 구현예에 있어서, 3' UTR을 더 포함하는, RNA.
- [0131] 구현예 96. 구현예 95에 있어서, 3' UTR은 서열번호 8의 뉴클레오티드, 또는 서열번호 8에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성되는 것인, RNA.
- [0132] 구현예 97. 구현예 65 내지 67, 71 내지 74, 78 내지 79, 81 내지 82, 및 84 내지 96 중 어느 한 구현예에 있어서, 폴리-A 꼬리를 더 포함하는, RNA.
- [0133] 구현예 98. 구현예 97에 있어서, 폴리-A 꼬리는 적어도 100개의 뉴클레오티드를 포함하는 것인, RNA.
- [0134] 구현예 99. 구현예 65 내지 67, 71 내지 74, 78 내지 79, 81 내지 82, 및 84 내지 97 중 어느 한 구현예에 있어서, 5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는, RNA.
- [0135] 구현예 100. 구현예 99에 있어서,
- [0136] a. 5' 캡은 $m_2^{7,3'-O}Gppp(m_1^{2'-O})ApG$ 또는 $3'-O-Me-m^7G(5')ppp(5')G$ 이고;
- [0137] b. 5' UTR은 서열번호 2, 4, 또는 6의 뉴클레오티드, 또는 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성되고;
- [0138] c. 3' UTR은 서열번호 8의 뉴클레오티드, 또는 서열번호 8에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 또는 85% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성되고;
- [0139] d. 폴리-A 꼬리는 적어도 100개의 뉴클레오티드를 포함하는 것인, RNA.
- [0140] 구현예 101. DNA로서,
- [0141] a. 서열번호 11에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 83% 동일성을 갖는 뉴클레오티드

를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드; 및

- [0142] b. 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA이며, 전사될 때, 부분 a) 및 b)의 뉴클레오티드는 단일 전사체를 형성하는 것인, DNA.
- [0143] 구현예 102. DNA로서,
- [0144] a. 서열번호 16의 뉴클레오티드 1 내지 984에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80% 또는 78% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드;
- [0145] b. 서열번호 16의 뉴클레오티드 1027 내지 1623에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80% 또는 81% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드; 및
- [0146] c. 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA이며, 전사될 때, 부분 a), b) 및 c)의 뉴클레오티드는 단일 전사체를 형성하는 것인, DNA.
- [0147] 구현예 103. DNA로서,
- [0148] a. 서열번호 21에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드; 및
- [0149] b. 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA이며, 전사될 때, 부분 a) 및 b)의 뉴클레오티드는 단일 전사체를 형성하는 것인, DNA.
- [0150] 구현예 104. DNA로서,
- [0151] a. 서열번호 28에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드; 및
- [0152] b. 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA이며, 전사될 때, 부분 a) 및 b)의 뉴클레오티드는 단일 전사체를 형성하는 것인, DNA.
- [0153] 구현예 105. DNA로서,
- [0154] a. 서열번호 25의 뉴클레오티드 1 내지 321에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드;
- [0155] b. 서열번호 25의 뉴클레오티드 382 내지 729에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드; 및
- [0156] c. 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 80% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA이며, 전사될 때, 부분 a), b) 및 c)의 뉴클레오티드는 단일 전사체를 형성하는 것인, DNA.
- [0157] 구현예 106. DNA로서,
- [0158] a. 서열번호 11에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 83% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드; 및
- [0159] b. 서열번호 7에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA이며, 전사될 때, 부분 a) 및 b)의 뉴클레오티드는 단일 전사체를 형성하는 것인, DNA.
- [0160] 구현예 107. DNA로서,
- [0161] a. 서열번호 16의 뉴클레오티드 1 내지 984에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80% 또는 78% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드;
- [0162] b. 서열번호 16의 뉴클레오티드 1027 내지 1623에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80% 또는 81% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드; 및

- [0163] c. 서열번호 7에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA이며, 전사될 때, 부분 a), b) 및 c)의 뉴클레오티드는 단일 전사체를 형성하는 것인, DNA.
- [0164] 구현예 108. DNA로서,
- [0165] a. 서열번호 21에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드; 및
- [0166] b. 서열번호 7에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA이며, 전사될 때, 부분 a) 및 b)의 뉴클레오티드는 단일 전사체를 형성하는 것인, DNA.
- [0167] 구현예 109. DNA로서,
- [0168] a. 서열번호 28에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드; 및
- [0169] b. 서열번호 7에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA이며, 전사될 때, 부분 a) 및 b)의 뉴클레오티드는 단일 전사체를 형성하는 것인, DNA.
- [0170] 구현예 110. DNA로서,
- [0171] a. 서열번호 25의 뉴클레오티드 1 내지 321에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드;
- [0172] b. 서열번호 25의 뉴클레오티드 382 내지 729에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드; 및
- [0173] c. 서열번호 7에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA이며, 전사될 때, 부분 a), b) 및 c)의 뉴클레오티드는 단일 전사체를 형성하는 것인, DNA.
- [0174] 구현예 111. DNA로서,
- [0175] a. 서열번호 11에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 83% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드;
- [0176] b. 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드; 및
- [0177] c. 서열번호 7에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA이며, 전사될 때, 부분 a), b) 및 c)의 뉴클레오티드는 단일 전사체를 형성하는 것인, DNA.
- [0178] 구현예 112. DNA로서,
- [0179] a. 서열번호 16의 뉴클레오티드 1 내지 984에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80% 또는 78% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드;
- [0180] b. 서열번호 16의 뉴클레오티드 1027 내지 1623에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80% 또는 81% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드;
- [0181] c. 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드; 및
- [0182] d. 서열번호 7에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA이며, 전사될 때, 부분 a), b), c), 및 d)의 뉴클레오티드는 단일 전사체를 형성하는 것인, DNA.
- [0183] 구현예 113. DNA로서,

- [0184] a. 서열번호 21에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드;
- [0185] b. 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드로서, 부분 b)의 뉴클레오티드는 부분 a)의 뉴클레오티드의 발현을 조절하는 것인, 뉴클레오티드; 및
- [0186] c. 서열번호 7에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA이며, 전사될 때, 부분 a), b) 및 c)의 뉴클레오티드는 단일 전사체를 형성하는 것인, DNA.
- [0187] 구현예 114. DNA로서,
- [0188] a. 서열번호 28에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드;
- [0189] b. 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드; 및
- [0190] c. 서열번호 7에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA이며, 전사될 때, 부분 a), b) 및 c)의 뉴클레오티드는 단일 전사체를 형성하는 것인, DNA.
- [0191] 구현예 115. DNA로서,
- [0192] a. 서열번호 25의 뉴클레오티드 1 내지 321에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드;
- [0193] b. 서열번호 25의 뉴클레오티드 382 내지 729에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드;
- [0194] c. 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드; 및
- [0195] d. 서열번호 7에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85% 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 인접한 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 구성된 DNA이며, 전사될 때, 부분 a), b), c), 및 d)의 뉴클레오티드는 단일 전사체를 형성하는 것인, DNA.
- [0196] 구현예 116. 구현예 101 내지 115의 DNA 중 임의의 하나로부터 생성된 RNA.
- [0197] 구현예 117. 구현예 116에 있어서, 적어도 하나의 우리딘은 개질된 핵염기로 교체되는 것인, RNA.
- [0198] 구현예 118. 구현예 116에 있어서, 각 우리딘은 개질된 핵염기로 교체되는 것인, RNA.
- [0199] 구현예 119. 구현예 117 또는 118에 있어서, 개질된 핵염기는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$), 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)인, RNA.
- [0200] 구현예 120. 구현예 119에 있어서, 개질된 핵염기는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)인, RNA.
- [0201] 구현예 121. 구현예 116 내지 120 중 어느 한 구현예에 있어서, 5' 캡을 더 포함하는 RNA.
- [0202] 구현예 122. 구현예 121에 있어서, 5' 캡은 $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ 또는 $3'-O-Me-m^7G(5')ppp(5')G$ 인, RNA.
- [0203] 구현예 123. 구현예 116 내지 122 중 어느 한 구현예에 있어서, 이중 가닥 RNA가 실질적으로 없는 RNA.
- [0204] 구현예 124. 구현예 116 내지 122 중 어느 한 구현예에 있어서, 이중 가닥 RNA가 RNA로부터 제거된 RNA.
- [0205] 구현예 125. 구현예 123 또는 124에 있어서, HPLC 또는 셀룰로스 기반 크로마토그래피를 통해 정제된 RNA.
- [0206] 구현예 126. 구현예 63 내지 125의 DNA 또는 RNA 중 임의의 하나 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 제형.

- [0207] 구현예 127. 구현예 63 내지 125의 RNA 또는 DNA, 또는 구현예 126의 약학적 제형 중 임의의 하나 이상을 투여하는 단계를 포함하는, 대상체의 암 치료 또는 예방, 종양 크기 감소, 관해 중인 암의 재발 방지, 또는 암 전이 방지 방법.
- [0208] 구현예 128. 구현예 63 내지 125 중 어느 한 구현예의 DNA 또는 RNA, 구현예 1 내지 26 중 어느 한 구현예의 조성물, 또는 구현예 126의 약학적 제형 중 하나 이상을 대상체에 투여하는 단계를 포함하는, 생체 내에서 IL-2, IL-12sc, IL-15 스시, GM-CSF 및 IFN α 2b를 암호화하는 폴리펩티드의 제조 방법.
- [0209] 구현예 129. 적어도 2종의 RNA를 포함하는 조성물로서, 이 RNA는 상이한 단백질을 암호화하고, 이 RNA는 구현예 65 내지 67, 71 내지 74, 78 내지 79, 81 내지 82, 84 내지 100, 및 116 내지 125 중 어느 한 구현예의 RNA로부터 선택되는 것인, 조성물.
- [0210] 구현예 130. 구현예 129에 있어서, GM-CSF 및 IL-12sc를 암호화하는 2종의 RNA를 포함하는 조성물.
- [0211] 구현예 131. 구현예 129에 있어서, GM-CSF, IL-12sc, 및 IFN α 2b를 암호화하는 3종의 RNA를 포함하는 조성물.
- [0212] 구현예 132. 구현예 129에 있어서, GM-CSF, IL-2, 및 IFN α 2b를 암호화하는 3종의 RNA를 포함하는 조성물.
- [0213] 구현예 133. 구현예 129에 있어서, GM-CSF, IL-12sc, IL-2 및 IFN α 2b를 암호화하는 4종의 RNA를 포함하는 조성물.
- [0214] 구현예 134. 구현예 129에 있어서, GM-CSF, IL-12sc, IL-15 스시 및 IFN α 2b를 암호화하는 4종의 RNA를 포함하는 조성물.
- [0215] 구현예 135. 구현예 130 내지 134 중 어느 한 구현예에 있어서, GM-CSF를 암호화하는 RNA는 구현예 84 또는 85의 RNA로부터 선택되는 것인, 조성물.
- [0216] 구현예 136. 구현예 130 내지 134 중 어느 한 구현예에 있어서, IL-12sc를 암호화하는 RNA는 구현예 71 내지 74 중 어느 한 구현예의 RNA로부터 선택되는 것인, 조성물.
- [0217] 구현예 137. 구현예 131 내지 134 중 어느 한 구현예에 있어서, IFN α 2b를 암호화하는 RNA는 구현예 77 내지 79 중 어느 한 구현예의 RNA로부터 선택되는 것인, 조성물.
- [0218] 구현예 138. 구현예 134에 있어서, IL-15 스시를 암호화하는 RNA는 구현예 81 또는 82의 RNA로부터 선택되는 것인, 조성물.
- [0219] 구현예 139. 구현예 132 또는 133에 있어서, IL-2를 암호화하는 RNA는 구현예 65 내지 67 중 어느 한 구현예의 RNA로부터 선택되는 것인, 조성물.
- [0220] 구현예 140. 고형 종양 암의 치료 또는 예방 방법으로, 치료적 유효량의 다음 RNA 중 각각을 종양 내에 직접적으로 투여하는 단계를 포함하며:
- [0221] a. IL-12sc를 암호화하는 RNA(서열번호 17 또는 18)를 포함하는 RNA;
- [0222] b. GM-CSF를 암호화하는 RNA(서열번호 29)를 포함하는 RNA; 및
- [0223] c. IFN α 2b를 암호화하는 RNA(서열번호 22 또는 23)를 포함하는 RNA,
- [0224] 이때, 각 RNA는 각각의 우리딘 대신 개질된 핵염기를 포함하고, 각 RNA는 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, 방법.
- [0225] 구현예 141. 고형 종양 암의 치료 또는 예방 방법으로, 치료적 유효량의 다음 RNA 중 각각을 종양 내에 직접적으로 투여하는 단계를 포함하며:
- [0226] a. IL-12sc를 암호화하는 RNA(서열번호 17 또는 18)를 포함하는 RNA;
- [0227] b. GM-CSF를 암호화하는 RNA(서열번호 29)를 포함하는 RNA;
- [0228] c. IFN α 2b를 암호화하는 RNA(서열번호 22 또는 23)를 포함하는 RNA; 및
- [0229] d. IL-2를 암호화하는 RNA(서열번호 12 또는 13)를 포함하는 RNA,
- [0230] 이때, 각 RNA는 각각의 우리딘 대신 개질된 핵염기를 포함하고, 각 RNA는 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3'

UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, 방법.

- [0231] 구현예 142. 고형 종양 암의 치료 또는 예방 방법으로, 치료적 유효량의 다음 RNA 중 각각을 종양 내에 직접적으로 투여하는 단계를 포함하며:
- [0232] a. IL-12sc를 암호화하는 RNA(서열번호 17 또는 18)를 포함하는 RNA;
- [0233] b. GM-CSF를 암호화하는 RNA(서열번호 29)를 포함하는 RNA;
- [0234] c. IFN α 2b를 암호화하는 RNA(서열번호 22 또는 23)를 포함하는 RNA; 및
- [0235] d. IL-15 스시를 암호화하는 RNA(서열번호 26)을 포함하는 RNA,
- [0236] 이때, 각 RNA는 각각의 우리딘 대신 개질된 핵염기를 포함하고, 각 RNA는 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, 방법.
- [0237] 구현예 143. 각각의 우리딘이 개질된 핵염기로 교체된 서열번호 9의 아미노산에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-2 단백질을 암호화하며, 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 RNA를 포함하는 조성물.
- [0238] 구현예 144. 각각의 우리딘이 개질된 핵염기로 교체된 서열번호 14의 아미노산에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-12sc 단백질을 암호화하며, 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 RNA를 포함하는 조성물.
- [0239] 구현예 145. 각각의 우리딘이 개질된 핵염기로 교체된 서열번호 27의 아미노산에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 GM-CSF 단백질을 암호화하며, 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 RNA를 포함하는 조성물.
- [0240] 구현예 146. 각각의 우리딘이 개질된 핵염기로 교체된 서열번호 19의 아미노산에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IFN α 2b 단백질을 암호화하며, 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 RNA를 포함하는 조성물.
- [0241] 구현예 147. 각각의 우리딘이 개질된 핵염기로 교체된 서열번호 24의 아미노산에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-15 스시 단백질을 암호화하며, 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 RNA를 포함하는 조성물.
- [0242] 구현예 148. 각각의 우리딘이 개질된 핵염기로 교체된 서열번호 17 또는 18에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어지며, 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 IL-12sc RNA 조성물.
- [0243] 구현예 149. 각각의 우리딘이 개질된 핵염기로 교체된 서열번호 29에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어지며, 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 GM-CSF RNA 조성물.
- [0244] 구현예 150. 각각의 우리딘이 우리딘 유사체로 교체된 서열번호 22 또는 23에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어지며, 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 IFN α 2b RNA 조성물.
- [0245] 구현예 151. 각각의 우리딘이 개질된 핵염기로 교체된 서열번호 26에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어지며, 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 IL-15 스시 RNA 조성물.
- [0246] 구현예 152. 각각의 우리딘이 개질된 핵염기로 교체된 서열번호 12 또는 13에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어지며, 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 IL-2 RNA 조성물.
- [0247] 구현예 153. 각각의 우리딘이 개질된 핵염기로 교체된 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어지며, 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 IL-12sc RNA 조성물.
- [0248] 구현예 154. 각각의 우리딘이 개질된 핵염기로 교체된 서열번호 29의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루

어지며, 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 GM-CSF RNA 조성물.

- [0249] 구현예 155. 각각의 우리딘이 개질된 핵염기로 교체된 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어지며, 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 IFN α 2b RNA 조성물.
- [0250] 구현예 156. 각각의 우리딘이 개질된 핵염기로 교체된 서열번호 26의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어지며, 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 IL-15 스시 RNA 조성물.
- [0251] 구현예 157. 각각의 우리딘이 개질된 핵염기로 교체된 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드를 포함하거나 이로 이루어지며, 5' UTR(서열번호 2, 4, 또는 6), 3' UTR(서열번호 8), 5' 캡, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함하는 IL-2 RNA 조성물.
- [0252] 구현예 158. 구현예 143 내지 157 중 어느 한 구현예에 있어서, 개질된 핵염기는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$), 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)인, 조성물.
- [0253] 구현예 159. IFN α 2b를 암호화하는 RNA를 포함하는 조성물로서, 이 RNA는 변형되어 비변형 RNA와 비교하여 감소된 면역원성을 갖는 것인, 조성물.
- [0254] 구현예 160. 구현예 159에 있어서, 변형은 적어도 하나의 우리딘의 개질된 핵염기로의 치환을 포함하는 것인, 조성물.
- [0255] 구현예 161. 구현예 159에 있어서, 개질된 핵염기는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$), 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)인, 조성물.
- [0256] 구현예 162. 구현예 161에 있어서, 개질된 핵염기는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)인, 조성물.
- [0257] 구현예 163. 구현예 159 내지 162 중 어느 한 구현예에 있어서, 변형은 이중 가닥 RNA 양의 감소를 포함하는 것인, 조성물.
- [0258] 구현예 164. 구현예 163에 있어서, 이중 가닥 RNA의 감소는 HPLC 또는 셀룰로스 기반 크로마토그래피를 통한 정제의 결과인 것인, 조성물.
- [0259] 구현예 165. 구현예 159 내지 164 중 어느 한 구현예에 있어서, 변형은 비변형 RNA와 비교하여 선천 면역계에 의한 RNA 인식을 감소시키는 것인, 조성물.
- [0260] 구현예 166. 구현예 159 내지 165 중 어느 한 구현예에 있어서, 변형은 RNA에 대한 5' 캡의 첨가를 포함하는 것인, 조성물.
- [0261] 구현예 167. 구현예 166에 있어서, 5' 캡은 $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ 또는 $3'-O-Me-m^7G(5')ppp(5')G$ 인, 조성물.
- [0262] 구현예 168. 구현예 159 내지 167 중 어느 한 구현예에 있어서, 관심 펩티드 또는 단백질을 암호화하는 제2 RNA를 더 포함하는 조성물.
- [0263] 구현예 169. 구현예 168에 있어서, 관심 펩티드 또는 단백질은 사이토카인, 케모카인, 자살 유전자 생성물, 면역원성 단백질 또는 펩티드, 세포자멸사 유도자, 혈관신생 억제자, 열 충격 단백질, 종양 항원, β -카테닌 억제자, STING 경로 활성화인자, 레티노산 유도 유전자(RIG)-I 경로 활성화인자, 톨 유사 수용체(TLR) 경로의 효현제, 체크포인트 조절자, 선천 면역 활성화인자, 항체, 음성 음성 수용체 및 유인 수용체, 골수 유래 억제자 세포(MDSC)의 억제자, IDO 경로 억제자, 및 세포자멸사 억제자에 결합하는 단백질 또는 펩티드로부터 선택되거나 유래된 펩티드 또는 단백질인, 조성물.
- [0264] 구현예 170. 구현예 168 또는 169에 있어서, 제2 RNA는 변형되어 비변형 RNA와 비교하여 감소된 면역원성을 갖는 것인, 조성물.
- [0265] 구현예 171. 구현예 170에 있어서, 변형은 적어도 하나의 우리딘의 개질된 핵염기로의 치환을 포함하는 것인, 조성물.

- [0266] 구현예 172. 구현예 171에 있어서, 개질된 핵염기는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)인, 조성물.
- [0267] 구현예 173. 구현예 172에 있어서, 개질된 핵염기는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)인, 조성물.
- [0268] 구현예 174. 구현예 168 내지 173 중 어느 한 구현예에 있어서, 변형은 이중 가닥 RNA 양의 감소를 포함하는 것인, 조성물.
- [0269] 구현예 175. 구현예 174에 있어서, 이중 가닥 RNA의 감소는 HPLC 또는 셀룰로스 기반 크로마토그래피를 통한 정제의 결과인 것인, 조성물.
- [0270] 구현예 176. 구현예 168 내지 173 중 어느 한 구현예에 있어서, 변형은 RNA에 대한 5' 캡의 첨가를 포함하는 것인, 조성물.
- [0271] 구현예 177. 구현예 176에 있어서, 5' 캡은 $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ 또는 $3'-O-Me-m^7G(5')ppp(5')G$ 인, 조성물.
- [0272] 구현예 178. 구현예 168 내지 177 중 어느 한 구현예에 있어서, 제2 RNA는 다음을 포함하는 것인, 조성물:
- [0273] a. 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-12sc 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA;
- [0274] b. 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 GM-CSF 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 29의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA;
- [0275] c. 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-15 스시 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 26의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA; 또는
- [0276] d. 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-2 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA.
- [0277] 구현예 179. 구현예 159 내지 178의 조성물 중 임의의 하나를 투여하는 단계를 포함하는, 대상체의 암 치료 또는 예방, 종양 크기 감소, 관해 중인 암의 재발 방지, 또는 암 전이 방지 방법.
- [0278] 구현예 180. 구현예 159 내지 178 중 어느 한 구현예에 있어서, 암 치료 또는 예방, 종양 크기 감소, 관해 중인 암의 재발 방지, 또는 암 전이 방지 방법에 사용하기 위한 조성물.
- [0279] 구현예 181. 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 조성물.
- [0280] 구현예 182. 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 조성물.
- [0281] 구현예 183. 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IFN α 2b 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 조성물.
- [0282] 구현예 184. 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 조성물.
- [0283] 구현예 185. 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-2 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 조성물.
- [0284] 구현예 186. IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 조성물로서, 이 RNA는 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 것인, 조성물.
- [0285] 구현예 187. GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 조성물로서, 이 RNA는 서열번호 29의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 것인, 조성물.
- [0286] 구현예 188. IFN α 2b 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 조성물로서, 이 RNA는 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 것인, 조성물.

- [0287] 구현예 189. IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 조성물로서, 이 RNA는 서열번호 26의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 것인, 조성물.
- [0288] 구현예 190. IL-2 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 조성물로서, 이 RNA는 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 것인, 조성물.
- [0289] 구현예 191. 다음 RNA 중 임의의 2종을 포함하는 조성물:
- [0290] a. 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-12sc 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA;
- [0291] b. 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 GM-CSF 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 29의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA;
- [0292] c. 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IFN α 2b 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA;
- [0293] d. 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-15 스시 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 26의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA; 및
- [0294] e. 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-2 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA.
- [0295] 구현예 192. 다음을 포함하는 조성물:
- [0296] a. 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-12sc 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA; 및
- [0297] b. 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 GM-CSF 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 29의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA.
- [0298] 구현예 193. 다음을 포함하는 조성물:
- [0299] a. 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-12sc 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA; 및
- [0300] b. 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IFN α 2b 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA.
- [0301] 구현예 194. 다음을 포함하는 조성물:
- [0302] a. 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-12sc 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA; 및
- [0303] b. 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-15 스시 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 26의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA.
- [0304] 구현예 195. 다음을 포함하는 조성물:
- [0305] a. 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-12sc 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA; 및
- [0306] b. 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-2 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA.
- [0307] 구현예 196. 다음을 포함하는 조성물:
- [0308] a. 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 GM-CSF 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 29의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA; 및
- [0309] b. 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IFN α 2b 단백질을 암호화하고/암호화하

거나, 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA.

[0310] 구현예 197. 다음을 포함하는 조성물:

[0311] a. 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 GM-CSF 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 29의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA; 및

[0312] b. 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-15 스시 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 26의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA.

[0313] 구현예 198. 다음을 포함하는 조성물:

[0314] a. 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 GM-CSF 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 29의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA; 및

[0315] b. 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-2 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA.

[0316] 구현예 199. 다음을 포함하는 조성물:

[0317] a. 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IFN α 2b 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA; 및

[0318] b. 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-15 스시 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 26의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA.

[0319] 구현예 200. 다음을 포함하는 조성물:

[0320] a. 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IFN α 2b 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA; 및

[0321] b. 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-2 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA.

[0322] 구현예 201. 다음을 포함하는 조성물:

[0323] a. 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-15 스시 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 26의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA; 및

[0324] b. 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-2 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA.

[0325] 구현예 202. 다음 중 임의의 3종을 포함하는 조성물:

[0326] a. 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-12sc 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA;

[0327] b. 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 GM-CSF 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 29의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA;

[0328] c. 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IFN α 2b 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA;

[0329] d. 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-15 스시 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 26의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA; 및

[0330] a. 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-2 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA.

- [illegible]

화하거나, 서열번호 26의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA; 및

- [0354] c. 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-2 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA.
- [0355] 구현예 209. 다음을 포함하는 조성물:
- [0356] a. 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 GM-CSF 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 29의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA;
- [0357] b. 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IFN α 2b 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA; 및
- [0358] c. 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-15 스시 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 26의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA.
- [0359] 구현예 210. 다음을 포함하는 조성물:
- [0360] a. 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 GM-CSF 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 29의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA;
- [0361] b. 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IFN α 2b 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA; 및
- [0362] c. 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-2 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA.
- [0363] 구현예 211. 다음을 포함하는 조성물:
- [0364] a. 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 GM-CSF 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 29의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA;
- [0365] b. 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-15 스시 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 26의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA; 및
- [0366] c. 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-2 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA.
- [0367] 구현예 212. 다음을 포함하는 조성물:
- [0368] a. 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IFN α 2b 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA;
- [0369] b. 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-15 스시 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 26의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA; 및
- [0370] c. 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-2 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA.
- [0371] 구현예 213. 다음 중 임의의 4종을 포함하는 조성물:
- [0372] a. 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-12sc 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA;
- [0373] b. 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 GM-CSF 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 29의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA;
- [0374] c. 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IFN α 2b 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA;

- [illegible]

암호화하고/암호화하거나, 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA.

- [0397] 구현예 218. 다음을 포함하는 조성물:
- [0398] a. 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 GM-CSF 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 29의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA;
- [0399] b. 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IFN α 2b 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA;
- [0400] c. 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-15 스시 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 26의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA; 및
- [0401] d. 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-2 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA.
- [0402] 구현예 219. 다음을 포함하는 조성물:
- [0403] a. 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-12sc 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA;
- [0404] b. 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 GM-CSF 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 29의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA;
- [0405] c. 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IFN α 2b 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA;
- [0406] d. 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-15 스시 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 26의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA; 및
- [0407] e. 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 IL-2 단백질을 암호화하고/암호화하거나, 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드에 대해 적어도 95% 동일성을 갖는 뉴클레오티드를 포함하는 RNA.
- [0408] 구현예 220. 구현예 181 내지 219의 조성물 중 임의의 하나를 포함하는 약학적 제형.
- [0409] 구현예 221. 구현예 181 내지 219의 조성물 중 임의의 하나 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 제형.
- [0410] 구현예 222. 암 치료 또는 예방 방법에 사용하기 위한, 구현예 181 내지 219 중 어느 한 구현예의 조성물 또는 구현예 220 또는 221의 약학적 제형.
- [0411] 구현예 223. 종양 크기 감소 방법에 사용하기 위한, 구현예 181 내지 219 중 어느 한 구현예의 조성물 또는 구현예 220 또는 221의 약학적 제형.
- [0412] 구현예 224. 관해 중인 암의 재발 방지 방법에 사용하기 위한, 구현예 181 내지 219 중 어느 한 구현예의 조성물 또는 구현예 220 또는 221의 약학적 제형.
- [0413] 구현예 225. 암 전이 예방 방법에 사용하기 위한, 구현예 181 내지 219 중 어느 한 구현예의 조성물 또는 구현예 220 또는 221의 약학적 제형.
- [0414] 구현예 226. 구현예 181 내지 219 중 어느 한 구현예의 조성물 또는 구현예 220 또는 221의 약학적 제형을 투여하는 단계를 포함하는, 암 치료 또는 예방 방법.
- [0415] 구현예 227. 구현예 181 내지 219 중 어느 한 구현예의 조성물 또는 구현예 220 또는 221의 약학적 제형을 투여하는 단계를 포함하는, 종양 크기 감소 방법.
- [0416] 구현예 228. 구현예 181 내지 219 중 어느 한 구현예의 조성물 또는 구현예 220 또는 221의 약학적 제형을 투여하는 단계를 포함하는, 관해 중인 암의 재발 방지 방법.
- [0417] 구현예 229. 구현예 181 내지 219 중 어느 한 구현예의 조성물 또는 구현예 220 또는 221의 약학적 제형을

투여하는 단계를 포함하는, 암 전이 방지 방법.

- [0418] 본 발명의 추가 구현에는 다음과 같다:
- [0419] 구현예 A 1. IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA 및 GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 의약 제제.
- [0420] 구현예 A 2. 구현예 A 1에 있어서, IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA를 더 포함하는 의약 제제.
- [0421] 구현예 A 3. 구현예 A 1 또는 2에 있어서, IL-2 단백질을 암호화하는 RNA를 더 포함하는 의약 제제.
- [0422] 구현예 A 4. 구현예 A 1 내지 3 중 어느 한 구현예에 있어서, IFN α 단백질을 암호화하는 RNA를 더 포함하는 의약 제제.
- [0423] 구현예 A 5. 구현예 A 4에 있어서, IFN α 단백질은 IFN α 2b 단백질인, 의약 제제.
- [0424] 구현예 A 6. 구현예 A 2에 있어서, IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 의약 제제.
- [0425] 구현예 A 7. 구현예 A 3에 있어서, IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IL-2 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 의약 제제.
- [0426] 구현예 A 8. 구현예 A 4 또는 5에 있어서, IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IFN α 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 의약 제제.
- [0427] 구현예 A 9. 구현예 A 4 또는 5에 있어서, IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IFN α 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 의약 제제.
- [0428] 구현예 A 10. 구현예 A 4 또는 5에 있어서, IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, IL-2 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IFN α 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 의약 제제.
- [0429] 구현예 A 11. 구현예 A 1 내지 10 중 어느 한 구현예에 있어서, (i) IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA는 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하고/포함하거나, (ii) IL-12sc 단백질은 서열번호 14의 아미노산 서열, 또는 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0430] 구현예 A 12. 구현예 A 1 내지 11 중 어느 한 구현예에 있어서, (i) GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA는 서열번호 29의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 29의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하고/포함하거나, (ii) GM-CSF 단백질은 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0431] 구현예 A 13. 구현예 A 2 내지 12 중 어느 한 구현예에 있어서, (i) IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA는 서열번호 26의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 26의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하고/포함하거나, (ii) IL-15 스시 단백질은 서열번호 24의 아미노산 서열, 또는 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0432] 구현예 A 14. 구현예 A 3 내지 13 중 어느 한 구현예에 있어서, (i) IL-2 단백질을 암호화하는 RNA는 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하고/포함하거나, (ii) IL-2 단백질은 서열번호 9의 아미노산 서열, 또는 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0433] 구현예 A 15. 구현예 A 4 내지 14 중 어느 한 구현예에 있어서, (i) IFN α 단백질을 암호화하는 RNA는 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하고/포함하거나, (ii) IFN α 단백질은 서열번호 19의 아미노산 서열, 또는 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0434] 구현예 A 16. 구현예 A 1 내지 15 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 적어도 하나의 우리딘

대신 개질된 핵염기를 포함하는 것인, 의약 제제.

- [0435] 구현예 A 17. 구현예 A 1 내지 16 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 적어도 하나의 우리딘 대신 개질된 핵염기를 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0436] 구현예 A 18. 구현예 A 1 내지 17 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 각각의 우리딘 대신 개질된 핵염기를 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0437] 구현예 A 19. 구현예 A 16 내지 18 중 어느 한 구현예에 있어서, 개질된 핵염기는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)인, 의약 제제.
- [0438] 구현예 A 20. 구현예 A 19에 있어서, 개질된 핵염기는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)인, 의약 제제.
- [0439] 구현예 A 21. 구현예 A 1 내지 20 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 5' 캡을 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0440] 구현예 A 22. 구현예 A 1 내지 21 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 5' 캡을 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0441] 구현예 A 23. 구현예 A 21 또는 22에 있어서, 5' 캡은 $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ 또는 $3'-O-Me-m^7G(5')ppp(5')G$ 인, 의약 제제.
- [0442] 구현예 A 24. 구현예 A 1 내지 23 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 5' UTR을 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0443] 구현예 A 25. 구현예 A 1 내지 24 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 5' UTR을 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0444] 구현예 A 26. 구현예 A 24 또는 25에 있어서, 5' UTR은 서열번호 2, 4, 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 2, 4, 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0445] 구현예 A 27. 구현예 A 1 내지 26 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 3' UTR을 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0446] 구현예 A 28. 구현예 A 1 내지 27 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 3' UTR을 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0447] 구현예 A 29. 구현예 A 27 또는 28에 있어서, 3' UTR은 서열번호 8의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 8의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0448] 구현예 A 30. 구현예 A 1 내지 29 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0449] 구현예 A 31. 구현예 A 1 내지 30 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0450] 구현예 A 32. 구현예 A 30 또는 31에 있어서, 폴리-A 꼬리는 적어도 100개의 뉴클레오티드를 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0451] 구현예 A 33. 구현예 A 1 내지 32 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0452] 구현예 A 34. 구현예 A 1 내지 33 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0453] 구현예 A 35. 구현예 A 33 또는 34에 있어서,

- [0454] a. 5' 캡은 $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ 또는 $3'-O-Me-m^7G(5')ppp(5')G$ 이고;
- [0455] b. 5' UTR은 서열번호 2, 4, 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 2, 4, 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고;
- [0456] c. 3' UTR은 서열번호 8의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 8의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고;
- [0457] d. 폴리-A 꼬리는 적어도 100개의 뉴클레오타이드를 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0458] 구현예 A 36. 구현예 A 1 내지 35 중 어느 한 구현예에 있어서, RNA는 mRNA인, 의약 제제.
- [0459] 구현예 A 37. 구현예 A 1 내지 36 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 치료제를 포함하는 의약 제제.
- [0460] 구현예 A 38. 구현예 A 37에 있어서, 추가의 치료제는 항암 치료제인, 의약 제제.
- [0461] 구현예 A 39. 구현예 A 37 또는 38에 있어서, 추가의 치료제는 체크포인트 조절자인, 의약 제제.
- [0462] 구현예 A 40. 구현예 A 39에 있어서, 체크포인트 조절자는 항-PD1 항체, 항-CTLA-4 항체, 또는 항-PD1 항체와 항-CTLA-4 항체의 조합물인, 의약 제제.
- [0463] 구현예 A 41. 구현예 A 1 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 2개의 용기를 포함하는 키트이며, 각각의 용기는 상기 RNA 중 적어도 1종을 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0464] 구현예 A 42. 구현예 A 41에 있어서, 개별의 용기에 각각의 RNA를 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0465] 구현예 A 43. 구현예 A 41 또는 42에 있어서, 추가의 치료제는 RNA를 포함하지 않는 용기에 존재하는 것인, 의약 제제.
- [0466] 구현예 A 44. 구현예 A 41 내지 43 중 어느 한 구현예에 있어서, 암 치료 또는 예방을 위한 의약 제제의 사용 설명서를 더 포함하는 의약 제제.
- [0467] 구현예 A 45. 구현예 A 1 내지 40 중 어느 한 구현예에 있어서, RNA를 포함하는 약학적 조성물인 의약 제제.
- [0468] 구현예 A 46. 구현예 A 45에 있어서, 약학적 조성물은 1종 이상의 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 및/또는 부형제를 더 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0469] 구현예 A 47. 구현예 A 1 내지 46 중 어느 한 구현예에 있어서, RNA는 액체 형태, 고체 형태, 또는 이의 조합으로부터 선택되는 형태로 존재하는 것인, 의약 제제.
- [0470] 구현예 A 48. 구현예 A 47에 있어서, 고체 형태는 냉동 형태 또는 건조 형태인, 의약 제제.
- [0471] 구현예 A 49. 구현예 A 48에 있어서, 건조 형태는 동결 건조 또는 분무 건조 형태인, 의약 제제.
- [0472] 구현예 A 50. 구현예 A 1 내지 49 중 어느 한 구현예에 있어서, 약학적 용도를 위한 의약 제제.
- [0473] 구현예 A 51. 구현예 A 50에 있어서, 약학적 용도는 질병 또는 장애의 치료적 또는 예방적 처치를 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0474] 구현예 A 52. 구현예 A 1 내지 51 중 어느 한 구현예에 있어서, 암 치료 또는 예방 방법에 사용하기 위한 의약 제제.
- [0475] 구현예 A 53. 구현예 A 38 내지 52 중 어느 한 구현예에 있어서, 암은 육종, 암종, 또는 림프종인, 의약 제제.
- [0476] 구현예 A 54. 구현예 A 38 내지 53 중 어느 한 구현예에 있어서, 암은 고형 종양인, 의약 제제.
- [0477] 구현예 A 55. 구현예 A 54에 있어서, 고형 종양은 폐, 결장, 난소, 자궁경부, 자궁, 복막, 고환, 음경, 혀, 림프절, 췌장, 뼈, 유방, 전립선, 연조직, 결합조직, 신장, 간, 뇌, 갑상선, 또는 피부에 존재하는 것인, 의약 제제.
- [0478] 구현예 A 56. 구현예 A 54 또는 55에 있어서, 고형 종양은 상피성 종양, 호지킨 림프종(HL), 비 호지킨 림프종, 전립선 종양, 난소 종양, 신장세포 종양, 소화관 종양, 간 종양, 결장직장 종양, 맥관 구조가 있는 종양,

중피종 종양, 췌장 종양, 유방 종양, 육종 종양, 폐 종양, 결장 종양, 뇌 종양, 흑색종 종양, 소세포 폐 종양, 신경모세포종 종양, 고환 종양, 암종 종양, 선암종 종양, 신경아교종 종양, 고환종 종양, 망막모세포종, 또는 골육종 종양인, 의약 제제.

- [0479] 구현예 A 57. 구현예 A 1 내지 56 중 어느 한 구현예에 있어서, RNA는 종양 내 또는 종양 주위 투여를 위한 것인, 의약 제제.
- [0480] 구현예 A 58. 구현예 A 37 내지 57 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 치료제는 전신 투여를 위한 것인, 의약 제제.
- [0481] 구현예 A 59. 구현예 A 1 내지 58 중 어느 한 구현예에 있어서, 인간에 투여하기 위한 것인, 의약 제제.
- [0482] 구현예 A 60. 구현예 A 44 및 47 내지 59 중 어느 한 구현예에 있어서, 암 치료 또는 예방은 대상체의 종양의 크기 감소, 관해 중인 암의 재발 방지, 또는 암 전이 방지를 포함하는 것인, 의약 제제.
- [0483] 본 발명의 추가 구현예는 다음과 같다:
- [0484] 구현예 B 1. 대상체의 암 치료 또는 예방 방법에 사용하기 위한 RNA로서, 이 방법은 IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA 및 GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA를 투여하는 단계를 포함하는 것인, RNA.
- [0485] 구현예 B 2. 구현예 B 1에 있어서, 방법은 IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA를 투여하는 단계를 더 포함하는 것인, RNA.
- [0486] 구현예 B 3. 구현예 B 1 또는 2에 있어서, 방법은 IL-2 단백질을 암호화하는 RNA를 투여하는 단계를 더 포함하는 것인, RNA.
- [0487] 구현예 B 4. 구현예 B 1 내지 3 중 어느 한 구현예에 있어서, 방법은 IFN α 단백질을 암호화하는 RNA를 투여하는 단계를 더 포함하는 것인, RNA.
- [0488] 구현예 B 5. 구현예 B 4에 있어서, IFN α 단백질은 IFN α 2b 단백질인, RNA.
- [0489] 구현예 B 6. 구현예 B 2에 있어서, 방법은 IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA를 투여하는 단계를 포함하는 것인, RNA.
- [0490] 구현예 B 7. 구현예 B 3에 있어서, 방법은 IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IL-2 단백질을 암호화하는 RNA를 투여하는 단계를 포함하는 것인, RNA.
- [0491] 구현예 B 8. 구현예 B 4 또는 5에 있어서, 방법은 IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IFN α 단백질을 암호화하는 RNA를 투여하는 단계를 포함하는 것인, RNA.
- [0492] 구현예 B 9. 구현예 B 4 또는 5에 있어서, 방법은 IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IFN α 단백질을 암호화하는 RNA를 투여하는 단계를 포함하는 것인, RNA.
- [0493] 구현예 B 10. 구현예 B 4 또는 5에 있어서, 방법은 IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, IL-2 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IFN α 단백질을 암호화하는 RNA를 투여하는 단계를 포함하는 것인, RNA.
- [0494] 구현예 B 11. 구현예 B 1 내지 10 중 어느 한 구현예에 있어서, (i) IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA는 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고/포함하거나, (ii) IL-12sc 단백질은 서열번호 14의 아미노산 서열, 또는 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, RNA.
- [0495] 구현예 B 12. 구현예 B 1 내지 11 중 어느 한 구현예에 있어서, (i) GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA는 서열번호 29의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 29의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고/포함하거나, (ii) GM-CSF 단백질은 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, RNA.
- [0496] 구현예 B 13. 구현예 B 2 내지 12 중 어느 한 구현예에 있어서, (i) IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA는

서열번호 26의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 26의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하고/포함하거나, (ii) IL-15 스시 단백질은 서열번호 24의 아미노산 서열, 또는 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, RNA.

[0497] 구현예 B 14. 구현예 B 3 내지 13 중 어느 한 구현예에 있어서, (i) IL-2 단백질을 암호화하는 RNA는 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 12 또는 13의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하고/포함하거나, (ii) IL-2 단백질은 서열번호 9의 아미노산 서열, 또는 서열번호 9의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, RNA.

[0498] 구현예 B 15. 구현예 B 4 내지 14 중 어느 한 구현예에 있어서, (i) IFN α 단백질을 암호화하는 RNA는 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하고/포함하거나, (ii) IFN α 단백질은 서열번호 19의 아미노산 서열, 또는 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, RNA.

[0499] 구현예 B 16. 구현예 B 1 내지 15 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 적어도 하나의 우리딘 대신 개질된 핵염기를 포함하는 것인, RNA.

[0500] 구현예 B 17. 구현예 B 1 내지 16 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 적어도 하나의 우리딘 대신 개질된 핵염기를 포함하는 것인, RNA.

[0501] 구현예 B 18. 구현예 B 1 내지 17 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 각각의 우리딘 대신 개질된 핵염기를 포함하는 것인, RNA.

[0502] 구현예 B 19. 구현예 B 16 내지 18 중 어느 한 구현예에 있어서, 개질된 핵염기는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)인, RNA.

[0503] 구현예 B 20. 구현예 B 19에 있어서, 개질된 핵염기는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)인, RNA.

[0504] 구현예 B 21. 구현예 B 1 내지 20 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 5' 캡을 포함하는 것인, RNA.

[0505] 구현예 B 22. 구현예 B 1 내지 21 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 5' 캡을 포함하는 것인, RNA.

[0506] 구현예 B 23. 구현예 B 21 또는 22에 있어서, 5' 캡은 $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ 또는 $3'-O-Me-m^7G(5')ppp(5')G$ 인, RNA.

[0507] 구현예 B 24. 구현예 B 1 내지 23 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 5' UTR을 포함하는 것인, RNA.

[0508] 구현예 B 25. 구현예 B 1 내지 24 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 5' UTR을 포함하는 것인, RNA.

[0509] 구현예 B 26. 구현예 B 24 또는 25에 있어서, 5' UTR은 서열번호 2, 4, 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 2, 4, 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인, RNA.

[0510] 구현예 B 27. 구현예 B 1 내지 26 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 3' UTR을 포함하는 것인, RNA.

[0511] 구현예 B 28. 구현예 B 1 내지 27 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 3' UTR을 포함하는 것인, RNA.

[0512] 구현예 B 29. 구현예 B 27 또는 28에 있어서, 3' UTR은 서열번호 8의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 8의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 것인, RNA.

[0513] 구현예 B 30. 구현예 B 1 내지 29 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 폴리-A 꼬리를 포함하는

것인, RNA.

- [0514] 구현예 B 31. 구현예 B 1 내지 30 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, RNA.
- [0515] 구현예 B 32. 구현예 B 30 또는 31에 있어서, 폴리-A 꼬리는 적어도 100개의 뉴클레오타이드를 포함하는 것인, RNA.
- [0516] 구현예 B 33. 구현예 B 1 내지 32 중 어느 한 구현예에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, RNA.
- [0517] 구현예 B 34. 구현예 B 1 내지 33 중 어느 한 구현예에 있어서, 각 RNA는 5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, RNA.
- [0518] 구현예 B 35. 구현예 B 33 또는 34에 있어서,
- [0519] a. 5' 캡은 $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ 또는 3'-O-Me- $m^7G(5')ppp(5')G$ 이고;
- [0520] b. 5' UTR은 서열번호 2, 4, 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 2, 4, 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고;
- [0521] c. 3' UTR은 서열번호 8의 뉴클레오타이드 서열, 또는 서열번호 8의 뉴클레오타이드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고;
- [0522] d. 폴리-A 꼬리는 적어도 100개의 뉴클레오타이드를 포함하는 것인, RNA.
- [0523] 구현예 B 36. 구현예 B 1 내지 35 중 어느 한 구현예에 있어서, RNA는 mRNA인, RNA.
- [0524] 구현예 B 37. 구현예 B 1 내지 36 중 어느 한 구현예에 있어서, 방법은 추가의 치료법을 투여하는 단계를 더 포함하는 것인, RNA.
- [0525] 구현예 B 38. 구현예 B 37에 있어서, 추가의 치료법은 (i) 종양 절개, 절제, 또는 감량 수술, (ii) 면역요법, (iii) 방사선요법, 및 (iv) 화학요법으로 구성된 군으로부터 선택된 1종 이상을 포함하는 것인, RNA.
- [0526] 구현예 B 39. 구현예 B 37 또는 38에 있어서, 추가의 치료법은 추가의 치료제 투여를 포함하는 것인, RNA.
- [0527] 구현예 B 40. 구현예 B 39에 있어서, 추가의 치료제는 항암 치료제인, RNA.
- [0528] 구현예 B 41. 구현예 B 39 또는 40에 있어서, 추가의 치료제는 체크포인트 조절자인, RNA.
- [0529] 구현예 B 42. 구현예 B 41에 있어서, 체크포인트 조절자는 항-PD1 항체, 항-CTLA-4 항체, 또는 항-PD1 항체와 항-CTLA-4 항체의 조합물인, RNA.
- [0530] 구현예 B 43. 구현예 B 1 내지 42 중 어느 한 구현예에 있어서, 암은 육종, 암종, 또는 림프종인, RNA.
- [0531] 구현예 B 44. 구현예 B 1 내지 43 중 어느 한 구현예에 있어서, 암은 고형 종양인, RNA.
- [0532] 구현예 B 45. 구현예 B 44에 있어서, 고형 종양은 폐, 결장, 난소, 자궁경부, 자궁, 복막, 고환, 음경, 허, 림프절, 췌장, 뼈, 유방, 전립선, 연조직, 결합조직, 신장, 간, 뇌, 갑상선, 또는 피부에 존재하는 것인, RNA.
- [0533] 구현예 B 46. 구현예 B 44 또는 45에 있어서, 고형 종양은 상피성 종양, 호지킨 림프종(HL), 비 호지킨 림프종, 전립선 종양, 난소 종양, 신장세포 종양, 소화관 종양, 간 종양, 결장직장 종양, 맥관 구조가 있는 종양, 중피종 종양, 췌장 종양, 유방 종양, 육종 종양, 폐 종양, 결장 종양, 뇌 종양, 흑색종 종양, 소세포 폐 종양, 신경모세포종 종양, 고환 종양, 암종 종양, 선암종 종양, 신경아교종 종양, 고환종 종양, 망막모세포종, 또는 골육종 종양인, RNA.
- [0534] 구현예 B 47. 구현예 B 1 내지 46 중 어느 한 구현예에 있어서, RNA는 종양 내 또는 종양 주위로 투여되는 것인, RNA.
- [0535] 구현예 B 48. 구현예 B 39 내지 47 중 어느 한 구현예에 있어서, 추가의 치료제는 전신 투여되는 것인, RNA.
- [0536] 구현예 B 49. 구현예 B 1 내지 48 중 어느 한 구현예에 있어서, 대상체는 인간인, RNA.

- [0537] 구현예 B 50. 구현예 B 1 내지 49 중 어느 한 구현예에 있어서, RNA는 동시에 투여되는 것인, RNA.
- [0538] 구현예 B 51. 구현예 B 1 내지 50 중 어느 한 구현예에 있어서, RNA는 RNA의 조합물을 포함하는 조성물을 투여함으로써 투여되는 것인, RNA.
- [0539] 구현예 B 52. 구현예 B 1 내지 49 중 어느 한 구현예에 있어서, RNA 중 적어도 2종은 상이한 시기에 투여되는 것인, RNA.
- [0540] 구현예 B 53. 구현예 B 1 내지 49 및 52 중 어느 한 구현예에 있어서, RNA는 각 조성물이 상기 RNA 중 적어도 1종을 포함하는, 적어도 2종의 조성물을 투여함으로써 투여되는 것인, RNA.
- [0541] 구현예 B 54. 구현예 B 1 내지 53 중 어느 한 구현예에 있어서, 암 치료 또는 예방은 대상체의 종양의 크기 감소, 관해 중인 암의 재발 방지, 또는 암 전이 방지를 포함하는 것인, RNA.
- [0542] 구현예 B 55. 구현예 B 1 내지 54 중 어느 한 구현예에 있어서, 상기 방법에서 투여되는 RNA 중 1종 이상이거나 이를 포함하는 RNA.
- [0543] 구현예 B 56. 구현예 B 55에 있어서, IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA, IL-2 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IFN α 단백질을 암호화하는 RNA로 구성된 군으로부터 선택되는 1종 이상이거나 이를 포함하는 RNA.
- [0544] 구현예 B 57. 구현예 B 55 또는 56에 있어서, IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA이거나 이를 포함하는 RNA.
- [0545] 구현예 B 58. 구현예 B 55 또는 56에 있어서, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA이거나 이를 포함하는 RNA.
- [0546] 구현예 B 59. 구현예 B 55 또는 56에 있어서, IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA이거나 이를 포함하는 RNA.
- [0547] 구현예 B 60. 구현예 B 55 또는 56에 있어서, IL-2 단백질을 암호화하는 RNA이거나 이를 포함하는 RNA.
- [0548] 구현예 B 61. 구현예 B 55 또는 56에 있어서, IFN α 단백질을 암호화하는 RNA이거나 이를 포함하는 RNA.
- [0549] 구현예 B 62. 구현예 B 55 또는 56에 있어서, IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA 및 GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA이거나 이를 포함하는 RNA.
- [0550] 구현예 B 63. 구현예 B 55 또는 56에 있어서, IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA이거나 이를 포함하는 RNA.
- [0551] 구현예 B 64. 구현예 B 55 또는 56에 있어서, IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IL-2 단백질을 암호화하는 RNA이거나 이를 포함하는 RNA.
- [0552] 구현예 B 65. 구현예 B 55 또는 56에 있어서, IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IFN α 단백질을 암호화하는 RNA이거나 이를 포함하는 RNA.
- [0553] 구현예 B 66. 구현예 B 55 또는 56에 있어서, IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IFN α 단백질을 암호화하는 RNA이거나 이를 포함하는 RNA.
- [0554] 구현예 B 67. 구현예 B 55 또는 56에 있어서, IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA, IL-2 단백질을 암호화하는 RNA, 및 IFN α 단백질을 암호화하는 RNA이거나 이를 포함하는 RNA.

도면의 간단한 설명

- [0555] 도 1a 내지 도 1g는 B16F10 종양 보유 마우스에 제8일, 제10일, 제12일, 제14일에 mRNA를 종양 내 주사하고, 개별적인 종양 성장을 제41일까지 모니터링한 실험 결과를 보여준다. 도 1a 및 도 1d는 IL-2, IL-12sc, 및 GM-CSF (ModA) mRNA 사용 시의 결과를 보여준다. 도 1b 및 도 1e는 IL-2, IL-12sc, 및 GM-CSF (ModB) mRNA를 보여준다. 도 1c 및 도 1f는 루시페라아제 mRNA (ModA) 사용 시의 결과를 보여준다. 도 1g는 루시페라아제 mRNA (ModB) 사용 시의 결과를 보여준다. (a 내지 c의 경우 군당 N = 마우스 10마리 및 d 내지 g의 경우 군당 N = 마우스 9마리).

도 2a 내지 도 2d는 CT26 종양 보유 마우스에 제19일, 제21일, 제24일, 제26일, 제28일 및 제31일에 mRNA를 종양 내 주사하고, 개별적인 종양 성장을 제48일까지 모니터링한 실험 결과를 보여준다. 도 2a는 GM-CSF, IL-2, IL-12sc (ModA)를 보여준다. 도 2b는 GM-CSF, IL-2, IL-12sc (ModB)를 보여준다. 도 2c는 대조군으로서 루시페

라아제 mRNA (ModA)를 보여준다. 도 2d는 대조군으로서 링거액을 보여준다.

도 3a 내지 도 3c는 CT26 종양 보유 마우스에 제13일, 제15일, 제18일, 제20일 및 제22일에 mRNA를 종양 내 주사하고, 종양 성장을 제42일까지 모니터링한 실험 결과를 보여준다. 도 3a는 IL-2, GM-CSF, IL-12sc (ModB)를 보여준다. 도 3b는 IL-15 스시, GM-CSF, IL-12sc (ModB)를 보여준다. 도 3c는 대조군으로서 루시퍼라아제 mRNA (ModB)를 보여준다.

도 4a 내지 도 4f는 B16F10 종양 보유 마우스에 제11일, 제13일, 제15일, 제17일에 사이토카인 mRNA 혼합물을 종양 내 주사하고, 개별적인 종양 성장을 제45일까지 모니터링한 실험 결과를 보여준다. 도 4a는 IL-2, IL-12sc, 및 GM-CSF (ModA)를 보여준다. 도 4b는 도 5a에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, IL-2, IL-12sc, 및 GM-CSF (ModB)를 보여준다. 도 4c는 IL-15 스시, IL-12sc, 및 GM-CSF (ModA)를 보여준다. 도 4d는 도 5b에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, IL-15 스시, IL-12sc, 및 GM-CSF (ModB)를 보여준다. 도 4e는 대조군 루시퍼라아제 mRNA (ModA)를 보여준다. 도 4f는 도 5d 및 6d에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, 대조군 루시퍼라아제 mRNA (ModB)를 보여준다. (군당 N = 마우스 8마리).

도 5a 내지 도 5d는 B16F10 종양 보유 마우스에 제11일, 제13일, 제15일, 제17일에 사이토카인 mRNA 혼합물을 종양 내 주사하고, 개별적인 종양 성장을 제45일까지 모니터링한 실험 결과를 보여준다. 도 5a는 도 4b에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, IL-2, IL-12sc, 및 GM-CSF (ModB)를 보여준다. 도 5b는 도 4d에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, IL-15 스시, IL-12sc, 및 GM-CSF (ModB)를 보여준다. 도 5c는 도 6c에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, IL-2, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (ModB)를 보여준다. 도 5d는 도 4f 및 6d에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, 대조군으로서 루시퍼라아제 mRNA (ModB)를 보여준다. (군당 N = 마우스 8마리).

도 6a 및 도 6b는 CT26 종양 보유 마우스에 제13일, 제15일, 제17일, 제19일, 제21일, 제23일에 사이토카인 mRNA 혼합물을 종양 내 주사하고, 개별적인 종양 성장을 도표화한 실험 결과를 보여준다. 도 6a는 도 7a에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, GM-CSF, IL-2, IL-12sc, IFN α (ModB)를 보여준다. 도 6b는 도 7c에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, 루시퍼라아제 mRNA (ModB)를 보여준다. 군당 N = 마우스 8마리.

도 6c 및 도 6d는 B16F10 종양 보유 마우스에 제11일, 제13일, 제15일, 제17일에 mRNA를 종양 내 주사하고, 개별적인 종양 성장을 도표화한 실험 결과를 보여준다. 도 6c는 도 5c에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, GM-CSF, IL-2, IL-12sc, IFN α (ModB)를 보여준다. 도 6d는 도 4f 및 도 5d에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, 루시퍼라아제 mRNA (ModB)를 보여준다. 군당 N = 마우스 8마리.

도 6e 및 6f는 MC38 종양 보유 마우스에 제11일, 제15일, 제19일, 제23일에 사이토카인 mRNA 혼합물을 종양 내 주사하고, 개별적인 종양 성장을 도표화한 실험 결과를 보여준다. 도 6e는 GM-CSF, IL-2, IL-12sc, IFN α (ModB)를 보여준다. 도 6f는 루시퍼라아제 mRNA (ModB)를 보여준다. 군당 N = 마우스 5마리.

도 7a 내지 도 7f는 CT26 종양 보유 마우스에 제13일, 제15일, 제17일, 제19일, 제21일, 제23일에 사이토카인 mRNA 혼합물을 종양 내 주사하고, 개별적인 종양 성장을 도표화한 실험 결과를 보여준다. 도 7a는 도 6a에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, IL-2, IL-12sc, GM-CSF, IFN α (ModB)를 보여준다. 도 7b는 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF, IFN α (ModB)를 보여준다. 도 7c는 도 6b에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, 루시퍼라아제 mRNA (ModB) 대조군을 보여준다. 유사한 설계의 반복 연구에서, CT26 종양 보유 마우스에 제19일, 제21일, 제23일, 제26일, 제28일 및 제30일에 사이토카인 mRNA 혼합물을 종양 내 주사하고, 개별적인 종양 성장을 도표화하였다. 도 7d는 도 9a에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, IL-2, IL-12sc, GM-CSF, IFN α (ModB)를 보여준다. 도 7e는 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF, IFN α (ModB)를 보여준다. 도 7f는 도 9f에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, 루시퍼라아제 mRNA (ModB) 대조군을 보여준다. 도 a 내지 c의 경우 군당 N = 마우스 8마리 및 d 내지 f의 경우 군당 N = 마우스 10 내지 11마리.

도 8a 내지 도 8h는 CT26 종양 보유 마우스에 제12일, 제15일, 제19일 및 제22일에 mRNA를 종양 내 주사하고, 개별적인 종양 성장을 제35일까지 모니터링하고 도표화한 실험 결과를 보여준다. 도 8a는 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF, IFN α (ModB)를 보여준다. 도 8b는 IL-15 스시, IL-12sc, IFN α (ModB)를 보여준다. 도 8c는 IL-15 스시, GM-CSF, IFN α (ModB)를 보여준다. 도 8d는 GM-CSF, IL-12sc, IFN α (ModB)를 보여준다. 도 8e는 IL-15 스시, GM-CSF, IL-12sc (ModB)를 보여준다. 도 8f는 루시퍼라아제 mRNA (ModB) 대조군을 보여준다. (군당 N = 10). 도 8g 및 도 8h는 도 8a 내지 8f에 나타난 연구의 종양 성장 동역학을 보여준다. 도 8g는 모든 처리군에 대한 제33일까지의 평균 종양 부피를 보여준다. 도 8h는 종양 성장 억제를 보여준다. T/C(평균 종양 부피를 기

초로 한 종양/대조군)를 제19일까지 계산하였다.

도 9a 내지 도 9f는 CT26 종양 보유 마우스에 제19일, 제21일, 제23일, 제26일, 제28일 및 제30일에 mRNA를 종양 내 주사하고, 종양 성장을 제50일까지 모니터링한 실험을 보여준다. 도 9a는 도 7d에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, GM-CSF, IL-2, IL-12sc, IFN α (ModB)를 보여준다. 도 9b는 IL-2, IL-12sc, IFN α (ModB)를 보여준다. 도 9c는 GM-CSF, IL-2, IFN α (ModB)를 보여준다. 도 9d는 GM-CSF, IL-12sc, IFN α (ModB)를 보여준다. 도 9e는 GM-CSF, IL-2, IL-12sc (ModB)를 보여준다. 도 9f는 도 7f에 기술된 바와 동일한 실험의 복제본으로, 대조군으로서 루시페라아제 mRNA (ModB)를 보여준다. (도 9a 내지 도 9e의 경우 군당 N = 11; 도 9f의 경우 루시페라아제 mRNA 군 N = 10).

도 10a 내지 도 10b는 도 9에 나타난 연구의 종양 성장 동역학을 보여준다. 도 10a는 모든 처리군에 대한 제36일까지의 평균 종양 부피를 보여준다. 도 10b는 종양 성장 억제를 보여준다. T/C(평균 종양 부피를 기초로 한 종양/대조군)를 제30일까지 계산하였다.

도 11은 종양 부피의 유의미한 감소가 있는 mRNA 혼합물을 보여주는 도 9에 제시된 실험 데이터의 막대 그래프를 보여주는 것으로, 이 실험에서는 종양 부피의 Z 점수 및 종양 부피 변화 및 대조군 평균 사이의 비율을 기초로 각 처리군에서 상당한 종양 감소가 있는 마우스의 수를 루시페라아제 대조군과 비교하였다.

도 12a 내지 도 12d는 1) 종양 naive, 또는 2) 이전에 5×10^5 개 B16F10 세포를 피하 주사하였고 종양 내 사이토카인 mRNA 처리 후에 본래의 종양을 거부한 마우스 실험 결과를 보여준다. 두 군 모두에 B16F10 종양을 재접종하였다. 도 12a는 종양 naive 숙주 마우스를 보여준다. 도 12b는 GM-CSF, IL-15스시, IL-12sc, IFN α (ModB)가 있는 종양 내 사이토카인 mRNA 처리 후 이전에 B16F10 종양을 거부했던 마우스를 보여준다. B16F10 주사 후 55일 동안 마우스를 모니터링하였고, 각 마우스에 대한 종양 성장을 도표화하였다. B16F10 세포가 생착된 아홉 마리의 naive 마우스는 모두 종양을 발달시킨 반면(도 12a), 여덟 마리의 무종양 마우스는 모두 B16F10 세포를 거부하였고, B16F10 종양 성장을 나타내지 않았다(도 12b). 도 12b의 그래프는 모든 관찰치가 0이었기에, 즉, 가로축과 중첩되었기에 가시적인 데이터 흔적이 없다. 도 12c는 종양 부위의 국소화된 백반의 예를 보여준다. 도 12d는 종양 naive(삼각형 기호), 또는 이전에 CT26 종양 세포를 피하 주사하였고 종양 내 사이토카인 mRNA 처리 후에 본래의 종양을 거부한(원형 기호) 마우스 실험 결과를 보여준다. 두 군 모두에 CT26 종양 세포(CT26-WT) 또는 gp70-에피토프가 녹아웃된 CT26- Δ gp70 종양 세포를 재접종하였다. 종양 세포 주사 후 21일 동안 마우스를 모니터링하였다. CT26-WT 세포가 생착된 한 마리를 제외한 모든 아홉 마리의 naive 마우스 및 CT26- Δ gp70 세포가 생착된 모든 naive 마우스가 종양을 발달시킨 반면, 세 마리의 무종양 마우스는 모두 CT26 종양 세포를 거절하였고, 각각 CT26 및 CT26- Δ gp70 종양의 성장을 나타내지 않았다.

도 13a 내지 도 13d는 마우스의 우측(주사) 및 좌측 옆구리(비주사)에 제0일에 B16F10 종양 세포를 이식한 실험(도 13a)의 결과를 보여준다. 마우스는 제11일, 제15일, 제19일, 및 제23일에 우측 종양에 ModB 사이토카인 mRNA(IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α) 또는 ModB 대조군 mRNA(루시페라아제)로 4회의 종양 내 주사를 놓았다. 주사된 종양(도 13b) 및 반대쪽의 비주사 종양(도 13c)에 대해 평균 종양 부피 $\pm$ SEM(n=12)을 나타내었다. 중간 생존기간은 도 13d에 나타내었다.

도 14a 내지 도 14f는 인간 HEK293(도 14b) 및 흑색종 세포주(A101D(도 14c), A2058(도 14d), A375(도 14e), 및 Hs294T(도 14f))를 다양한 mRNA 용량의 인간 사이토카인 mRNA 혼합물(IL-12sc, GM-CSF, IL-15 스시 및 IFN α 2b)로 형질감염시킨 실험 결과를 보여준다. 형질감염 24시간 후에 상청액을 수집하고, 사이토카인 특이적 ELISA로 단백질 농도를 결정하였다. 도 14a는 실험의 개략도를 보여준다.

도 15a 내지 도 15b는 개략도(도 15a) 및 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 2b를 암호화하는 인간 사이토카인 mRNA 혼합물, 또는 개별적인 사이토카인 mRNA들로 HEK293 세포를 형질감염시키고, 조정 배지를 24시간에 수집하고, 희석하여, 인간 PBMC에 첨가한 연구의 결과(도 15b)를 보여준다. 24시간에 PBMC 배양 상청액에서 IFN γ 를 측정하였다(N=6명의 공여자, 평균).

도 16a 내지 도 16e는 인간 A375 종양 이종이식편을 보유하는 면역 타협 마우스가 인간 사이토카인((IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 2b; "IL-15 스시 혼합물") 또는 (IL-2, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 2b; "IL2 혼합물"))을 암호화하는 ModB mRNA 혼합물로의 단일 주사를 받은 실험의 결과를 보여준다. 주사 2시간, 4시간, 8시간, 24시간, 48시간, 및 72시간 후에 종양 세포 용해물을 준비하고, 각 사이토카인의 농도를 종양 용해물 중 총 단백질에 대해 측정하였다(n=3마리 마우스/시점, $\pm$ SEM). 도 16a는 IFN α 2b를 보여주고, 도 16b는 IL-2를 보여주고, 도 16c는 IL-12sc를 보여주고, 도 16d는 IL-15 스시를 보여주며, 도 16e는 GM-CSF를 보여준다.

도 17a 내지 도 17c는 ModB 사이토카인 mRNA 혼합물((IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF, IFN α 2b) 또는 (IL-2, IL-12sc, GM-CSF, IFN α 2b)) 주사 2시간, 4시간, 8시간, 24시간, 48시간, 및 72시간 후에 A375 종양으로부터 mRNA를 단리한 실험의 결과를 보여준다. 인터페론 알파 반응 유전자의 발현을 qPCR로 모니터링하였다. 도 17a는 인간 ISG15를 보여주고, 도 17b는 인간 ISG54를 보여주고, 도 17c는 인간 MX1을 보여준다.

도 18a 내지 도 18e는 마우스에 B16F10 종양 세포를 이식하고, IFN α가 있거나 없는 mRNA 혼합물(FLT3L, IL-2, 41BBL, 및 CD27L-CD40L)로 처리한 실험의 결과를 보여준다. 표준 형태(ModA, 도 18b) 및 개질된 형태(ModB, 도 18c)의, IFN α가 없는 mRNA 혼합물을 표준 형태(ModA, 도 18d) 및 개질된 형태(ModB, 도 18e)의, IFN α를 포함한 mRNA 혼합물과 비교하였다. 도 18a는 mRNA가 없는 링거 배지를 제공한 음성 대조군이다.

도 19a 내지 도 19e는 마우스의 한쪽 옆구리에 종양을 이식하고 이 마우스에 폐를 향한 루시페라아제 발현 종양 세포의 IV 주사를 놓은 실험(도 19a)의 결과를 보여준다. 처리군의 마우스에 오로지 옆구리의 종양 내로 mRNA 혼합물 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α의 종양 내 주사를 놓았을 뿐, 폐의 종양은 미처리하였다. 도 19b는 폐에서의 전형적인 생물발광 측정 및 그에 따라 동일한 날(제20일)에 채취된 폐의 그림을 보여준다; 종양 결절은 검은색 마크로 선명하다; 도 19c는 캘리퍼 측정으로 결정된 옆구리 종양의 평균 종양 부피를 보여준다; 도 19d는 제20일의 생물발광 측정의 총 유량 분석을 보여준다; 도 19e는 폐 중량을 보여준다.

도 20a 내지 도 20g는 이중 옆구리 종양 모델에서 항체의 전신 투여와 조합한 mRNA 혼합물의 종양 내 주사의 효과를 평가하기 위하여 설계된 실험의 결과를 보여준다. 좌측 및 우측 옆구리에 B16F10 종양을 이식한, 또는 좌측 및 우측 옆구리에 MC38 종양을 이식한 마우스에 한쪽 옆구리 종양에만 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (Mod B)의 mRNA 혼합물로 종양 내 주사를 놓았고, 다른 쪽 옆구리 종양은 미처리하였다. 마우스에 항-PD1 항체의 복강 내(전신) 주사도 놓았다. 도 20은 B16F10(도 20a) 및 MC38(도 20b) 종양 모델에서의 전체 생존을 보여준다. 도 20c 내지 도 20g는 마우스의 한쪽 옆구리에 B16F10 종양을 이식하고 이 마우스에 폐를 향한 루시페라아제 발현 B16F10 종양 세포의 IV 주사를 놓은, 항-PD-1 항체를 평가하는 실험의 결과를 보여준다. 마우스에 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α의 mRNA 혼합물로 3회의 종양 내 주사를 놓았고, 항-PD-1 항체의 복강 내(전신) 주사도 3회 놓았다. SC 종양의 종양 성장을 도 20c 내지 도 20f에 도시하였다. 도 20c는 대조군 mRNA 및 대조 항체를 보여준다; 도 20d는 대조군 mRNA 플러스 항-PD1 항체를 보여준다; 도 20e는 사이토카인 mRNA 혼합물 플러스 이소형 대조 항체를 보여준다. 도 20f는 사이토카인 mRNA 플러스 항-PD-1 항체를 보여준다. 도 20g는 IV 종양 접종 후 제70일까지의 모든 4개 처리군의 생존율(%)을 보여준다; mRNA 플러스 항-PD-1 항체를 받은 처리군은 가장 강한 항종양 활성을 보여주어, 15마리의 마우스 중 6마리가 종양 접종 후 제40일에 무종양이었다.

도 21a 내지 도 21i는 항체 전신 투여와 조합한 mRNA 혼합물의 종양 내 주사의 효과를 평가하기 위하여 설계된 추가 실험의 결과를 보여준다. CT26 종양을 보유한 마우스에 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α의 mRNA 혼합물로 종양 내 주사를 놓았다. 마우스에 항-CTLA-4 항체의 복강 내(전신) 주사도 놓았다. 도 21a는 종양 내 사이토카인 mRNA 및 IP 주사된 항-CTLA-4의 병용 요법이 가장 강력한 항종양 활성을 가져와, 16마리의 마우스 중 12마리가 종양 접종 후 제55일에 무종양임을 보여준다. 도 21b는 사이토카인 mRNA 혼합물 플러스 이소형 대조 항체를 보여준다; 도 21c는 대조군 mRNA 플러스 항-CTLA-4 항체를 보여준다; 도 21d는 대조군 mRNA 및 대조 항체를 보여준다. 도 21e 내지 도 21i는 B16F10 종양 모델에서 항-CTLA-4 항체와 조합한 mRNA 혼합물의 종양 내 주사의 효과를 평가하기 위하여 설계된 추가 실험의 결과를 보여준다. B16F10 종양을 보유한 마우스에 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α의 mRNA 혼합물로 종양 내 주사를 놓았다. 마우스에 항-CTLA-4 항체의 복강 내(전신) 주사도 놓았다. 도 21e는 종양 내 사이토카인 mRNA 및 IP 주사된 항-CTLA-4의 병용 요법이 가장 강력한 항종양 활성을 가져와, 9마리의 마우스 중 6마리가 종양 접종 후 제70일에 무종양임을 보여준다. 도 21f는 사이토카인 mRNA 혼합물 플러스 이소형 대조 항체를 보여준다; 도 21g는 대조군 mRNA 플러스 항-CTLA-4 항체를 보여준다; 도 21h는 대조군 mRNA 및 대조 항체를 보여준다. 도 21i는 종양 접종 후 제70일까지의 모든 4개 처리군의 생존율(%)을 보여준다.

도 22a 내지 도 22d는 상이한 인간 암의 인간 종양 이종이식에서 사이토카인 mRNA (Mod B)의 종양 내 주사의 효과를 평가하기 위하여 설계된 실험의 결과를 보여준다. 4종의 mRNA가 암호화한 사이토카인 각각의 종양 내 발현을 다음으로 나타내었다: IL-12sc(도 22a), IFN α 2b(도 22b), GM-CSF(도 22c), 및 IL-15 스시(도 22d).

도 23a 내지 도 23d는 암호화된 사이토카인의 발현에 대한 상이한 종양 내 mRNA 용량의 효과를 평가하기 위하여 설계된 실험의 결과를 보여준다: IL-15 스시(도 23a), IL-12sc(도 23b), GM-CSF(도 23c) 및 IFN α 2b(도 23d).

도 24a 내지 도 24g는 마우스에 B16F10 종양을 이식하고, IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF, IFN α (ModB)의 사이

토카인 mRNA 혼합물 또는 단일 사이토카인을 암호화하는 mRNA의 4회 주사로 처리한 실험의 결과를 보여준다. 대략 제70일까지의 종양 부피를 측정하였다. 도 24a는 루시페라아제 대조군을 보여준다; 도 24b는 4종의 사이토카인 혼합물을 보여준다; 도 24c는 IL-12sc mRNA 단독을 보여준다; 도 24d는 GM-CSF mRNA 단독을 보여준다; 도 24e는 IFN α mRNA 단독을 보여준다; 도 24f는 IL-15 스시 단독을 보여준다. 도 24g는 사이토카인 mRNA 혼합물 또는 개별적인 mRNA 암호화 사이토카인으로 처리된 B16F10 종양의 전체 생존을 보여준다. 생존 데이터는 도 24a 내지 도 24f에 제시된 실험의 데이터이다.

도 25는 대조군 mRNA("위약군") 및 사이토카인 mRNA 처리 후 피하 종양에서의 CD8+ 면역세포 침윤물을 보여준다.

도 26a 내지 도 26c는 각각 사이토카인 mRNA 처리 및 대조군 mRNA의 종양 내 투여를 받은 CT26 종양 보유 마우스의 혈액에서 gp70의 gp70 종양 항원에 특이적인 CD8+ T 세포의 측정 결과를 보여준다. 도 26c는 항-마우스 CD8 항체로 염색된 CD8+ T 세포 및 대조군 mRNA를 받은 동물로부터 유래된 gp70 특이적 사망체로 염색된 CD8+ T 세포의 FACS 히스토그램을 예시적으로 보여주며, 도 26b는 사이토카인 mRNA로 처리된 동물 한 마리로부터의 예를 보여준다. 도 26c는 대조군 mRNA 4회 주사를 받은 9마리의 마우스 및 사이토카인 mRNA의 4회 주사를 받은 10마리의 마우스로부터 처리 개시 13일 후 혈액 중의 gp70 특이적 CD8+ T 세포의 백분율 분석을 보여준다.

도 27a 내지 27c는 좌측 및 우측 옆구리에 B16F10 종양을 보유한 마우스가 한쪽 종양에만 사이토카인 mRNA 또는 대조군 mRNA로의 단일 종양 내 mRNA 주사를 받은 실험을 보여준다. mRNA 주사 후 제7일에 좌측 및 우측 종양을 수집하여 RNA 시퀀싱을 수행하였다. 도 27b는 사이토카인 mRNA 처리 대 대조군 mRNA 처리 종양 사이의 유전자 발현 변화를 비교하는 독창성 경로 분석 결과를 보여준다. 처리 종양측(컬럼 1) 및 미처리 종양측(컬럼 2)에 대한 원인이 되는 네트워크 분석을 수행하였고, 활성화 Z 점수(위의 절반) 및 억제 Z 점수(아래 절반)를 분석하여 각각 상향 및 하향 조절된 경로를 정의하였다. 도 27은 주사된 종양 및 미주사 종양의 군집 분석이 327개의 인터페론 감마 조절된 유전자를 기초로 하여 수행되었음을 보여준다. 사이토카인 mRNA로 처리된 마우스의 주사된 종양 및 미주사 종양 둘 다 대조군 mRNA로 처리된 마우스와 비교하여 다수의 IFN 감마 유전자의 상향 조절을 보여주었다.

도 28a 내지 도 28d는 B16F10 이중 종양 모델로부터의 세포의 형광 현미경 사진을 보여준다. 패널 a는 사이토카인 mRNA로 처리된 주사된 종양을 보여주며, 패널 b는 상응하는 미주사 종양을 보여준다. 패널 c는 대조군 mRNA로 처리된 주사된 종양을 보여주며, 패널 d는 상응하는 미주사 종양을 보여준다. 슬라이드를 CD4+, CD8+, 및 FoxP3+ 세포에 대해 염색하였다.

도 28e 내지 도 28g는 면역형광 영상에서 정량화된 CD4+, CD8+ 및 FOXP3+ 세포의 빈도를 보여준다. mm²당 CD4+ 및 CD8+ 세포의 빈도를 도 28e 및 도 28f에 제시하였다. FOXP3+ 빈도로 나눈 CD8+ 빈도의 비율을 도 28g에 제시하였다.

도 29a 내지 도 29g는 단일 B16F10 종양 마우스가 Thy1.1 세포 표면 단백질을 암호화하는 mRNA 또는 비히클 단독(링거액)으로의 단일 주사를 받았음을 보여준다. 종양 내 주사 대략 16 내지 18시간 후, 종양을 절제하고, 소화시키고, 항체 패널로 염색하고, 유세포 분석법으로 분석하였다. 세포 유형 및 Thy1.1을 발현하는 세포의 빈도의 특징을 분석하였다.

도 30a 내지 도 30f는 실시예 15에 기술된 바와 같이 다양한 용량의 사이토카인 mRNA 또는 루시페라아제 대조군 mRNA에 따른 종양 용해물에서 검출된 지시된 단백질의 발현을 보여준다. 도 30e의 "IFN γ "는 IFN γ 를 나타낸다.

도 31a 내지 도 31b는 실시예 15에 기술된 바와 같이 대조군 또는 사이토카인 mRNA 처리 후 CD8+ 및 FOXP3+ (Treg) 세포에 대한 유세포 분석 결과를 보여준다. Treg 세포에 대한 CD8+의 관찰 비율을 각 패널에 나타내었다.

도 31c 내지 도 31d는 실시예 15에 기술된 바와 같이 대조군 또는 사이토카인 mRNA 처리 후 다기능성 CD8+ T 세포에 대한 유세포 분석 결과를 보여준다. 다기능성 CD8+ T 세포의 비율을 각 패널에 나타내었다.

도 31e는 실시예 15에 기술된 바와 같이 대조군 또는 사이토카인 mRNA 처리 후 침윤성 골수 세포 상에서의 PD-L1의 수준을 보여준다.

도 31f는 실시예 15에 기술된 바와 같이 대조군 또는 사이토카인 mRNA 처리 후 침윤성 CD8+ 세포 상에서의 PD-1의 수준을 보여준다.

[illegible]

[0560]

[illegible]

[0561]

[illegible]

[0562]

[illegible]

[0566]

[illegible]

[0567]

[illegible]

[0568]

[illegible]

[0569]

[0570]

[illegible]

[0571]

[illegible]

[0572]

[illegible]

[0574]

[0575]

[0575]

[0576]

[illegible][illegible][illegible]

[0578]

[0579]

[illegible][illegible]

ModA 유전 CD27L-CD40L (RNA)	GGGGGAGAGAGUATUUCUCUGGCGCCACAGACGACAGAGAGACCGCCAGGAGAGAGUACGCCGCCGCCAGAACCTGUAUCUGUGU CUGUGUGCGCGCGCGGCCGTCGACGAGCAATGUGCGGGAGAGCGCCAGCCACCCGAGGCGCGCGCGCACTGACGTGACGTGACGTGAC CCGCGGCCACAGAAAGGCGCCACCCTGACGATGGGGAGCGTGGCCCTGTGCGGCGAGATCCCTUATACACAGCGCCGCCGACCTGGAAGAAG CCACCTGAGTAUATCCACAGGAGCGGCTGUAACAGATGCAACDCAAGGACGACCGCCAAUACAGCGCCCGTGGUCUATCGTCCGAG CACAGAGGCCACAGCTGGCGGGGCACTGTGATGGCGCTGTGCTCAGGAAUACAGCCUGTCAATGACGAGGCAAGUUGTGGCAGGACATGAC UGGCCCTGCGAGAGGCTGACUATUUGTGUGATGCGCGAGCTGTGCTGCGACCAATGTCACATGTGCTGCTGGCCGACGAGAAACGCGCA CGAAACATUUCUUGGAGCGACGUGGUAUUGUGTGGCGGAGGGTUCGGGGGGAGGACACCCAGAACTCTTATACAGCTGATACUACGAGCA AACTCTGACCTGCGCAGGAAGAGCCCACTGUAUUGAGGGAGCGTGGCCCTGTGCGGCGACATUUCUACACAGCGCCCGCGAGCTGTC AAGAAGGCGCTGCTGAATUACACAGGACGGCGCTGTGUAACAGCTGACCAUUCAAAGUAGCTCGTGGCACTTGACAGACGCTCTGGCTTAC CTCTGACGACACGAGCCACATGCGCGCGGGGCACTGTGUAACGCTGCTGTCACGGAATCAGCTGTCGAGGAGGCAATUGGCCAGAGCA UGTTCACGTGGCGCTGACGAGGCTGACUUGTGTGCTGUAUGCGGAGCTGTGCTGACCAACCTGACATCGACCTGCTGCTGCGCCAGAGCA ACCGCCAGCAAACTUUCUUGGAGCGTGAUGGATUUGTUCUGGGGAGGCTCGCGAGGCGGACCTGCGAATCTTACATGACGCGTAAC CGACUGAACCTGACGCTCGCCAGGAAGACCCCACTCGAGATGUGGGAGCTGGCCCGCTGCTGGGCAAGCTCTTATACACAGCGCCCG GAGCTGGAAGAAGAGCGCACTGGAAGATCCACAGGAGCGGCTGUAACAGCTGCAATGCAAGGAGCTCGGCCCACTGCGCAACGCGGCTC GCTCTUACCTCGCAGCAGCAGGACCACTGAGGCGCGGGGCACTGTGATGGCCCTGCTGCTCGGAAUACAGCGCTGCTGAGAGGGCAGATUCC CCGAGACATGCGCTGGGCTCGCAGAGGCTGACUATUUGTGUGATGCGCTGTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG CCGAGAAAGCGCTG GAGGCGGCGCAGCAGCCCGGACGCTG AGGCTUATCTACCAATGAGCTCAACCTGTGATGCTGGAACAGGCGCTGACGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG ACCCAAAGTGACATUUCGACGACCGCGGAGCGACGACCGGACGCTGCTUATUUCCTGGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG AGAAATCTCTCTGATAGCGCGCAACACACACAGCAGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG GCGACGCTGGGCTG CTGGGCGGAGGTCGGCGCGGAGGAGGAGTCTG TGTGCTGACGTGGGCGCAAGAAAGCTUACACCATGAGTCAACCTGATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG GGGCGTGATCTGATGCTGACACCAAGGATGCTG AAGCCUACAGCGCGCGCAGGAGGATUUCGCTGAGGCGGCCACACCCACGACGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG TGGGAGGCGCTGTGAGCTGCAAGCTGGCGCTG CAGCTUUTUGGACCTGCTCAAACTGGGAGCGCGCTCGCGAGCGGAGGAGTGAAGTCTCAGTUGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG AAGACGCAACCGCGCTG AGCTCGCTG TATCTG GAGCAGCAGCTG TCCACAGCTG CTTATGCTG TCAATCTG TCAATGCTG AGGCAAAAAAAGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCATATGACTAAAAAAGAAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAAAAAAAA AAAAAAGAAAAAAAAAAAAAAAAA
---------------------------------	---

[0581]

[0583]

[0584]

[0585]

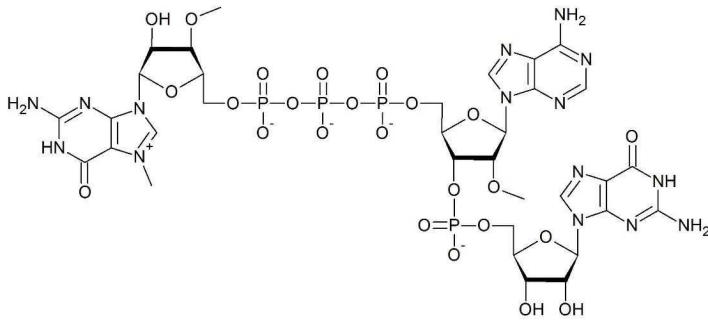
– 50 –

[0586] I. 정의

[0587] 용어 "ModB"는 적어도 하나의 (예컨대, 모든) 우리딘 대신 개질된 핵염기를 포함하고, RNA의 5' 말단에 Cap1 구조를 더 포함하는 RNA를 말한다. 일부 구현예에서, ModB RNA의 5' UTR은 서열번호 4 또는 6을 포함한다. ModB RNA는 이중 가닥 RNA(dsRNA)를 줄이도록 처리되었다. "Cap1" 구조는 효소적 캡핑(capping)에 의한 시험관 내 번역 후에 또는 시험관 내 번역 중에(공동 전사 캡핑) 생성될 수 있다.

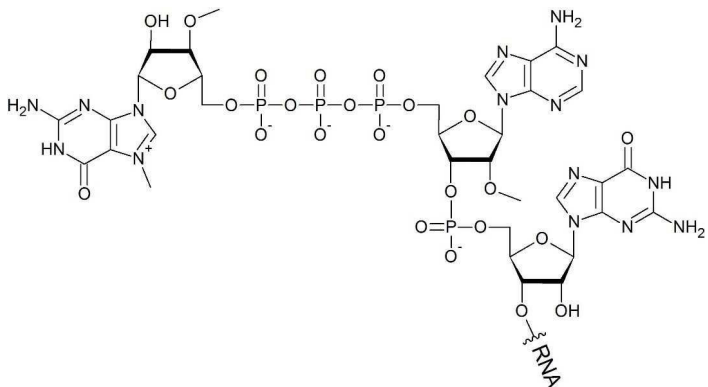
[0588] 일부 구현예에서, ModB 개질된 RNA를 위한 빌딩 블록 캡은 다음과 같으며, 이는 공동 전사적으로 캡핑될 때 사용된다:

[0589] $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ (때때로 $m_2^{7,3'-0}G(5')ppp(5')m^{2'-0}ApG$ 로도 지칭됨), 이는 다음 구조를 갖는다:



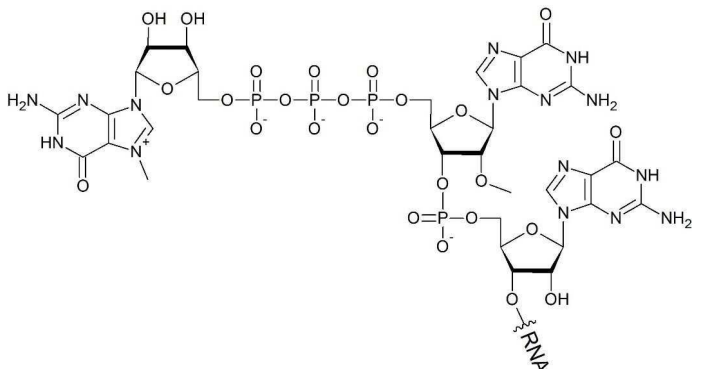
[0590]

[0591] 아래는 공동 전사 캡핑 후의 예시적인 Cap1 RNA로, 이는 RNA 및 $m_2^{7,3'-0}G(5')ppp(5')m^{2'-0}ApG$ 를 포함한다:



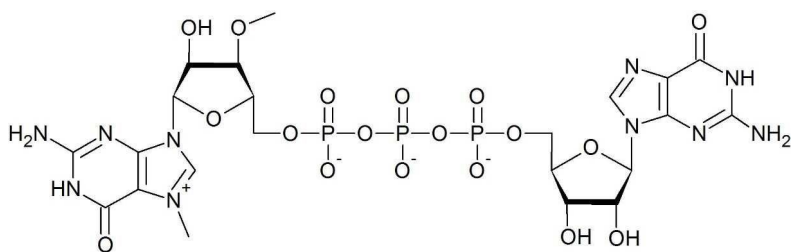
[0592]

[0593] 아래는 효소적 캡핑 후의 또 다른 예시적인 Cap1 RNA(무캡 유사체)이다:



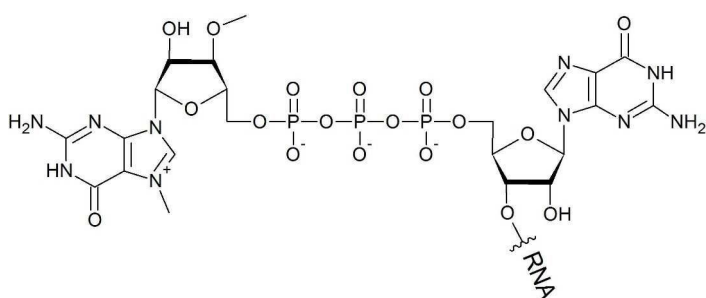
[0594]

[0595] 용어 "ModA"는 적어도 하나의 우리딘 대신 개질된 핵염기를 포함하지 않는 dsRNA 감소가 없는 RNA를 말한다. ModA RNA는 RNA의 5' 말단에 Cap0 구조를 포함한다. ModA RNA의 5' UTR은 서열번호 2를 포함할 수 있다. "Cap0" 구조는 일 구현예에서, 다음 구조를 갖는 캡 유사체인 항역전 캡(ARCA 캡($m_2^{7,3'-0}G(5')ppp(5')G$))을 이용한 시험관 내 번역(공동 전사 캡핑) 중에 생성된다:



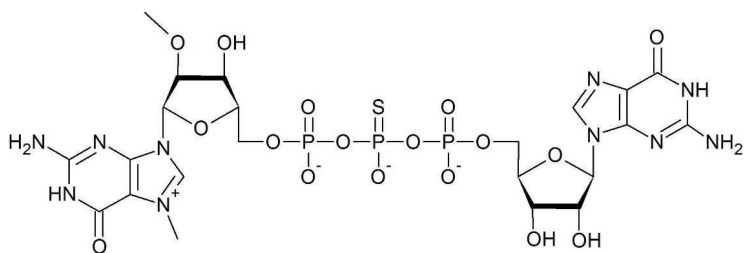
[0596]

[0597] 아래는 RNA 및 $m_2^{7,3'0}$ G(5')ppp(5')G를 포함하는 예시적인 Cap0 RNA이다:



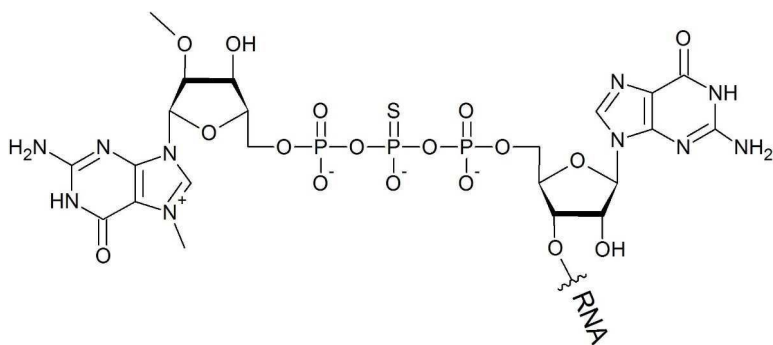
[0598]

[0599] 일부 구현예에서, "Cap0" 구조는 다음 구조를 갖는 캡 유사체인 베타-S-ARCA($m_2^{7,2'0}$ G(5')ppSp(5')G)를 이용한 시험관 내 번역(공동 전사 캡핑) 중에 생성된다:



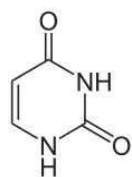
[0600]

[0601] 아래는 베타-S-ARCA($m_2^{7,2'0}$ G(5')ppSp(5')G) 및 RNA를 포함하는 예시적인 Cap0 RNA이다.



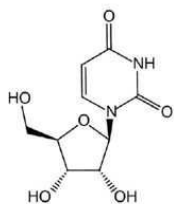
[0602]

[0603] 본 명세서에 사용된 용어 "우라실"은 RNA의 핵산에 존재할 수 있는 핵염기 중 하나를 말한다. 우라실의 구조는 다음과 같다:



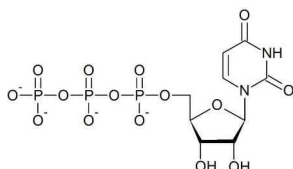
[0604]

[0605] 본 명세서에 사용된 용어 "우리딘"은 RNA에 존재할 수 있는 뉴클레오타이드 중 하나를 말한다. 우리딘의 구조는 다음과 같다:



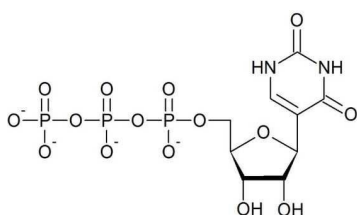
[0606]

[0607] UTP(우리딘 5'-삼인산)는 다음 구조를 갖는다:



[0608]

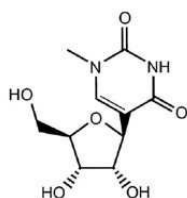
[0609] 슈도-UTP(슈도우리딘 5'-삼인산)는 다음 구조를 갖는다:



[0610]

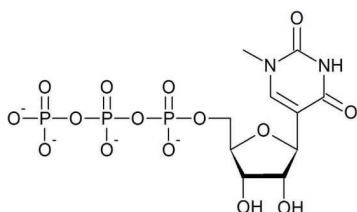
[0611] "슈도우리딘"은 우리딘의 이성질체인 개질된 뉴클레오시드의 한 예로, 여기서 우라실은 질소-탄소 글리코시드 결합 대신 탄소-탄소 결합을 통해 펜토스 고리에 부착된다. 슈도우리딘은 예를 들어, 문헌[Charette and Gray, *Life*; 49:341-351 (2000)]에 기술되어 있다.

[0612] 또 다른 예시적인 개질된 뉴클레오시드는 N1-메틸슈도우리딘($m^1\psi$)으로, 이는 다음 구조를 갖는다:



[0613]

[0614] N1-메틸슈도-UTP는 다음 구조를 갖는다:



[0615]

[0616] 본 명세서에 사용된 용어 "폴리-A 꼬리" 또는 "폴리-A 서열"은 전형적으로 RNA 분자의 3' 말단에 위치하는 아데닐산 잔기들의 연속 또는 불연속 서열을 지칭한다. 폴리-A 꼬리 또는 폴리-A 서열은 당업자에게 공지되어 있고, 본 명세서에 기술된 RNA의 3' UTR의 뒤를 이을 수 있다. 연속 폴리-A 꼬리는 연속적인 아데닐산 잔기를 특징으로 한다. 본질적으로, 연속 폴리-A 꼬리가 전형적이다. 본 명세서에 개시된 RNA는 전사 후 주형 독립적 RNA 중합효소에 의해 RNA의 자유로운 3' 말단에 부착된 폴리-A 꼬리 또는 DNA에 의해 암호화되고 주형 의존적 RNA 중합효소에 의해 전사된 폴리-A 꼬리를 가질 수 있다.

[0617] 약 120 A 뉴클레오티드의 폴리-A 꼬리는 형질감염된 진핵생물 세포에서 RNA의 수준뿐만 아니라, 폴리-A 꼬리의 상류(5')에 존재하는 오픈 리딩 프레임으로부터 번역되는 단백질의 수준에도 유의한 영향을 미침이 증명되었다

(*Holtkamp et al.*, 2006, *Blood*, vol. 108, pp. 4009-4017).

- [0618] 폴리-A 꼬리는 임의의 길이일 수 있다. 일 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 적어도 20개, 적어도 40개, 적어도 80개, 또는 적어도 100개 및 최대한 500개, 최대한 400개, 최대한 300개, 최대한 200개, 또는 최대한 150개 A 뉴클레오타이드를, 특히, 약 120개 A 뉴클레오타이드를 포함하거나, 이들로 필수적으로 구성되거나, 이들로 구성된다. 이러한 맥락에서 "필수적으로 구성된다"는, 폴리-A 꼬리의 대부분의 뉴클레오타이드, 폴리-A 꼬리의 뉴클레오타이드의 개수를 기준으로 전형적으로 적어도 75%, 적어도 80%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99%는 A 뉴클레오타이드이지만, 나머지 뉴클레오타이드는 A 뉴클레오타이드 이외의 뉴클레오타이드, 예컨대, U 뉴클레오타이드(우리딜산), G 뉴클레오타이드(구아닐산), 또는 C 뉴클레오타이드(시티딜산)임을 의미한다. 이러한 맥락에서 "구성된다"는 폴리-A 꼬리의 모든 뉴클레오타이드, 즉, 폴리-A 꼬리의 뉴클레오타이드의 개수를 기준으로 100%가 A 뉴클레오타이드임을 의미한다. 용어 "A 뉴클레오타이드" 또는 "A"는 아데닐산을 지칭한다.

[0619] 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 암호화 가닥에 대해 상보적인 가닥에서 반복된 dT 뉴클레오타이드(테옥시티미딜산)를 포함하는 DNA 주형을 기초로 하여, RNA 전사 중에, 예컨대, 시험관 내 전사된 RNA의 제조 중에, 부착된다. 폴리-A 꼬리를 암호화하는 DNA 서열(암호화 가닥)은 폴리(A) 카세트라 지칭된다.

[0620] 본 발명의 일 구현예에서, DNA의 암호화 가닥에 존재하는 폴리(A) 카세트는 필수적으로 dA 뉴클레오타이드로 구성되나, 4종의 뉴클레오타이드(dA, dC, dG, 및 dT)의 무작위 서열에 의해 중단된다. 이러한 무작위 서열은 5 내지 50개, 10 내지 30개, 또는 10 내지 20개 뉴클레오타이드 길이일 수 있다. 이러한 카세트는 본 명세서에 참조로 포함된 WO 2016/005324 A1에 개시되어 있다. WO 2016/005324 A1에 개시된 임의의 폴리(A) 카세트는 본 발명에 사용될 수 있다. 필수적으로 dA 뉴클레오타이드로 구성되지만, 4종의 뉴클레오타이드(dA, dC, dG, dT)의 균등한 분포를 가지며 예컨대, 5 내지 50개 뉴클레오타이드 길이를 갖는 무작위 서열에 의해 중단되는 폴리(A) 카세트는 DNA 수준에서, 대장균에서 플라스미드 DNA의 끊임없는 전파를 보여주며, RNA 수준에서, 뒷받침하는 RNA 안정성 및 번역 효율과 관련하여 유의한 특성들과 여전히 관련이 있다. 따라서, 본 발명의 일 구현예에서, 본 명세서에 기술된 RNA 분자에 함유된 폴리-A 꼬리는 필수적으로 A 뉴클레오타이드로 구성되나, 4종의 뉴클레오타이드(A, C, G, U)의 무작위 서열에 의해 중단된다. 이러한 무작위 서열은 5 내지 50개, 10 내지 30개, 또는 10 내지 20개 뉴클레오타이드 길이일 수 있다.

[0621] 본 발명의 일 구현예에서, A 뉴클레오타이드 이외의 어떠한 뉴클레오타이드도 3' 말단에서 폴리-A 꼬리 옆에 있지 않다. 즉, 폴리-A 꼬리는 A 이외의 뉴클레오타이드에 의해 이의 3' 말단에서 가려지거나 3' 말단에서 A 이외의 뉴클레오타이드가 이어지지 않는다.

[0622] 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 3' UTR 서열 다음에 표 2에도 표시되어 있는 서열: AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAGCAUAUGACUAA(서열번호 78)을 포함한다.

[0623] "RNA"와 "mRNA"는 본 명세서에서 상호 교환 가능하게 사용된다.

[0624] "IFN α"는 본 명세서에서 총칭하여 사용되어 IFN α2b 및 IFN α4를 비롯한 임의의 인터페론 알파 I형 사이토카인을 말한다. 실시예 섹션에 기술된 실험에서는, 인간 IFN α2b 및 마우스 IFN α4가 사용되었다. 임의의 IFN α가 조성물에 포함될 수 있고, 본 명세서에 기술된 방법에 사용될 수 있다.

[0625] 본 명세서에 사용된 용어 "치료"는 대상체의 질병을 위한 치료제의 임의의 투여 또는 적용을 아우르며, 질병 억제, 이의 발달 저지, 질병의 1종 이상의 증상의 경감, 질병 치유, 또는 질병의 재발 방지를 포함한다. 예를 들어, 고형 종양의 치료는 고형 종양 증상의 완화, 고형 종양 크기의 감소, 고형 종양 제거, 종양의 추가 성장 감소, 또는 치료 후 고형 종양의 재발 감소 또는 제거를 포함할 수 있다. 치료는 또한 바이오마커의 효과성의 변화로서 또는 영상화 또는 방사선 검사 측정의 변화로서 측정될 수 있다.

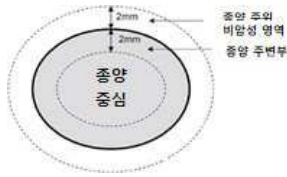
[0626] 본 명세서에 사용된 용어 "예방"은 암이 없다고 간주되는 대상체에서 고형 종양을 포함한 암의 억제 또는 암 발달의 중단을 의미한다.

[0627] "전이"는 암이 원발성 종양으로서 처음 발생한 장소로부터 신체 내의 다른 위치로 퍼지는 과정을 의미한다.

[0628] 본 명세서에 사용된 용어 "종양 내"는 '종양 안으로'를 의미한다. 예를 들어, 종양 내 주사는 종양과 접하는 임의의 위치에 치료제를 주사함을 의미한다.

[0629] 본 명세서에 사용된 용어 "종양 주위"는 약 2 mm 폭이며 종양 주변부의 침습성 전면에 인접한 영역이다. 종양

주위 영역은 숙주 조직을 포함한다. 예를 들어, 다음 참조:



[0630]

[0631]

"투여"는 대상체에 약제 또는 조성물을 제공함을 의미하며, 의료 전문가에 의한 투여 및 자가 투여를 포함하나 이에 한정되지 않는다.

[0632]

본 개시는 주어진 핵산 서열 또는 아미노산 서열(기준 서열)에 대해 각각 일정 정도의 동일성을 갖는 핵산 서열 및 아미노산 서열을 기술하고 있다.

[0633]

두 핵산 서열 사이의 "서열 동일성"은 이 서열들 사이에 동일한 뉴클레오타이드의 백분율을 나타낸다. 두 아미노산 서열 사이의 "서열 동일성"은 이 서열들 사이에 동일한 아미노산의 백분율을 나타낸다.

[0634]

용어 "% 동일한", "% 동일성" 또는 유사한 용어는 특히, 비교되는 서열들 사이의 최적의 정렬에서 동일한 뉴클레오타이드 또는 아미노산의 백분율을 지칭하고자 한 것이다. 상기 백분율은 순수하게 통계적이며, 두 서열 사이의 차이점은 비교되는 서열의 전체 길이에 걸쳐 무작위로 분포될 수 있으나, 반드시 무작위로 분포되지는 않는다. 두 서열의 비교는 보통 상응하는 서열들의 국소적인 부위를 확인하기 위하여 세그먼트 또는 "비교창"에 대하여 최적 정렬 후 상기 서열들을 비교함으로써 수행된다. 비교를 위한 최적 정렬은 수동적으로 또는 문헌 [Smith and Waterman, 1981, Ads App. Math. 2, 482]에 의한 국소 상동성 알고리즘의 도움으로, 문헌 [Neddleman and Wunsch, 1970, J. Mol. Biol. 48, 443]에 의한 국소 상동성 알고리즘의 도움으로, 문헌 [Pearson and Lipman, 1988, Proc. Natl Acad. Sci. USA 88, 2444]에 의한 유사성 검색 알고리즘의 도움으로, 또는 상기 알고리즘을 이용한 컴퓨터 프로그램(위스콘신 제네틱스 소프트웨어 패키지(Wisconsin Genetics Software Package)의 GAP, BESTFIT, FASTA, BLAST P, BLAST N 및 TFASTA, 미국 위스콘신 주 매디슨 사이언스 드라이브 575 소재의 제네틱스 컴퓨터 그룹(Genetics Computer Group))의 도움으로 수행될 수 있다.

[0635]

동일성 백분율은 비교되는 서열들이 상응하는 동일한 위치의 개수를 결정하고, 이 개수를 비교된 위치의 개수(예컨대, 기준 서열에서의 위치의 개수)로 나누고, 이 결과에 100을 곱하여 얻어진다.

[0636]

일부 구현예에서, 동일성 정도는 기준 서열의 전체 길이의 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90% 또는 약 100%인 영역에 대하여 제공된다. 예를 들어, 기준 핵산 서열이 200개의 뉴클레오타이드로 구성된 경우, 동일성 정도는 일부 구현예에서 연속적인 뉴클레오타이드에서, 적어도 약 100개, 적어도 약 120개, 적어도 약 140개, 적어도 약 160개, 적어도 약 180개, 또는 약 200개 뉴클레오타이드에 대해, 제공된다. 일부 구현예에서, 동일성 정도는 기준 서열의 전체 길이에 대해 제공된다.

[0637]

각각 주어진 핵산 서열 또는 아미노산 서열에 대해 특정한 동일성 정도를 갖는 핵산 서열 또는 아미노산 서열은 상기 주어진 서열의 적어도 하나의 기능적 특성을 가질 수 있으며, 예컨대, 그리고 일부 예에서, 상기 주어진 서열에 대해 기능적으로 동일하다. 한 가지 중요한 특성으로 특히, 대상체에 투여될 때, 사이토카인으로서 작용하는 능력을 포함한다. 일부 구현예에서, 주어진 핵산 서열 또는 아미노산 서열에 대해 특정한 동일성 정도를 갖는 핵산 서열 또는 아미노산 서열은 상기 주어진 서열에 대해 기능적으로 동일하다.

[0638]

II. 조성물 및 의약 제제

[0639]

A. 인터루킨-2(IL-2)

[0640]

일부 구현예에서, 조성물은 인터루킨-2(IL-2)를 암호화하는 DNA 서열(서열번호 9)을 포함한다. 일부 구현예에서, IL-2를 암호화하는 DNA 서열은 서열번호 10으로 제공된다.

[0641]

일부 구현예에서, 조성물은 IL-2를 암호화하는 코돈 최적화 DNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 코돈 최적화 DNA 서열은 서열번호 11의 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, DNA 서열은 서열번호 11에 대해 83%, 84%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 코돈 최적화 DNA 서열을 포함한다.

[0642]

천연 IL-2에 대한 코돈 최적화 IL-2의 정렬을 아래에 나타내었으며, 여기서 "Q"는 천연 IL-2(NM_000586.3; 서열번호 10)이고, "S"는 코돈 최적화 IL-2(서열번호 11)이다. 퍼센트 동일성은 82.79%이다.

```

Q:      1 ATGTACAGGATGCAACTCCTGCTTGCATTGCACTAAGTCTTGCCTTGTACAAACAGT 60
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
S:      1 ATGTACAGAATGCAAGTCTGCTGCTTGCATTGCTCTTCTCTGCTCTTGTGACAAATCT 60

Q:      61 GCACCTACTTCAAGTTCTACAAGAAACACAGCTACAACGGAGCATTTACTGCTGGAT 120
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
S:      61 GCTCCACATCTTCTTCAACAAGAAACACAGCTTCAAGCTTGAACACCTTCTTCTTGAT 120

Q:      121 TTACAGATGATTTTGAATGGAATTAATAATTACAAGAATCCAAACTCACCAGGATGCTC 180
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
S:      121 CTTCAGATGATTTCTGAATGGAATCAACAATTACAAAAATCCAAACTGACAAGAATGCTG 180

Q:      181 ACATTTAAGTTTTCATGCCCAGGAAGGCCACAGAACTGAAACATCTTCAGTGTCTAGAA 240
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
S:      181 ACATTTAAATTTTTCATGCCCAGGAAGGCCACAGAACTGAAACACCTTTCAGTGCCTTGAA 240

Q:      241 GAAGAACTCAAACCTCTGGAGGAAGTGCTAAATTTAGTCAAAAGCAAAACCTTCACTTA 300
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
S:      241 GAAGAACTGAAACCTCTGGAGGAAGTGCTGAATCTGGCTCAGAGCAAAATTTTCACCTG 300

Q:      301 AGACCCAGGGACTTAATCAGCAATATCAACGTAATAGTCTTGGAACTAAAGGGATCTGAA 360
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
S:      301 AGACCAAGAGATCTGATCAGCAACATCAATGTGATTGTGCTGGAACGAAAGGATCTGAA 360

Q:      361 ACAACATTCTATGTGTGAATATGCTGATGAGACAGCAACCATTTAGAAATTTCTGAACAGA 420
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
S:      361 ACAACATTCTATGTGTGAATATGCTGATGAAACAGCAACAATTTGGAATTTCTGAACAGA 420

Q:      421 TGGATTACCTTTTGTCAAGCATCATCTCAACACTGACT 459
      ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| ||||| |||||
S:      421 TGGATCACATTTTGCCAGTCAATCATTTCAACACTGACA 459

```

[0643]

[0644]

일부 구현예에서, 조성물은 IL-2를 암호화하는 DNA 서열로부터 전사된 RNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 서열번호 10 또는 11을 포함하는 뉴클레오타이드 서열로부터 전사된다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 서열번호 12 또는 13을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 서열번호 12 또는 13에 대해 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 RNA 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

[0645]

일부 구현예에서, IL-2 RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오시드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오시드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다.

[0646]

일부 구현예에서, IL-2 RNA는 5' 말단에 변경된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, IL-2 RNA는 5' 캡을 포함한다. 당해 분야에 공지된 임의의 5' 캡이 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 5'-5' 삼인산 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 티오인산염 개질을 포함한 5'-5' 삼인산 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 2'-O 또는 3'-O-리보스-메틸화 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 개질된 구아노신 뉴클레오타이드 또는 개질된 아데노신 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 7-메틸구아닐산을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 Cap0 또는 Cap1이다. 예시적인 캡 구조는 m7G(5')ppp(5')G, m7,2'-O-mG(5')ppp(5')G, m7G(5')ppp(5')2'-O-mG, 및 m7,3'-O-mG(5')ppp(5')2'-O-mA를 포함한다.

[0647]

일부 구현예에서, IL-2 RNA는 5' 비해독 부위(UTR)를 포함한다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 개시 코돈의 상류이다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 RNA의 번역을 조절한다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 안정화 서열이다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 RNA의 반감기를 증가시킨다. 당해 분야에 공지된 임의의 5' UTR이 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 5' UTR RNA 서열은 서열번호 1, 3, 또는 5를 포함하는 뉴클레오타이드 서열로부터 전사된다. 일부 구현예에서, 5' UTR RNA 서열은 서열번호 2, 4, 또는 6을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, 5' UTR RNA 서열은 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일하다.

[0648]

일부 구현예에서, IL-2 RNA는 3' UTR을 포함한다. 일부 구현예에서, 3' UTR은 번역 종결 코돈 뒤에 온다. 일부 구현예에서, 3' UTR은 RNA의 폴리아데닐화, 번역 효율, 국제화, 또는 안정성을 조절한다. 일부 구현예에서, 3' UTR RNA 서열은 서열번호 7을 포함하는 뉴클레오타이드 서열로부터 전사된다. 일부 구현예에서, 3' UTR RNA 서열은 서열번호 8을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, 3' UTR RNA 서열은 서열번호 8에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일하다.

- [0649] 일부 구현예에서, IL-2 조성물은 5' UTR 및 3' UTR을 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 5' UTR만을 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 3' UTR만을 포함한다.
- [0650] 일부 구현예에서, IL-2 RNA는 폴리-A 꼬리를 포함한다. 일부 구현예에서, RNA는 적어도 약 25개, 적어도 약 30개, 적어도 약 50개, 적어도 약 70개, 또는 적어도 약 100개 뉴클레오타이드의 폴리-A 꼬리를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 200개 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 서열번호 78을 포함하거나 이로 구성된다.
- [0651] 일부 구현예에서, RNA는 5' 캡, 5' UTR, IL-2를 암호화하는 핵산, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 이 순서대로 포함한다.
- [0652] 일부 구현예에서, 조성물은 서열번호 10 또는 11에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열을 포함한다.
- [0653] 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, 서열번호 10 또는 11에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열로부터 전사된, RNA 서열을 포함한다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다. 일부 구현예에서, IL-2 RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오타이드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)이다.
- [0654] 일부 구현예에서, 조성물은 서열번호 10 또는 11에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열을 포함한다.
- [0655] 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, 서열번호 10 또는 11에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열로부터 전사된, RNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, IL-2 RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오타이드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)이다.
- [0656] 일부 구현예에서, 조성물은 서열번호 10 또는 11에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열을 포함한다.
- [0657] 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, 서열번호 10 또는 11에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열로부터 전사된 RNA 서열을 포함한다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다.
- [0658] 일부 구현예에서, IL-2 RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오타이드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)이다.
- [0659] 일부 구현예에서, 조성물은 서열번호 12 또는 13에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%,

97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 8에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 RNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, IL-2 RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오타이드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)이다.

B. 인터루킨-12 단일쇄(IL-12sc)

일부 구현예에서, 조성물은 인터루킨-12 단일쇄(IL-12sc)를 암호화하는 DNA 서열(예컨대, 서열번호 14)을 포함하며, 이는 IL-12 p40(때때로 IL-12B로 지칭됨), 링커, 예컨대 GS 링커, 및 IL-12 p35(때때로 IL-12A로 지칭됨)를 포함한다. 일부 구현예에서, IL-12 p40, 링커, 및 IL-12 p35는 개재 뉴클레오타이드 없이 연속적이다. 예시적인 IL-12sc를 암호화하는 DNA 서열은 서열번호 15로 제공된다.

천연 IL-12 p40에 대한 코돈 최적화 IL-12 p40의 정렬을 아래에 나타내었으며, 여기서 "S"는 천연 IL-12 p40(NM_002187.2; 서열번호 15의 뉴클레오타이드 1 내지 984)이고, "Q"는 코돈 최적화 IL-12 p40(서열번호 16의 뉴클레오타이드 1 내지 984)이다. 퍼센트 동일성은 77%이다.

```

Q:      1 ATGTGTCAACAGCAGTGGTGTCTCATGGTTCTCCCTGGTATTTCTGGCATCTCCTCTT 60
S:      1 ATGTGTCAACAGCAGTGGTGTCTCTTGGTTTCCCTGGTATTTCTGGCATCTCCTCTC 60

Q:     61 GTCGCAATCTGGGAACGAAGAAAGACGTGTATGTCGTTGAGCTCGACTGGTATCCGGAT 120
S:     61 GTGGCCATATGGGAACGAAGAAAGATGTTTATGTCGTAGAATTGGATTGGTATCCGGAT 120

Q:    121 GCGCTTGGCGAGATGGTGGTGTGACCTGTGACACCCAGAGGAGGATGGGATCACTTGG 180
S:    121 GCGCTTGGCGAGATGGTGGTGTGACCTGTGACACCCAGAGGAGGATGGGATCACTTGG 180

Q:    181 ACCCTTGATCAATCTCCGAAGTGTCTGGGTCTGGCAAGACTCTGACCATACAAGTGAAA 240
S:    181 ACCCTTGATCAATCTCCGAAGTGTCTGGGTCTGGCAAGACTCTGACCATACAAGTGAAA 240

Q:    241 GAGTTTGGCGATGCGGGGAGTACACTTGCATAAGGGCGAGAACTTCTGTCCCACTCA 300
S:    241 GAGTTTGGCGATGCGGGGAGTACACTTGCATAAGGGCGAGAACTTCTGTCCCACTCA 300

Q:    301 CTGCTGCTGCTGCACAAGAAAGAGGACGGAATTTGGAGTACCGATCTCTGAAAGATCAG 360
S:    301 CTGCTGCTGCTGCACAAGAAAGAGGACGGAATTTGGAGTACCGATCTCTGAAAGATCAG 360

Q:    361 AAAGAGCCCAAGAAACAAACCTTCTTCCGGTGCAGGCAAGAACTACTCAGGAGATTT 420
S:    361 AAAGAGCCCAAGAAACAAACCTTCTTCCGGTGCAGGCAAGAACTACTCAGGAGATTT 420

Q:    421 ACTTGTGTGGTGTGACGACGATCAGCACCAGTCTGACTTTCTCCGTGAAATCAAGTAG 480
S:    421 ACTTGTGTGGTGTGACGACGATCAGCACCAGTCTGACTTTCTCCGTGAAATCAAGTAG 480

Q:    481 GGATCATCTGACCTCAAGGAGTACATGTGGAGCGGCTACTCTGAGCGTGAACGCGTA 540
S:    481 GGATCATCTGACCTCAAGGAGTACATGTGGAGCGGCTACTCTGAGCGTGAACGCGTA 540

Q:    541 AGAGGGGACAATAAGGAGTACAGTATAGCGTTGAGTGCCAGAGGATAGCGCATGCCCC 600
S:    541 AGAGGGGACAATAAGGAGTATGAGTACTCAGTGGAGTGCCAGGAGGACAGTGCCTGCCCA 600

Q:    601 GCCGCGCA--AGAATCATTGCCATTGAAGTGTGGTGGATGCTGTACACAAGCTGAAGT 658
S:    601 GCTGCTGAGGAGAGTC-T-GCCATTGAGGTCTGGTGGATGCCGTTCAAGCTCAAGT 658

Q:    659 ATGAGAACTACACAAGCTCTTCTTATCCGTGACATCATCAACAGATCTCTCTAAGA 718
S:    659 ATGAGAACTACACAAGCTCTTCTTATCCGTGACATCATCAACAGATCTCTCTAAGA 718

Q:    719 ACCTCCAGCTTAACTCTGAAGAACTAGACAGGTGGAGTGTCTTGGGAGTATCCCG 778
S:    719 ACTTGACAGTGAAGCCATTAAAGAACTTCTGGCAGGTGGAGGTGAGTGGGAGTATCCCG 778

Q:    779 ACACCTGGTCTACACCATTCCTACTTCACTGCTCAGTCTGCGTTTCAAGTACAGGGCA 838
S:    779 ACACCTGGAGTACTCCACATTCCTACTTCTCCCTGACATTCGCGTTTCAAGTACAGGGCA 838

Q:    839 AGTCCAAAAGGGGAGAAGAGGATCGGGTCTTTACAGATAAAACAAGTGCCACCGTTATAT 898
S:    839 AGAGCAAGAGAGAGAAAGAGATAGAGTCTTACAGGACAGCTCAGCCACGGTATCTCT

```

Q: 899 GCCGGAAGAATGCTCTATTCTGTGCGTGCAGGACAGATACTATAGCAGCTCTTGA 958
 S: 899 GCCGCAAAAATGCGCAGCATTAGCGTGCGGGCCAGGACCGCTACTATAGCTCATCTTGA 958
 Q: 959 GTGAATGGGC--CAGTGTCCCATGTTCA 984
 S: 959 GCGAATGGGCATCTGTG-CCC-TG--CA 982

[0664]

[0665]

천연 IL-12 p35에 대한 코돈 최적화 IL-12 p35의 정렬을 아래에 나타내었으며, 여기서 "S"는 천연 IL-12 p35(NM_00882.3; 서열번호 15의 뉴클레오타이드 1027 내지 1623)이고, "Q"는 코돈 최적화 IL-12 p35(서열번호 16의 뉴클레오타이드 1027 내지 1623)이다. 퍼센트 동일성은 80%이다.

Q: 1 AGAAATCTCCCTGTGGCTACACCTGATCCAGGCATGTTTCCTGTTTGCACCATAGCCAA 60
 S: 1 AGAAACCTCCCGTGCCACTCCAGACCAGGAATGTTCCATGCTTCACCACTCCCAA 60
 Q: 61 AACCTCTGAGAGCAGTCAGCAACATGCTCCAGAAAGCTAGACAAACACTGGAATTCTAC 120
 S: 61 AACCTGCTGAGGGCGCTCAGCAACATGCTCCAGAAAGCCAGACAAACTCTAGAATTTTAC 120
 Q: 121 CCATGCACCTCCGAGGAAATAGATCAGGAGATATCACTAAGGACAAAACAAGCACTGTC 180
 S: 121 CCTTGCACCTCTGAAGAGATTGATCATGAAGATATCAGAAAGATAAAACAGCACAGTG 180
 Q: 181 GAAGCATGCCCTTCCCTTGGAACTGACAAAGAACGAGAGTTGCCCTTAATTCAGAGAAACA 240
 S: 181 GAGGCCCTGTTTACCATTTGAATTAACCAAGAAATGAGAGTTGCCCTAAATTCAGAGAGACC 240
 Q: 241 TCTTTCATTACAAACGGTAGCTGCTTGGCAAGCAGAAAAACATCTTTTATGATGGCCCTT 300
 S: 241 TCTTTCATAACTAATGGGAGTTGCCCTGCTCCAGAAAGACCTCTTTTATGATGGCCCTG 300
 Q: 301 TGCTTGAGCAGTATTTATGAGGATCTCAAAATGTACCAGGTGGAGTTTAAGACCATGAAT 360
 S: 301 TGCCCTTAGTAGATTATTAAGAGCTTGAAGATGTACCAGGTGGAGTTCAAGACCATGAAT 360
 Q: 361 GCCAAGCTGTGATGGACCAAGAGACAGATTTTCTCGATCAGAAATGCTGGCTGTG 420
 S: 361 GCAAAGCTTCTGATGGATCCTAAGAGGCAGATCTTCTAGATCAAAACATGCTGGCAGTT 420
 Q: 421 ATTGATGAACGTGATGCGGCCCTTGAATTTCAACAGCGAAACCGTTCCCAAGAAAGCAGT 480
 S: 421 ATTGATGAGCTGATGCGGCCCTTGAATTTCAACAGTGAGACTGTGCCACAAAATCTCTCC 480
 Q: 481 CTTGAAGAACCTGACTTTTATAAGACCAAGATCAAACTGTGTATTCTCTGCATGCCCTT 540
 S: 481 CTTGAAGAACCGGATTTTATAAACTAAATCAAGCTCTGCATCTCTTCATGCTTTC 540
 Q: 541 AGAATCAGAGCAGTCACTATAGATAGAGTGATGCTCCTCACTGAATGCTTCC 591
 S: 541 AGAATTCGGSCAGTGACTATTGATAGAGTGATGAGTATCTGAATGCTTCC 591

[0666]

[0667]

일부 구현예에서, 조성물은 IL-12sc를 암호화하는 코돈 최적화 DNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 IL-12 p40을 암호화하는 코돈 최적화 DNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 IL-12 p35를 암호화하는 코돈 최적화 DNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 코돈 최적화 DNA 서열은 서열번호 16을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, DNA 서열은 서열번호 16에 대해 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 코돈 최적화 DNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, IL-12 p40을 암호화하는 코돈 최적화 DNA 서열은 IL-12sc-p40을 암호화하는 뉴클레오타이드(서열번호 16의 뉴클레오타이드 1 내지 984)를 포함한다. 일부 구현예에서, IL-12 p35를 암호화하는 코돈 최적화 DNA 서열은 IL-12sc-p35를 암호화하는 뉴클레오타이드(서열번호 16의 뉴클레오타이드 1027 내지 1623)를 포함한다. 일부 구현예에서, IL-12sc를 암호화하는 코돈 최적화 DNA 서열은 IL-12sc-p40을 암호화하는 뉴클레오타이드(서열번호 16의 뉴클레오타이드 1 내지 984) 및 서열번호 16의 -p35(서열번호 16의 뉴클레오타이드 1027 내지 1623) 부분을 포함하고, p40 및 p35 부분을 연결하는 링커 폴리펩티드를 암호화하는 p40 및 p35 부분 사이의 뉴클레오타이드(예컨대, 서열번호 16의 985 내지 1026)를 더 포함한다. 당업자에게 공지된 임의의 링커가 이용될 수 있다. p40 부분은 p35 부분에 대해 5' 또는 3'일 수 있다.

[0668]

일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, IL-12sc를 암호화하는 DNA 서열로부터 전사된 RNA 서열을 포함한다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 서열번호 15 또는 16을 포함하는 뉴클레오타이드 서열로부터 전사된다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 서열번호 17 또는 18을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 서열번호 17 또는 18에 대해 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 RNA 서열을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 IL-12sc-p40을 암호화하는 뉴클레오타이드(서열번호 17 또는 18의 뉴클레오타이드 1 내지 984) 및 서열번호 17 또는 18의 -p35(서열번호 17 또는 18의 뉴클레오타이드 1027 내지 1623) 부분을 포함한다. 일부 구현예에서, IL-12sc를 암호화하는 코돈 최적화

RNA 서열은 IL-12sc-p40을 암호화하는 뉴클레오타이드(서열번호 18의 뉴클레오타이드 1 내지 984) 및 서열번호 18의 -p35(서열번호 18의 뉴클레오타이드 1027 내지 1623) 부분을 포함하고, p40 및 p35 부분을 연결하는 링커 폴리펩티드를 암호화하는 p40 및 p35 부분 사이의 뉴클레오타이드를 더 포함한다. 당업자에게 공지된 임의의 링커가 이용될 수 있다.

[0669] 일부 구현예에서, IL-12sc RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오시드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오시드는 슈도우리딘(Ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\Psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오시드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\Psi$)이다.

[0670] 일부 구현예에서, IL-12sc RNA는 5' 말단에 변경된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, RNA는 5' 캡을 포함한다. 당해 분야에 공지된 임의의 5' 캡이 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 5'-5' 삼인산 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 티오인산염 개질을 포함한 5'-5' 삼인산 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 2'-O 또는 3'-O-리보스-메틸화 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 개질된 구아노신 뉴클레오타이드 또는 개질된 아데노신 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 7-메틸구아닐산을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 Cap0 또는 Cap1이다. 예시적인 캡 구조는 m7G(5')ppp(5')G, m7,2'-O-mG(5')ppp(5')G, m7G(5')ppp(5')2'-O-mG, 및 m7,3'-O-mG(5')ppp(5')2'-O-mA를 포함한다.

[0671] 일부 구현예에서, IL-12sc RNA는 5' 비해독 부위(UTR)를 포함한다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 개시 코돈의 상류이다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 RNA의 번역을 조절한다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 안정화 서열이다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 RNA의 반감기를 증가시킨다. 당해 분야에 공지된 임의의 5' UTR이 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 5' UTR RNA 서열은 서열번호 1, 3, 또는 5로부터 전사된다. 일부 구현예에서, 5' UTR RNA 서열은 서열번호 2, 4, 또는 6을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, 5' UTR RNA 서열은 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일하다.

[0672] 일부 구현예에서, IL-12sc RNA는 3' UTR을 포함한다. 일부 구현예에서, 3' UTR은 번역 종결 코돈 뒤에 온다. 일부 구현예에서, 3' UTR은 RNA의 폴리아데닐화, 번역 효율, 국재화, 또는 안정성을 조절한다. 일부 구현예에서, 3' UTR RNA 서열은 서열번호 7로부터 전사된다. 일부 구현예에서, 3' UTR RNA 서열은 서열번호 8을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, 3' UTR RNA 서열은 서열번호 8에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일하다.

[0673] 일부 구현예에서, IL-12sc 조성물은 5' UTR 및 3' UTR을 포함한다. 일부 구현예에서, IL-12sc 조성물은 5' UTR만을 포함한다. 일부 구현예에서, IL-12sc 조성물은 3' UTR만을 포함한다.

[0674] 일부 구현예에서, IL-12sc RNA는 폴리-A 꼬리를 포함한다. 일부 구현예에서, RNA는 적어도 약 25개, 적어도 약 30개, 적어도 약 50개 뉴클레오타이드, 적어도 약 70개 뉴클레오타이드, 또는 적어도 약 100개 뉴클레오타이드의 폴리-A 꼬리를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 200개 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 서열번호 78을 포함하거나 이로 구성된다.

[0675] 일부 구현예에서, RNA는 5' 캡, 5' UTR, IL-12sc를 암호화하는 핵산, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 이 순서대로 포함한다.

[0676] 일부 구현예에서, 조성물은 서열번호 15 또는 16에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열을 포함한다.

[0677] 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, 서열번호 15 또는 16에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열로부터 전사된, RNA 서열을 포함한다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다. 일부 구현예에서, IL-12sc RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오시드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오시드는 슈도우리딘(Ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\Psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오시드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\Psi$)이다.

- [0678] 일부 구현예에서, 조성물은 서열번호 15 또는 16에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열을 포함한다.
- [0679] 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, 서열번호 15 또는 16에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열로부터 전사된, RNA 서열을 포함한다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다. 일부 구현예에서, IL-12sc RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오타이드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)이다.
- [0680] 일부 구현예에서, 조성물은 서열번호 15 또는 16에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열을 포함한다.
- [0681] 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, 서열번호 15 또는 16에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열로부터 전사된 RNA 서열을 포함한다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다. 일부 구현예에서, IL-12sc RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오타이드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)이다.
- [0682] 일부 구현예에서, 조성물은 서열번호 17 또는 18에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 8에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 RNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, IL-12sc RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다.
- [0683] **C. 인터페론 알파(IFN α)**
- [0684] 일부 구현예에서, 조성물은 인터페론 알파(IFN α)를 암호화하는 DNA 서열(예컨대, 서열번호 19)을 포함한다. 이 IFN α 를 암호화하는 예시적인 DNA 서열은 서열번호 20으로 제공된다.
- [0685] 천연 IFN α 에 대한 코돈 최적화 IFN α 의 정렬을 아래에 나타내었으며, 여기서 "S"는 천연 IFN α (NM_000605.3; 서열번호 20)이고, "Q"는 코돈 최적화 IFN α (서열번호 21)이다. 퍼센트 동일성은 79%이다.


```

Q: 1 ATGGCCCTGACTTTTGCCTTCTCGTGGCTTTGTTGGTGTGAGTTGCAATCTTCCTGT 60
S: 1 ATGGCCCTGACTTTTGTCTTACTGGTGGCCCTCTGGTGTGAGTGAAGTCAAGCTGC 60

Q: 61 AGTGTGGATGTGATCTGCTCAAACCCACAGTCTGGG-ATCTAGGAGAACACTGATGCT 119
S: 61 TCTGTGGGCTGTGATCTGCTCAAACCCACAGCTGGGTAGC-AGGAGGACCTTGATGCT 119

Q: 120 GTTGGCACAGATGAGGAGAAT-TAGC-CTCTTTTCTGCTGAAGGATAGACATGACTTC 177
S: 120 CCTGGCACAGATGAGGAGAATCT--CTCTTTTCTCTGCTTGAAGGACAGACATGACTTT 177

Q: 178 GGCTTTCCCAAGAGGAGTTTGGCAATCAGTTCCAGAAAGCGAAACGATTCCTGTTCTG 237
S: 178 GGATTTCCCAAGGAGAGTTTGGCAACCAGTTCCAAAGGCTGAAACCATCCTGTCTCTC 237

Q: 238 CACGAGATGATCCAGCAGATCTTCAACCTCTTTTCAAC-CAAAG-ACAGCTCAGCAGCT 295
S: 238 CATGAGATGATCCAGCAGATCTTCAATCTCTT--CAGCACAAAGGACTCATCTGCTGCTT 295

Q: 296 GGGATGAGACACTGCTGGACAAATTCTACACAGAACTGTATCAGCAGCTTAACGATCTGG 355
S: 296 GGGATGAGACCTCTCTAGACAAATTCTACTGAACTCTAECAGCAGCTGAATGACCTGG 355

Q: 356 AGGCATGCTGATCCAAAGGGTGTGGTGTGACTGAAACTCCGCTTATGAAGGAGGACTCCA 415
S: 356 AAGCCTGTGTGATACAGGGGTGGGGGTGACAGAGACTCCCTGATGAAGGAGGACTCCA 415

Q: 416 TTCTGGCTGTGAGGAAGTACTTCCAGAGAATAACCTCTATCTGAAGGAGAAGAACTACT 475
S: 416 TTCTGGCTGTGAGGAATACTTCCAAAGAACTACTCTATCTGAAGGAGAAGAAATACA 475

Q: 476 CACCATGTGCTTGGGAAGTCGTGAGAGCCGAAATCATGAGATCTTCAGCCTTAG-CACC 534
S: 476 GCCCTGTGCTTGGGAGGTGTGAGAGCAGAAATCATGAGATC-TTTTTC-TTGTCAAC 533

Q: 535 AATC-TCCAGGAATCTCTGAGAAGCAAGAG 564
S: 534 AAACCTGCAAGAAAGTTTAAGAAGTAAGGAA 564

```

[0686]

[0687]

일부 구현예에서, 조성물은 IFN α 를 암호화하는 코돈 최적화 DNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, 코돈 최적화 DNA 서열은 서열번호 21의 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, DNA 서열은 서열번호 21에 대해 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 코돈 최적화 DNA 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

[0688]

일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, IFN α 를 암호화하는 DNA 서열로부터 전사된 RNA 서열을 포함한다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 서열번호 20 또는 21을 포함하는 뉴클레오타이드 서열로부터 전사된다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 서열번호 22 또는 23을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 서열번호 22 또는 23에 대해 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 RNA 서열을 포함하거나 이로 구성된다.

[0689]

일부 구현예에서, IFN α RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA의 각각의 우리딘은 개질된다. 일부 구현예에서, RNA의 각각의 우리딘은 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)으로 개질된다.

[0690]

일부 구현예에서, IFN α RNA는 5' 말단에 변경된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, IFN α RNA는 5' 캡을 포함한다. 당해 분야에 공지된 임의의 5' 캡이 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 5'-5' 삼인산 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 티오인산염 개질을 포함한 5'-5' 삼인산 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 2'-O 또는 3'-O-리보스-메틸화 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 개질된 구아노신 뉴클레오타이드 또는 개질된 아데노신 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 7-메틸구아닐산을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 Cap0 또는 Cap1이다. 예시적인 캡 구조는 m7G(5')ppp(5')G, m7,2'-O-mG(5')ppsp(5')G, m7G(5')ppp(5')2'-O-mG 및 m7,3'-O-mG(5')ppp(5')2'-O-mA를 포함한다.

[0691]

일부 구현예에서, IFN α RNA는 5' 비해독 부위(UTR)를 포함한다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 개시 코돈의 상류이다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 RNA의 번역을 조절한다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 안정화 서열이다. 일부

구현예에서, 5' UTR은 RNA의 반감기를 증가시킨다. 당해 분야에 공지된 임의의 5' UTR이 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 5' UTR RNA 서열은 서열번호 1, 3, 또는 5를 포함하는 뉴클레오티드 서열로부터 전사된다. 일부 구현예에서, 5' UTR RNA 서열은 서열번호 2, 4, 또는 6을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, 5' UTR RNA 서열은 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일하다.

[0692] 일부 구현예에서, IFN α RNA는 3' UTR을 포함한다. 일부 구현예에서, 3' UTR은 번역 종결 코돈 뒤에 온다. 일부 구현예에서, 3' UTR은 RNA의 폴리아데닐화, 번역 효율, 국제화, 또는 안정성을 조절한다. 일부 구현예에서, 3' UTR RNA 서열은 서열번호 7을 포함하는 뉴클레오티드 서열로부터 전사된다. 일부 구현예에서, 3' UTR RNA 서열은 서열번호 8을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, 3' UTR RNA 서열은 서열번호 8에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일하다.

[0693] 일부 구현예에서, IFN α 조성물은 5' UTR 및 3' UTR을 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 5' UTR만을 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 3' UTR만을 포함한다.

[0694] 일부 구현예에서, IFN α RNA는 폴리-A 꼬리를 포함한다. 일부 구현예에서, IFN α RNA는 적어도 약 25개, 적어도 약 30개, 적어도 약 50개 뉴클레오티드, 적어도 약 70개 뉴클레오티드, 또는 적어도 약 100개 뉴클레오티드의 폴리-A 꼬리를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 200개 이상의 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 서열번호 78을 포함하거나 이로 구성된다.

[0695] 일부 구현예에서, RNA는 5' 캡, 5' UTR, IFN α 를 암호화하는 핵산, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 이 순서대로 포함한다.

[0696] 일부 구현예에서, 조성물은 서열번호 20 또는 21에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열을 포함한다.

[0697] 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, 서열번호 20 또는 21에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열로부터 전사된, RNA 서열을 포함한다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다. 일부 구현예에서, IFN α RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오티드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오티드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오티드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)이다.

[0698] 일부 구현예에서, 조성물은 서열번호 20 또는 21에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열을 포함한다.

[0699] 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, 서열번호 20 또는 21에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열로부터 전사된, RNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, IFN α RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오티드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오티드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오티드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)이다.

[0700] 일부 구현예에서, 조성물은 서열번호 20 또는 21에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열을 포함한다.

[0701] 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, 서열번호 20 또는 21에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%,

95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열로부터 전사된 RNA 서열을 포함한다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다. 일부 구현예에서, IFN α RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오타이드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)이다. 일부 구현예에서, 조성물은 서열번호 22 또는 23에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 8에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 RNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, IFN α RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다.

[0702] D. IL-15 스시

[0703] 본 명세서에 사용된 용어 "IL-15 스시"는 가용성 인터루킨 15(IL-15) 수용체 알파 스시 도메인 및 성숙 인터루킨 알파(IL-15)를 융합 단백질로서 포함하는 구성체를 말한다. 일부 구현예에서, 조성물은 IL-15 스시를 암호화하는 DNA 서열(서열번호 24)을 포함하며, 이는 가용성 IL-15 수용체 알파쇄(스시), 다음으로 글리신-세린(GS) 링커, 다음으로 IL-15의 성숙 서열을 포함한다. 이 IL-15 스시를 암호화하는 DNA 서열은 서열번호 25로 제공된다.

[0704] 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, IL-15 스시를 암호화하는 DNA 서열로부터 전사된 RNA 서열을 포함한다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 서열번호 25를 포함하는 뉴클레오타이드 서열로부터 전사된다. 일부 구현예에서, 링커를 암호화하는 뉴클레오타이드는 완전히 부존재하거나, 적합한 링커를 암호화하는 임의의 뉴클레오타이드로 일부 또는 전부 교체될 수 있다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 서열번호 26을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 서열번호 26에 대해 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 RNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, IL-15 스시를 암호화하는 DNA 또는 RNA 서열은 IL-15 수용체 알파의 스시 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드(예컨대, 서열번호 25 또는 26의 뉴클레오타이드 1 내지 321) 및 성숙 IL-15를 암호화하는 뉴클레오타이드(예컨대, 서열번호 25 또는 26의 뉴클레오타이드 382 내지 729)를 포함한다. 일부 구현예에서, IL-15 스시를 암호화하는 DNA 또는 RNA 서열은 IL-15 수용체 알파의 스시 도메인을 암호화하는 뉴클레오타이드(예컨대, 서열번호 25 또는 26의 뉴클레오타이드 1 내지 321) 및 성숙 IL-15를 암호화하는 뉴클레오타이드(예컨대, 서열번호 25 또는 26의 뉴클레오타이드 382 내지 729)를 포함하고, 이 부분들을 연결하는 링커 폴리펩티드를 암호화하는 이 부분들 사이의 뉴클레오타이드를 더 포함한다. 일부 구현예에서, 링커는 서열번호 25 또는 26의 뉴클레오타이드 322 내지 381을 포함한다. 당업자에게 공지된 임의의 링커가 이용될 수 있다.

[0705] 일부 구현예에서, IL-15 스시 RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오타이드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)이다.

[0706] 일부 구현예에서, IL-15 스시 RNA는 5' 말단에 변경된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, IL-15 스시 RNA는 5' 캡을 포함한다. 당해 분야에 공지된 임의의 5' 캡이 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 5'-5' 삼인산 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 티오인산염 개질을 포함한 5'-5' 삼인산 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 2'-O 또는 3'-O-리보스-메틸화 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 개질된 구아노신 뉴클레오타이드 또는 개질된 아데노신 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 7-메틸구아닐산을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 Cap0 또는 Cap1이다. 예시적인 캡 구조는 m7G(5')ppp(5')G, m7,2'-O-mG(5')ppsp(5')G, m7G(5')ppp(5')2'-O-mG 및 m7,3'-O-mG(5')ppp(5')2'-O-mA를 포함한다.

[0707] 일부 구현예에서, IL-15 스시 RNA는 5' 비해독 부위(UTR)를 포함한다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 개시 코돈의

상류이다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 RNA의 번역을 조절한다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 안정화 서열이다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 RNA의 반감기를 증가시킨다. 당해 분야에 공지된 임의의 5' UTR이 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 5' UTR RNA 서열은 서열번호 1, 3, 또는 5로부터 전사된다. 일부 구현예에서, 5' UTR RNA 서열은 서열번호 2, 4, 또는 6을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, 5' UTR RNA 서열은 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일하다.

[0708] 일부 구현예에서, IL-15 스시 RNA는 3' UTR을 포함한다. 일부 구현예에서, 3' UTR은 번역 종결 코돈 뒤에 온다. 일부 구현예에서, 3' UTR은 RNA의 폴리아데닐화, 번역 효율, 국제화, 또는 안정성을 조절한다. 일부 구현예에서, 3' UTR RNA 서열은 서열번호 7로부터 전사된다. 일부 구현예에서, 3' UTR RNA 서열은 서열번호 8을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, 3' UTR RNA 서열은 서열번호 8에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일하다.

[0709] 일부 구현예에서, IL-15 스시 조성물은 5' UTR 및 3' UTR을 포함한다. 일부 구현예에서, IL-15 스시 조성물은 5' UTR만을 포함한다. 일부 구현예에서, IL-15 스시 조성물은 3' UTR만을 포함한다.

[0710] 일부 구현예에서, IL-15 스시 RNA는 폴리-A 꼬리를 포함한다. 일부 구현예에서, RNA는 적어도 약 25개, 적어도 약 30개, 적어도 약 50개 뉴클레오티드, 적어도 약 70개 뉴클레오티드, 또는 적어도 약 100개 뉴클레오티드의 폴리-A 꼬리를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 200개 이상의 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 서열번호 78을 포함하거나 이로 구성된다.

[0711] 일부 구현예에서, RNA는 5' 캡, 5' UTR, IL-15 스시를 암호화하는 핵산, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 이 순서대로 포함한다.

[0712] 일부 구현예에서, IL-15 스시 조성물은 서열번호 25에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열을 포함한다.

[0713] 일부 구현예에서, IL-15 스시 조성물은 예를 들어, 서열번호 25에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열로부터 전사된, RNA 서열을 포함한다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다. 일부 구현예에서, IFN α RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오티드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오티드는 슈도우리딘(Ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\Psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오티드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\Psi$)이다.

[0714] 일부 구현예에서, IL-15 스시 조성물은 서열번호 25에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열을 포함한다.

[0715] 일부 구현예에서, IL-15 스시 조성물은 예를 들어, 서열번호 25에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열로부터 전사된, RNA 서열을 포함한다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다. 일부 구현예에서, IFN α RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오티드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오티드는 슈도우리딘(Ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\Psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오티드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\Psi$)이다.

[0716] 일부 구현예에서, IL-15 스시 조성물은 서열번호 25에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열을 포함한다.

[0717] 일부 구현예에서, IL-15 스시 조성물은 예를 들어, 서열번호 25에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%,

96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열로부터 전사된 RNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, IFN α RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오시드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오시드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오시드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)이다.

[0718] 일부 구현예에서, IL-15 스시 조성물은 서열번호 26에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 8에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 RNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, IFN α RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오시드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오시드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다.

[0719] E. 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF)

[0720] 일부 구현예에서, 조성물은 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF)를 암호화하는 DNA 서열(예컨대, 서열번호 27)을 포함한다. 일부 구현예에서, GM-CSF를 암호화하는 DNA 서열은 서열번호 28로 제공된다.

[0721] 일부 구현예에서, GM-CSF 조성물은 예를 들어, GM-CSF를 암호화하는 DNA 서열로부터 전사된 RNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 서열번호 28로부터 전사된다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 서열번호 29를 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, RNA 서열은 서열번호 29에 대해 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일성을 갖는 RNA 서열을 포함한다.

[0722] 일부 구현예에서, GM-CSF RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오시드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오시드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오시드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오시드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)이다. 일부 구현예에서, GM-CSF RNA는 5' 말단에 변경된 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 구현예에서, RNA는 5' 캡을 포함한다. 당해 분야에 공지된 임의의 5' 캡이 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 5'-5' 삼인산 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 티오인산염 개질을 포함한 5'-5' 삼인산 연결을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 2'-O 또는 3'-O-리보스-메틸화 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 개질된 구아노신 뉴클레오티드 또는 개질된 아데노신 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 7-메틸구아닐산을 포함한다. 일부 구현예에서, 5' 캡은 Cap0 또는 Cap1이다. 예시적인 캡 구조는 $m7G(5')ppp(5')G$, $m7,2'-O-mG(5')ppsp(5')G$, $m7G(5')ppp(5')2'-O-mG$ 및 $m7,3'-O-mG(5')ppp(5')2'-O-mA$ 를 포함한다.

[0723] 일부 구현예에서, GM-CSF RNA는 5' 비하독 부위(UTR)를 포함한다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 개시 코돈의 상류이다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 RNA의 번역을 조절한다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 안정화 서열이다. 일부 구현예에서, 5' UTR은 RNA의 반감기를 증가시킨다. 당해 분야에 공지된 임의의 5' UTR이 이용될 수 있다. 일부 구현예에서, 5' UTR RNA 서열은 서열번호 1, 3, 또는 5로부터 전사된다. 일부 구현예에서, 5' UTR RNA 서열은 서열번호 2, 4, 또는 6을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, 5' UTR RNA 서열은 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일하다.

[0724] 일부 구현예에서, GM-CSF RNA는 3' UTR을 포함한다. 일부 구현예에서, 3' UTR은 번역 종결 코돈 뒤에 온다. 일부 구현예에서, 3' UTR은 RNA의 폴리아데닐화, 번역 효율, 국재화, 또는 안정성을 조절한다. 일부 구현예에서, 3' UTR RNA 서열은 서열번호 7로부터 전사된다. 일부 구현예에서, 3' UTR RNA 서열은 서열번호 8을 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, 3' UTR RNA 서열은 서열번호 8에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일하다.

[0725] 일부 구현예에서, GM-CSF 조성물은 5' UTR 및 3' UTR을 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 5' UTR만을 포함

한다. 일부 구현예에서, 조성물은 3' UTR만을 포함한다.

- [0726] 일부 구현예에서, GM-CSF RNA는 폴리-A 꼬리를 포함한다. 일부 구현예에서, RNA는 적어도 약 25개, 적어도 약 30개, 적어도 약 50개 뉴클레오타이드, 적어도 약 70개 뉴클레오타이드, 또는 적어도 약 100개 뉴클레오타이드의 폴리-A 꼬리를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 200개 이상의 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 폴리-A 꼬리는 서열번호 78을 포함하거나 이로 구성된다.
- [0727] 일부 구현예에서, GM-CSF RNA는 5' 캡, 5' UTR, GM-CSF를 암호화하는 뉴클레오타이드, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 이 순서대로 포함한다.
- [0728] 일부 구현예에서, GM-CSF 조성물은 서열번호 28에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열을 포함한다.
- [0729] 일부 구현예에서, GM-CSF 조성물은 예를 들어, 서열번호 28에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열로부터 전사된, RNA 서열을 포함한다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다. 일부 구현예에서, GM-CSF RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오타이드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)이다.
- [0730] 일부 구현예에서, GM-CSF 스시 조성물은 서열번호 28에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열을 포함한다.
- [0731] 일부 구현예에서, GM-CSF 조성물은 예를 들어, 서열번호 28에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고, 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열로부터 전사된, RNA 서열을 포함한다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다. 일부 구현예에서, GM-CSF RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오타이드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)이다.
- [0732] 일부 구현예에서, GM-CSF 조성물은 서열번호 28에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열을 포함한다.
- [0733] 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, 서열번호 28에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 1, 3, 또는 5에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 7에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 DNA 서열로부터 전사된 RNA 서열을 포함한다. 이 RNA는 재조합으로 생성될 수도 있다. 일부 구현예에서, GM-CSF RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, RNA는 각 우리딘 대신 개질된 뉴클레오타이드를 포함한다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오타이드는 N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$)이다.
- [0734] 일부 구현예에서, GM-CSF 조성물은 서열번호 29에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 2, 4, 또는 6에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일하고; 서열번호 8에 대해 적어도 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 100% 동일한 핵산 서열을 포함하거나 이로 구성된 RNA 서열을 포함한다. 일부 구현예에서, GM-CSF

RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다.

[0735] **F. 개질**

[0736] 본 명세서에 기술된 RNA 및 조성물 각각은 당업자에게 공지된 임의의 방법으로 개질될 수 있다. 일부 구현예에서, 개질은 본 명세서에 기술된 바와 같이 "ModA" 또는 "ModB" 개질된다.

[0737] 일부 구현예에서, RNA의 1개 이상의 우리딘은 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 개질된 뉴클레오타이드는 개질된 우리딘이다.

[0738] 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 우리딘은 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다.

[0739] 일부 구현예에서, RNA의 1개 이상의 시토신, 아데닌 또는 구아닌은 개질된 핵염기(들)로 교체된다. 일 구현예에서, 시토신을 교체하는 개질된 핵염기는 5-메틸시토신(m^5C)이다. 또 다른 구현예에서, 아데닌을 교체하는 개질된 핵염기는 N⁶-메틸아데닌(m^6A)이다. 또 다른 구현예에서, 분자의 면역원성을 감소시키기 위하여 당해 분야에 공지된 임의의 기타 개질된 핵염기가 사용될 수 있다.

[0740] RNA의 1개 이상의 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 다음 중 임의의 1종 이상일 수 있다: 3-메틸-우리딘(m^3U), 5-메톡시-우리딘(mo^5U), 5-아자-우리딘, 6-아자-우리딘, 2-티오-5-아자-우리딘, 2-티오-우리딘(s^2U), 4-티오-우리딘(s^4U), 4-티오-슈도우리딘, 2-티오-슈도우리딘, 5-하이드록시-우리딘(ho^5U), 5-아미노알릴-우리딘, 5-할로-우리딘(예컨대, 5-요오도-우리딘 또는 5-브로모-우리딘), 우리딘 5-옥시아세트산(cmo^5U), 우리딘 5-옥시아세트산 메틸 에스테르($mcmo^5U$), 5-카르복시메틸-우리딘(cm^5U), 1-카르복시메틸-슈도우리딘, 5-카르복시하이드록시메틸-우리딘(chm^5U), 5-카르복시하이드록시메틸-우리딘 메틸 에스테르($mchm^5U$), 5-메톡시카르보닐메틸-우리딘(mcm^5U), 5-메톡시카르보닐메틸-2-티오-우리딘(mcm^5s^2U), 5-아미노메틸-2-티오-우리딘(nm^5s^2U), 5-메틸아미노메틸-우리딘(mnm^5U), 1-에틸-슈도우리딘, 5-메틸아미노메틸-2-티오-우리딘(mnm^5s^2U), 5-메틸아미노메틸-2-셀레노-우리딘(mnm^5se^2U), 5-카바모일메틸-우리딘(ncm^5U), 5-카르복시메틸아미노메틸-우리딘($cmnm^5U$), 5-카르복시메틸아미노메틸-2-티오-우리딘($cmnm^5s^2U$), 5-프로피닐-우리딘, 1-프로피닐-슈도우리딘, 5-타우리노메틸-우리딘(τm^5U), 1-타우리노메틸-슈도우리딘, 5-타우리노메틸-2-티오-우리딘(τm^5s^2U), 1-타우리노메틸-4-티오-슈도우리딘), 5-메틸-2-티오-우리딘(m^5s^2U), 1-메틸-4-티오-슈도우리딘($m^1s^4\psi$), 4-티오-1-메틸-슈도우리딘, 3-메틸-슈도우리딘($m^3\psi$), 2-티오-1-메틸-슈도우리딘, 1-메틸-1-데아자-슈도우리딘, 2-티오-1-메틸-1-데아자-슈도우리딘, 디하이드로우리딘(D), 디하이드로슈도우리딘, 5,6-디하이드로우리딘, 5-메틸-디하이드로우리딘(m^5D), 2-티오-디하이드로우리딘, 2-티오-디하이드로슈도우리딘, 2-메톡시-우리딘, 2-메톡시-4-티오-우리딘, 4-메톡시-슈도우리딘, 4-메톡시-2-티오-슈도우리딘, N1-메틸-슈도우리딘, 3-(3-아미노-3-카르복시프로필)우리딘(acp^3U), 1-메틸-3-(3-아미노-3-카르복시프로필)슈도우리딘($acp^3\psi$), 5-(이소펜테닐아미노메틸)우리딘(inm^5U), 5-(이소펜테닐아미노메틸)-2-티오-우리딘(inm^5s^2U), α -티오-우리딘, 2'-O-메틸-우리딘(Um), 5,2'-O-디메틸-우리딘(m^5Um), 2'-O-메틸-슈도우리딘(ψm), 2-티오-2'-O-메틸-우리딘(s^2Um), 5-메톡시카르보닐메틸-2'-O-메틸-우리딘(mcm^5Um), 5-카바모일메틸-2'-O-메틸-우리딘(ncm^5Um), 5-카르복시메틸아미노메틸-2'-O-메틸-우리딘($cmnm^5Um$), 3,2'-O-디메틸-우리딘(m^3Um), 5-(이소펜테닐아미노메틸)-2'-O-메틸-우리딘(inm^5Um), 1-티오-우리딘, 테옥시티미딘, 2'-F-아라-우리딘, 2'-F-우리딘, 2'-OH-아라-우리딘, 5-(2-카르보메톡시비닐)우리딘, 5-[3-(1-E-프로페닐아미노)우리딘, 또는 당해 분야에 공지된 임의의 기타 개질된 우리딘.

[0741] **G. 조합 조성물**

[0742] 일부 구현예에서, 본 발명은 본 명세서에 기술된 2종 이상의 RNA를 포함하는 조성물을 포함한다. 일부 구현예에

서, 조성물은 2종의 RNA를 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 3종의 RNA를 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 4종의 RNA를 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 5종의 RNA를 포함한다. 일부 구현예에서, IL-2, IL-12sc, IL-15 스시, GM-CSF, 또는 IFN α 를 암호화하는 임의의 또는 모든 RNA는 예컨대, 본 명세서에 기술된 이들 RNA를 포함하는 임의의 조성물 및 제형에서, IL-2, IL-12sc, IL-15 스시, GM-CSF, 및/또는 IFN α 폴리펩티드로 교체될 수 있다.

[0743] 일부 구현예에서, IL-2, IL-12sc, IL-15 스시, GM-CSF, 및/또는 IFN α 를 암호화하는 개질된 또는 비개질 RNA는 예컨대, 본 명세서에 기술된 이들 RNA를 포함하는 임의의 조성물 및 제형에서, IL-2, IL-12sc, IL-15 스시, GM-CSF 및 IFN α 폴리펩티드로부터 선택된 2종 이상의 폴리펩티드를 암호화하는 개질된 또는 비개질 폴리시스트론성 RNA로 교체될 수 있다.

[0744] 임의의 조합 조성물은 부형제 또는 희석제를 더 포함할 수 있다. 부형제 또는 희석제는 대상체에 투여하기 위하여 약학적으로 허용 가능한 것일 수 있다.

[0745] 일부 구현예에서, 조합 조성물은 동일한 개질이 있는 RNA를 포함한다. 일부 구현예에서, 조합 조성물은 상이한 개질이 있는 RNA를 포함한다. 일부 구현예에서, 조합 조성물은 ModA 개질이 있는 RNA를 포함한다. 일부 구현예에서, 조합 조성물은 ModB 개질이 있는 RNA를 포함한다. 일부 구현예에서, 조합 조성물은 ModA 및 ModB 개질이 있는 RNA를 포함한다.

[0746] 일부 구현예에서, IL-2를 암호화하는 DNA 또는 RNA 및, IL-12sc를 암호화하는 DNA 또는 RNA, IFN α 를 암호화하는 DNA 또는 RNA, IL-15 스시를 암호화하는 DNA 또는 RNA, 및 GM-CSF를 암호화하는 DNA 또는 RNA 중 1종 이상을 포함하는 조성물이 포함된다. 일부 구현예에서, 조성물은 본 명세서에 기술된 바와 같이, IL-2 또는 코돈 최적화 IL-2를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 10 내지 13) 및, IL-12sc 또는 최적화 IL-12sc를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 15 내지 18), IFN α 또는 최적화 IFN α 를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 20 내지 23), IL-15 스시를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 25 내지 26), 및 GM-CSF를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 28 내지 29) 중 1종 이상을 포함한다. 일부 구현예에서, RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, 조성물의 RNA 중 1종 이상은 조성물 섹션에서 본 명세서에 기술된 바와 같이 5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함한다.

[0747] 일부 구현예에서, IL-12sc를 암호화하는 DNA 또는 RNA 및, IL-2를 암호화하는 DNA 또는 RNA, IFN α 를 암호화하는 DNA 또는 RNA, IL-15 스시를 암호화하는 DNA 또는 RNA, 및 GM-CSF를 암호화하는 DNA 또는 RNA 중 1종 이상을 포함하는 조성물이 포함된다. 일부 구현예에서, 조성물은 본 명세서에 기술된 바와 같이, IL-12sc 또는 코돈 최적화 IL-12sc를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 15 내지 18) 및, IL-2 또는 최적화 IL-2를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 10 내지 13), IFN α 또는 최적화 IFN α 를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 20 내지 23), IL-15 스시를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 25 내지 26), 및 GM-CSF를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 28 내지 29) 중 1종 이상을 포함한다. 일부 구현예에서, RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다.

[0748] 일부 구현예에서, 조성물의 RNA 중 1종 이상은 조성물 섹션에서 본 명세서에 기술된 바와 같이 5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함한다.

[0749] 일부 구현예에서, IFN α 를 암호화하는 DNA 또는 RNA 및, IL-2를 암호화하는 DNA 또는 RNA, IL-12sc를 암호화하는 DNA 또는 RNA, IL-15 스시를 암호화하는 DNA 또는 RNA, 및 GM-CSF를 암호화하는 DNA 또는 RNA 중 1종 이상을 포함하는 조성물이 포함된다. 일부 구현예에서, 조성물은 본 명세서에 기술된 바와 같이, IFN α 또는 코돈 최적화 IFN α 를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 20 내지 23) 및, IL-12sc 또는 최적화 IL-12sc를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 15 내지 18), IL-2 또는 최적화 IL-2를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 10 내지 13), IL-15 스시를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 25 내지 26), 및 GM-CSF를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 28 내지 29) 중 1종 이상을 포함한다. 일부 구현예에서, RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, 조성물의 RNA 중 1종 이상은 조성물 섹션에서 본 명세서에 기술된 바와 같이 5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함한다.

- [0750] 일부 구현예에서, IL-15 스시를 암호화하는 DNA 또는 RNA 및, IL-2를 암호화하는 DNA 또는 RNA, IL-12sc를 암호화하는 DNA 또는 RNA, IFN α 를 암호화하는 DNA 또는 RNA, 및 GM-CSF를 암호화하는 DNA 또는 RNA 중 1종 이상을 포함하는 조성물이 포함된다. 일부 구현예에서, 조성물은 본 명세서에 기술된 바와 같이, IL-15 스시를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 25 내지 26) 및, IL-12sc 또는 최적화 IL-12sc를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 15 내지 18), IFN α 또는 최적화 IFN α 를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 20 내지 23), IL-2 또는 최적화 IL-2를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 10 내지 13), 및 GM-CSF를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 28 내지 29) 중 1종 이상을 포함한다. 일부 구현예에서, RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, 조성물의 RNA 중 1종 이상은 조성물 섹션에서 본 명세서에 기술된 바와 같이 5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함한다.
- [0751] 일부 구현예에서, GM-CSF를 암호화하는 DNA 또는 RNA 및, IL-2를 암호화하는 DNA 또는 RNA, IL-12sc를 암호화하는 DNA 또는 RNA, IFN α 를 암호화하는 DNA 또는 RNA, 및 IL-15 스시를 암호화하는 DNA 또는 RNA 중 1종 이상을 포함하는 조성물이 포함된다. 일부 구현예에서, 조성물은 본 명세서에 기술된 바와 같이, GM-CSF를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 28 내지 29) 및, IL-12sc 또는 최적화 IL-12sc를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 15 내지 18), IFN α 또는 최적화 IFN α 를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 20 내지 23), IL-2 또는 최적화 IL-2를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 10 내지 13), 및 IL-15 스시를 암호화하는 DNA 또는 RNA(서열번호 25 내지 26) 중 1종 이상을 포함한다. 일부 구현예에서, RNA의 1개 이상의 우리딘은 본 명세서에 기술된 바와 같이 개질된 뉴클레오타이드로 교체된다. 일부 구현예에서, 우리딘을 교체하는 개질된 뉴클레오타이드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$) 또는 5-메틸-우리딘(m^5U)이다. 일부 구현예에서, 조성물의 RNA 중 1종 이상은 조성물 섹션에서 본 명세서에 기술된 바와 같이 5' 캡, 5' UTR, 3' UTR, 및 폴리-A 꼬리를 더 포함한다.
- [0752] 일부 구현예에서, 조성물은 GM-CSF, IL-2, 및 IL-12sc RNA를 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, ModA 또는 ModB로서 개질된다. 일부 구현예에서, IL-12sc RNA는 서열번호 18에 나타난 바와 같이 최적화된다.
- [0753] 일부 구현예에서, 조성물은 GM-CSF, IL-15 스시, 및 IL-12sc RNA를 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, ModA 또는 ModB로서 개질된다. 일부 구현예에서, IL-12sc RNA는 서열번호 18에 나타난 바와 같이 최적화된다.
- [0754] 일부 구현예에서, 조성물은 GM-CSF, IL-2, IL-12sc, 및 IFN α RNA를 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, ModA 또는 ModB로서 개질된다. 일부 구현예에서, IL-12sc RNA 및 IFN α RNA는 각각 서열번호 18 및 23에 나타난 바와 같이 최적화된다.
- [0755] 일부 구현예에서, 조성물은 GM-CSF, IL-15 스시, IL-12sc, 및 IFN α RNA를 포함한다. 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, ModA 또는 ModB로서 개질된다. 일부 구현예에서, IL-12sc RNA 및 IFN α RNA는 각각 서열번호 18 및 23에 나타난 바와 같이 최적화된다.
- [0756] 일부 구현예에서, 조성물은 GM-CSF, IL-15 스시, IL-12sc, 및 IFN α RNA를 포함하며, 이때, RNA는 서열번호 18(IL-12sc), 서열번호 23(IFN α), 서열번호 26(IL-15 스시), 또는 서열번호 29(GM-CSF)에 나타난 뉴클레오타이드를 포함하거나 이로 구성된다. 일부 구현예에서, 조성물은 예를 들어, ModA 또는 ModB로서 개질된다.
- [0757] 일부 구현예에서, RNA의 조합물은 동일한 RNA 질량을 기준으로 1:1, 1:1:1, 또는 1:1:1:1 비율로서 투여된다. 예를 들어, 20 μ g의 IL-15-스시, 20 μ g의 IL-12sc, 20 μ g의 IFN α 2b 및 20 μ g GM-CSF. 일부 구현예에서, 비율이 조정되어 상이한 중량비가 투여된다. 예를 들어, 1:10:1:10 비율(20 μ g, 200 μ g, 20 μ g, 200 μ g). 마찬가지로, 일부 구현예에서, 예를 들어, 1:2:3:4(20 μ g, 40 μ g, 60 μ g, 80 μ g)의 비율이 사용된다. 대안적으로, RNA의 질량에 대한 비율을 기초로 하기 보다는, 이 비율은 RNA의 몰 농도를 기초로 할 수 있다.
- [0758] 일부 구현예에서, RNA 혼합물은 혼합물의 각 RNA의 동일한 비율로 투여된다.
- [0759] 일부 구현예에서, RNA 혼합물은 혼합물의 각 RNA의 상이한 비율로 투여된다. 일부 구현예에서, 1종 이상의 RNA는 혼합물의 또 다른 RNA보다 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10배 더 많은 비율로 투여된다. 일부 구현예에서, 1종 이상의 RNA는 혼합물의 또 다른 RNA보다 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10배 더 적은 비율로 투여된다.
- [0760] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기술된 조성물은 의약 제제일 수 있다. 일부 구현예에서, 의약 제제는 키트를 포함하며, 이때, 포함된 RNA들은 동일한 바이알 또는 개별 바이알에 존재할 수 있다. 일부 구현예에서, 의약 제제

는 고형 종양의 치료 또는 예방을 위한 조성물 사용 설명서를 더 포함한다.

[0761] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기술된 조성물을 포함하는 키트가 제공되며, 이때, 포함된 RNA들은 동일한 바이알 또는 개별 바이알에 존재할 수 있다. 일부 구현예에서, 키트는 고형 종양의 치료 또는 예방을 위한 조성물 사용 설명서를 더 포함한다.

[0762] H. 개질된 mRNA 처리에 대한 IFN α 첨가의 효과

[0763] RNA는 다양한 패턴 인식 수용체(PRR) 자극을 통해 면역계를 활성화하여, (IFN α 와 같은) I형 인터페론의 생성을 초래할 수 있다. 다양한 개질된 뉴클레오타이드의 도입, 또는 투여되는 dsRNA 양의 감소와 같은 다른 변형은 RNA의 면역 자극 효과를 감소시킬 수 있다. 예상 외로, 실시예에 기술된 바와 같이, 뉴클레오타이드가 개질되고 dsRNA가 감소된, 인터페론 알파를 암호화하는 mRNA의 포함은 뉴클레오타이드가 개질되지 않고 dsRNA가 감소되지 않은 mRNA와 비교하여 항종양 활성을 개선하였다. 인터페론 알파를 암호화하는 mRNA의 첨가는 개질된 뉴클레오타이드의 포함 및 dsRNA 정제에 의해 제거된 면역 자극 효과 일부를 회복시켰다.

[0764] 일부 구현예에서, (임의의 형태 또는 아형의) IFN을 암호화하는 RNA가 제공되는데, 이때, IFN RNA는 변형되어 비변형 RNA와 비교하여 감소된 면역원성을 갖는다. 특정 구현예에서, 이 IFN의 투여는 비IFN 암호화 RNA의 항종양 반응을 개선한다. 일부 구현예에서, IFN α 를 암호화하는 RNA는 다른 RNA들이 면역원성을 감소시키도록 변형되었다면 이 다른 RNA들의 항종양 반응을 개선한다. 일 구현예에서, 면역원성을 감소시키는 변형은 dsRNA 양의 감소이다. 일부 양태에서, 면역원성을 감소시키는 변형은 하나 이상의 우리딘의 개질된 뉴클레오타이드로의 교체이다. 일부 양태에서, 면역원성을 감소시키는 변형은 dsRNA 양의 감소 및 하나 이상의 우리딘의 개질된 뉴클레오타이드로의 교체 둘 다이다. 일부 구현예에서, IFN은 IFN α 이다.

[0765] 일부 구현예에서, IFN RNA는 개질된 RNA의 항종양 반응을 개선한다. 일부 구현예에서, IFN RNA는 개질된 뉴클레오타이드를 포함하는 RNA들의 항종양 반응을 개선한다. 일부 구현예에서, IFN RNA는 슈도우리딘을 포함하는 mRNA의 항종양 반응을 개선한다. 일부 구현예에서, IFN RNA는 ModB 개질이 있는 RNA들의 항종양 반응을 개선한다.

[0766] 일부 구현예에서, IFN RNA는 IL-2의 RNA(서열번호 12 또는 13), IL-12sc의 RNA(서열번호 17 또는 18), IL-15 스시의 RNA(서열번호 26) 또는 GM-CSF의 RNA(서열번호 29)의 항종양 반응을 개선한다. 일부 구현예에서, RNA들은 ModB 개질을 포함한다.

[0767] 일부 구현예에서, IFN은 IFN α 이다.

[0768] 일부 구현예에서, IFN RNA 구성체는 서열번호 22 또는 23이다.

[0769] III. 방법 및 용도

[0770] 본 명세서에 기술된 임의의 RNA, 조성물, 의약 제제 및 조합 조성물은 암 또는 고형 종양 치료를 위하여 대상체에 투여될 수 있다. 일부 구현예에서, 암은 고형 종양이다. 일부 구현예에서, 고형 종양은 낭포 또는 액체 영역을 함유하지 않는 비정상적인 조직 덩어리이다. 일부 구현예에서, 고형 종양은 양성 또는 악성일 수 있다. 일부 구현예에서, 고형 종양은 전암성 병변이다. 일부 구현예에서, 고형 종양은 폐, 결장, 난소, 자궁경부, 자궁, 복막, 고환, 음경, 혀, 림프절, 췌장, 뼈, 유방, 전립선, 연조직, 결합조직, 신장, 간, 뇌, 갑상선, 또는 피부에서 발생한다.

[0771] 일부 구현예에서, 고형 종양은 육종, 암종, 또는 림프종이다. 일부 구현예에서, 고형 종양은 상피성 종양, 호지킨 림프종(HL), 비 호지킨 림프종, 전립선 종양, 난소 종양, 신장세포 종양, 소화관 종양, 간 종양, 결장직장 종양, 맥관 구조가 있는 종양, 중피종 종양, 췌장 종양, 유방 종양, 육종 종양, 폐 종양, 결장 종양, 뇌 종양, 흑색종 종양, 기저세포 암종, 편평상피세포 암종, 소세포 폐 종양, 신경모세포종 종양, 고환 종양, 암종 종양, 선암종 종양, 신경아교종 종양, 고환종 종양, 망막모세포종, 또는 골육종 종양이다. 일부 구현예에서, 고형 종양은 광선 각화증과 같은 전암성 병변이다.

[0772] 일부 구현예에서, RNA 조성물은 종양 안에(예컨대, 종양 내) 또는 종양 근처에(종양 주위) 주사하여 전달될 수 있다. 일부 구현예에서, RNA 조성물은 종양 제거 부위에 또는 그 근처에 전달될 수 있다.

[0773] 일부 구현예에서, RNA 조성물은 국소 용액, 연고, 또는 크림을 통해 전달될 수 있다.

[0774] 일부 구현예에서, RNA 조성물은 바이러스를 통해 전달될 수 있다. 일부 구현예에서, RNA 조성물은 종양세포붕괴성 바이러스와 같은, RNA 조성물을 암호화하는 바이러스로의 감염에 의해 전달될 수 있다. 일부 구현예에서, RNA 조성물은 종양세포붕괴성 바이러스에 의해 전달될 수 있다.

- [0775] 일부 구현예에서, 1회 초과 투여가 전달된다. 일부 구현예에서, 카테터가 복수 투여를 위하여 종양 부위 내에 또는 그 근처에 놓인다. 일부 구현예에서, 카테터가 복수 투여를 위하여 종양 제거 부위에 놓인다.
- [0776] 일부 구현예에서, 대상체는 인간이다. 일부 구현예에서, 대상체는 비인간 포유동물, 예컨대, 개, 고양이, 마우스, 랫트, 토끼, 양, 소, 말 및 돼지이다.
- [0777] 일부 구현예에서, RNA 조성물은 또 다른 치료법과 조합된다. 일부 구현예에서, RNA 조성물은 1종 초과 다른 치료법과 조합된다. 일부 구현예에서, RNA 조성물은 다중 양식 치료법으로 조합된다.
- [0778] 일부 구현예에서, 다른 치료법은 종양을 절개, 절제, 또는 감량하는 수술이다. 일부 구현예에서, 치료적 RNA 조성물은 종양을 절개, 절제, 또는 감량하는 수술 중에 투여된다.
- [0779] 일부 구현예에서, 다른 치료법은 방사선요법이다. 일부 구현예에서, 방사선요법은 외부 빔 방사선 치료 또는 입자 빔 방사선이다. 일부 구현예에서, 방사선요법은 카테터 또는 대구경의 침(large bore needle)을 통해 종양 내로 직접적으로 방사성 동위원소를 일시적 또는 영구적으로 이식하는 것을 수반하는 근접치료법이다. 일부 구현예에서, 방사성 동위원소는 ¹³⁷세슘, ¹⁹²이리듐, 또는 방사성 요오드이다. 일부 구현예에서, 방사선요법은 정맥 내 투여되는 방사성 동위원소 제제이다. 일부 구현예에서, 방사성 동위원소 제제는 방사성 요오드(¹³¹I), 스트론튬(⁸⁹Sr), 또는 사마륨(¹⁵³Sm)이다.
- [0780] 일부 구현예에서, 다른 치료법은 화학요법이다. 일부 구현예에서, 화학요법은 알킬화제, 항대사물질, 항미세관제, 국소이성질화효소 억제제, 또는 세포독성 항체이다.
- [0781] 일부 구현예에서, 화학요법은 항침습제(예컨대, 마리마스타트와 같은 금속단백분해효소 억제제 및 우로키나아제 플라스미노겐 활성화인자 수용체 기능의 억제제)를 포함한다. 일부 구현예에서, 화학요법은 성장 인자 기능(예컨대, 혈소판 유래 성장 인자 및 간세포 성장 인자) 억제제, 성장 인자 항체, 또는 성장 인자 수용체 항체(예컨대, 항-erbb2 항체 트라스투주맙 [허셉틴(Herceptin™)] 및 항-erbb1 항체 세툽시맙(cetuximab™))를 포함한다. 일부 구현예에서, 화학요법은 파르네실 전달효소 억제제이다. 일부 구현예에서, 화학요법은 티로신 키나아제 억제제, 예컨대, 표피 성장 인자 패밀리의 억제제(예를 들어, EGFR 패밀리의 티로신 키나아제 억제제, 예컨대, 게피티닙(이레사(Iressa™)), 엘로티닙(타르세바(Tarceva™)), 및 카네티닙(CI 1033), 또는 세린/트레오닌 키나아제 억제제)이다.
- [0782] 일부 구현예에서, 화학요법은 항증식제/항신생물제, 예컨대, 항대사제(예를 들어, 항엽산제, 예컨대, 메토틱렉세이트, 플루오로피리미딘, 예컨대, 5-플루오로우라실, 테가푸르, 푸린 및 아데노신 유사체, 시토신 아라비노시드); 항종양 항생제(예를 들어, 안트라사이클린, 예컨대, 아드리아마이신, 블레오마이신, 독소루비신, 다우노마이신, 에피루비신 및 이다루비신, 미토마이신-C, 닥티노마이신, 미트라마이신); 백금 유도체(예를 들어, 시스플라틴, 카보플라틴); 알킬화제(예컨대, 질소 머스타드, 멜팔란, 클로람부실, 부설판, 시클로포스파미드, 이포스파미드, 니트로소우레아, 티오테파); 항세포분열제(예를 들어, 빈카 알칼로이드, 예컨대, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 빈데신, 비노렐빈, 및 탁소이드, 예컨대, 탁솔, 탁소테레); 국소이성질화효소 억제제(예를 들어, 에피포도필로독신, 예컨대, 에토포시드 및 테니포시드, 암사크린, 토포테칸, 캄프토테신 및 또한 이리노테칸); 또는 티미딜산 합성효소 억제제(예를 들어, 알티트렉세드)를 포함한다.
- [0783] 일부 구현예에서, 화학요법은 항체-약물 접합체(ADC)이다. 일부 구현예에서, ADC는 세포독성(항암)제에 연결된 항체이다. 일부 구현예에서, ADC는 세포독성제의 종양 세포로의 표적화된 전달을 가능하게 한다. 일부 구현예에서, ADC는 정상 조직에 대하여 종양 세포로의 세포독성제의 우선 전달을 가능하게 한다.
- [0784] 일부 구현예에서, 화학요법은 상이한 작용제의 조합물과의 병용 요법이다. 일부 구현예에서, 조합물은 상이한 작용 메커니즘 및/또는 상이한, 중첩되지 않는 독성을 나타내는 상이한 작용제를 포함한다.
- [0785] 일부 구현예에서, 다른 치료법은 면역 자극제 또는 면역요법, 예컨대, 체크포인트 조절제/억제제이다. 숙주 면역계가 자신을 공격하는 것을 방지하는 체크포인트 조절제/억제제는 당해 분야에 잘 알려져 있으며, 예를 들어, CTLA-4, PD1, PDL1, GITR, OX40, LAG-3, 및 TIM-3을 포함한다. 일부 구현예에서, 면역 자극제, 면역요법, 또는 체크포인트 조절제/억제제는 단일클론 항체이다. 일부 구현예에서, 단일클론 항체는 PD1, PDL1, CTLA-4, LAG3, OX40, CD40, CD40L, 41BB, 41BBL, GITR, CD3, CD28, CD38, 또는 TGFβ에 대한 항체이다. 일부 구현예에서, 단일클론 항체는 이중특이적 항체이다. 일부 구현예에서, 면역 자극제는 세포 기반 면역요법이다. 일부 구현예에서, 면역 자극제는 사이토카인 또는 케모카인이다. 일부 구현예에서, 면역 자극제는 암 백신이다. 광범위한 면역 자극제가 당해 분야의 과학자 및 임상자에게 알려져 있으므로, 본 발명은 특정 면역 자극제와의 특수한 조

합물에 한정되지 않는다.

[0786] 일부 예에서, 본 명세서에 기술된 임의의 RNA, RNA 조성물, 의약 제제, 및 RNA 조합 조성물은 면역 자극제, 면역요법, 또는 체크포인트 조절제와 조합하여 투여될 수 있다. 일부 예에서, 본 명세서에 기술된 RNA, RNA 조성물, 및 RNA 조합 조성물은 고형 종양을 포함한 암을 치료하기 위하여 대상체에 항체와 조합하여 투여된다. 일부 구현예에서, 항체는 항-PD1 항체, 항-CTLA-4 항체, 또는 항-PD1 항체와 항-CTLA-4 항체의 조합물이다. 일부 구현예에서, 항체는 다중특이적 항체, 예컨대, 삼중특이적 또는 이중특이적 항체이다.

[0787] 일부 구현예에서, 항-PD1 항체는 키메라, 인간화 또는 인간 항체이다. 일부 구현예에서, 항-PD-1 항체는 단리된 및/또는 재조합 항체이다. 항-PD-1 항체의 예는 니볼루맙, 펌브롤리주맙, 세미플리맙, MEDI0608(과거 AMP-514; 예컨대, WO 2012/145493 및 미국 특허 제9,205,148호 참조), PDR001(예컨대, WO 2015/112900 참조), PF-06801591(예컨대, WO 2016/092419 참조), BGB-A317(예컨대, WO 2015/035606 참조)이다.

[0788] 일부 구현예에서, 항-PD-1 항체는 WO 2015/112800에 개시된 것들 중 하나이다(예컨대, PCT 공개공보의 표 1에서 H1M7789N, H1M7799N, H1M7800N, H2M7780N, H2M7788N, H2M7790N, H2M7791N, H2M7794N, H2M7795N, H2M7796N, H2M7798N, H4H9019P, H4xH9034P2, H4xH9035P2, H4xH9037P2, H4xH9045P2, H4xH9048P2, H4H9057P2, H4H9068P2, H4xH9119P2, H4xH9120P2, H4xH9128P2, H4xH9135P2, H4xH9145P2, H4xH8992P, H4xH8999P 및 H4xH9008P로 지칭된 것들 및 PCT 공개공보의 표 3에서 H4H7798N, H4H7795N2, H4H9008P 및 H4H9048P2로 지칭된 것들). WO 2015/112800의 개시 내용은 그 전체가 본 명세서에 참조로 포함된다. 예를 들어, WO 2015/112800에 개시된 항체 및 관련 항체(이 PCT 공개공보에 개시된 CDR, VH 및 VL 서열, 또는 중쇄 및 경쇄 서열을 갖는 항체 및 항원-결합 단편뿐만 아니라, 이 PCT 공개공보에 개시된 항체와 동일한 PD-1 에피토프에 결합하는 항체 및 항원-결합 단편도 포함)는 암 치료 및/또는 예방을 위하여 본 발명의 RNA 조성물과 함께 사용될 수 있다.

[0789] 관련 구현예에서, 항-PD-1 항체는 아래에서 각각 서열번호 79 및 80으로 나타낸 중쇄 및 경쇄 아미노산 서열; (이탤릭체로 나타낸) 서열번호 87 및 88의 VH 및 VL 서열, 또는 (굵은 활자체 상자에 나타낸) 서열번호 79 및 80의 1개 이상(예컨대, 6개 전부)의 CDR을 포함할 수 있다. 일부 구현예에서, 다음 CDR들을 포함하는 항체가 포함된다:

[0790] HCDR1 = GFTFSNFG(서열번호 81)

[0791] HCDR2 = ISGGGRDT(서열번호 82)

[0792] HCDR3 = VKWGNIFYDY(서열번호 83)

[0793] LCDR1 = LSINTF(서열번호 84)

[0794] LCDR2 = AAS(서열번호 85)

[0795] LCDR3 = QQSSNTPFT(서열번호 86).

[0796] (이탤릭체로 나타낸) 서열번호 87 및 88의 VH 및 VL 서열을 포함하는 중쇄를 포함하는 예시적인 항체는 REGN2810(세미플리맙)으로 알려져 있는 완전 인간 항-PD-1 항체이다.

[0797] 항-PD-1 Mab 중쇄

```
EVQLLESQGV LVQPGGSLRL SCAASGFTFS NFGMTWVRQA PGKGLEWVSG ISGGGRDTYF
ADSVKGRFTI SRDNSKNTLY LQMNSLKGED TAVYYCVKWG NIYFDYWGQG TLVTVSSAST
KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY
SLSSVTVTPS SSLGTKITYTC NVDHKPSNTK VDKRVESEKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLE
PPKPKDTLMI SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV
SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP SQEEMTKNQV
```

[0798]

```
SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGGS FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF
SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK (서열번호 79)
```

[0799]

[0800] HCDR1 = GFTFSNFG(서열번호 81)

[0801] HCDR2 = ISGGGRDT(서열번호 82)

[0802] HCDR3 = VKWGNIFYDY(서열번호 83)

[0803] 항-PD-1 Mab 경쇄

DIQMTQSPSS LSASVGSIT ITCRASLSIN TFLNWIYQQK GKAPNLLIYA AS SLHGGVPS
RFGSGSGSTD FTLTIRTLQP EDFATYYCQQ SSNTPTFGP GTVVDFRRTV AAPSVFIFPP
SDEQLKSGTA SVVCLLNIFY PREAKVQWKV DNALQSGNSQ ESVTEQDSKD STYLSSTLT
LSKADYEKHK VYACEVTHQG LSSPVTKSFN RGEK (서열번호 80)

[0804]

[0805] LCDR1 = LSINTF(서열번호 84)

[0806] LCDR2 = AAS(서열번호 85)

[0807] LCDR3 = QQ SSNTPTF(서열번호 86)

[0808] 일부 구현예에서, RNA, RNA 조성물, 및 RNA 조합 조성물은 종양 안으로(예컨대, 종양 내), 종양 근처에(종양 주위), 또는 종양 제거 부위 근처에 주사하여 전달될 수 있고, 항체는 동일한 방식으로 또는 전신으로, 주사, 주입, 및 이식을 통한 것을 포함하여, 예를 들어, 경장 또는 장관 외와 같이, 전달될 수 있다. "조합하여 투여됨"은 동시적 또는 순차적 투여를 포함한다. 순차적인 경우, 투여는 당업자에게 공지된 임의의 순서 및 임의의 적당한 시간 간격으로 이루어질 수 있다.

[0809] 일부 구현예에서, 다른 치료법은 호르몬 요법이다. 일부 구현예에서, 호르몬 요법은 유방암 치료를 위한 항에스트로겐제 또는 전립선암 치료를 위한 항안드로겐제이다. 예시적 작용제는 항에스트로겐(예컨대, 타목시펜, 토레미펜, 탈록시펜, 드롤록시펜, 요오독시펜), 에스트로겐 수용체 하향 조절제(예컨대, 폴베스트란트), 프로게스테론(예컨대, 메게스트롤 아세테이트), 아로마타제 억제제(예컨대, 아나스트로졸, 레트라졸, 보라졸, 엑스메스탄), 항프로게스테론, 항안드로겐(예컨대, 플루타미드, 닐루타미드, 비칼루타미드, 시프로테론 아세테이트), LHRH 효현제 및 길항제(예컨대, 고세렐린 아세테이트, 류프롤리드, 부세렐린), 및 5-알파-환원효소 억제제(예컨대, 피나스테리드)를 포함한다.

[0810] 일부 구현예에서, 다른 치료법은 표적요법이다. 일부 구현예에서, 표적요법은 키나아제 억제제이다. 일부 구현예에서, 표적요법은 원종양유전자의 유전자 산물의 활성을 억제하는 것이다. 일부 구현예에서, 표적요법은 항혈관신생제이다. 일부 구현예에서, 표적요법은 VEGF, BCR-ABL, BRAF, EGFR, c-Met, MEK, ERK, mTOR, 또는 ALK의 활성을 조절하도록 하는 것이다.

[0811] 일부 구현예에서, 다른 치료법은 줄기세포 이식이다.

[0812] 일부 구현예에서, 치료적 RNA 조성물은 또 다른 치료법과 동시에 전달된다.

[0813] 일부 구현예에서, 치료적 RNA 조성물은 또 다른 치료법 이전에 전달된다.

[0814] 일부 구현예에서, 치료적 RNA 조성물은 또 다른 치료법 이후에 전달된다.

[0815] 일부 구현예에서, 치료적 RNA 조성물은 또 다른 치료법과 함께 종양 내로 직접, 또는 종양 또는 종양 제거 부위 근처로 전달된다. 일부 구현예에서, 치료적 RNA 조성물은 종양 내로 직접, 또는 종양 또는 종양 제거 부위 근처로 전달되며, 또 다른 작용제는 전신으로 전달된다.

[0816] IV. 약학적 제형

[0817] 일부 구현예에서, 본 명세서에 기술된 임의의 DNA, RNA, 및 조성물은 약학적 제형이다. 일부 구현예에서, 약학적 제형은 희석제, 부형제, 또는 기타 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함한다. 따라서, 본 명세서에 제공된 DNA, RNA, 조성물, 또는 이의 조합물, 및 약학적으로 허용 가능한 부형제를 포함하는 약학적 조성물이 본 명세서에 제공된다. 특정 구현예에서, 약학적으로 허용 가능한 부형제는 수용액이다. 특정 구현예에서, 수용액은 식염수이다. 본 명세서에 사용된 바와 같이, 약학적으로 허용 가능한 부형제는 멸균성인 것으로 이해된다. 일부 구현예에서, 약학적 조성물은 투여량 단위 형태로 투여된다. 예를 들어, 특정 구현예에서, 투여량 단위는 정제, 캡슐, 이식 가능한 장치, 또는 볼루스 주사의 형태이다.

[0818] 일부 구현예에서, 본 명세서에 제공된 약학적 조성물은 추가로 약학적 조성물에서 통상적으로 발견되는 다른 보조 구성성분을 함유할 수 있다. 예를 들어, 조성물은 추가의, 적합한, 약학적 활성 물질, 예컨대, 항가려움제, 수렴제, 국소 마취제 또는 항염증제를 함유할 수 있다. 조성물은 또한 추가의, 적합한, 약학적 활성 물질, 예컨대, 부형제, 희석제, 및 담체를 함유할 수 있다.

[0819] 주사를 위한 특정 약학적 조성물은 유성 또는 수성 비히클 중 현탁액, 용액, 또는 에멀전이고, 조제용 제제, 예

컨대, 현탁제, 안정화제 및/또는 분산제를 함유할 수 있다. 주사용 약학적 조성물에 사용하기에 적합한 특정 용매는 친유성 용매 및 지방산 오일, 예컨대, 참깨 오일, 합성 지방산 에스테르, 예컨대, 에틸 올레산 또는 트리글리세라이드, 및 리포솜을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 수성 주사 현탁액은 현탁액의 점도를 증가시키는 물질, 예컨대, 소듐 카르복시메틸 셀룰로스, 소르비톨, 또는 텍스트란을 함유할 수 있다. 선택적으로, 이러한 현탁액은 또한 약제의 가용성을 증가시켜 고도로 농축된 용액의 제조를 가능하게 하는 적합한 안정화제 또는 작용제를 함유할 수 있다.

- [0820] 액체 모이어티는 본 명세서에 제공된 RNA를 전달하는 데 사용될 수 있다. 한 가지 방법에서, RNA는 사전 형성된 리포솜 또는 양이온성 지질 및 중성 지질의 혼합물로 제조된 리포플렉스 내로 도입된다. 또 다른 방법에서, 1가 양이온성 또는 다가 양이온성 지질과의 RNA 복합체는 중성 지질의 존재 없이 형성된다. 특정 구현예에서, 지질 모이어티는 특정 세포 또는 조직으로의 약제의 분배를 증가시키기 위하여 선택된다.
- [0821] 일부 구현예에서, 본 명세서에 제공된 약학적 조성물은 폴리아민 화합물 또는 본 명세서에 제공된 DNA 또는 RNA와 복합체를 형성한 지질 모이어티를 포함한다.
- [0822] 일부 구현예에서, 본 명세서에 제공된 약학적 조성물은 전달 시스템을 포함한다. 전달 시스템의 예는 리포솜 및 에멀전을 포함하나 이에 한정되지 않는다. 특정 전달 시스템은 소수성 화합물을 포함하는 것들을 비롯한 특정 약학적 조성물의 제조에 유용하다. 특정 구현예에서, 특정 유기 용매, 예컨대, 디메틸설폭사이드가 사용된다.
- [0823] 주사를 위한 특정 약학적 조성물은 단위 투여량 형태로, 예컨대, 앰플, 또는 다용량 용기에 제공된다. 특정 구현예에서, 본 명세서에 제공된 약학적 조성물은 치료적 유효량의 RNA 또는 RNA의 조합물을 포함한다. 특정 구현예에서, 치료적 유효량은 치료 받는 대상체의 암 치료 또는 예방에 충분하다.
- [0824] 다음 항은 다수의 구현예를 제공하며, 비제한적이다:
- [0825] 제1항 IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA, IFN α 단백질을 암호화하는 RNA, 및 GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 조성물.
- [0826] 제2항 제1항에 있어서, IFN α 단백질은 IFN α 2b 단백질인, 조성물.
- [0827] 제3항 제1항에 있어서, (i) IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA는 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 17 또는 18의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하고/포함하거나, (ii) IL-12sc 단백질은 서열번호 14의 아미노산 서열, 또는 서열번호 14의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 조성물.
- [0828] 제4항 제1항에 있어서, (i) IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA는 서열번호 26의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 26의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하고/포함하거나, (ii) IL-15 스시 단백질은 서열번호 24의 아미노산 서열, 또는 서열번호 24의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 조성물.
- [0829] 제5항 제1항에 있어서, (i) IFN α 단백질을 암호화하는 RNA는 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 22 또는 23의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하고/포함하거나, (ii) IFN α 단백질은 서열번호 19의 아미노산 서열, 또는 서열번호 19의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 조성물.
- [0830] 제6항 제1항에 있어서, (i) GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA는 서열번호 29의 뉴클레오티드 서열, 또는 서열번호 29의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하고/포함하거나, (ii) GM-CSF 단백질은 서열번호 27의 아미노산 서열, 또는 서열번호 27의 아미노산 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 조성물.
- [0831] 제7항 제1항에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 적어도 하나의 우리딘 대신 개질된 뉴클레오시드를 포함하고, 개질된 뉴클레오시드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$), 5-메틸-우리딘(m^5U), 또는 이의 조합인, 조성물.

- [0832] 제8항 제1항에 있어서, 각 RNA는 적어도 하나의 우리딘 대신 개질된 뉴클레오시드를 포함하고, 개질된 뉴클레오시드는 슈도우리딘(ψ), N1-메틸-슈도우리딘($m^1\psi$), 5-메틸-우리딘(m^5U), 또는 이의 조합인, 조성물.
- [0833] 제9항 제1항에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 5' 캡 $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$, 또는 3'-O-Me- $m^7G(5')ppp(5')G$, 또는 $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$, 또는 3'-O-Me- $m^7G(5')ppp(5')G$ 를 포함하는 것인, 조성물.
- [0834] 제10항 제1항에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 (i) 서열번호 2, 4, 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열, 또는 (ii) 서열번호 2, 4, 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 5' UTR 및/또는 (i) 서열번호 8의 뉴클레오티드 서열, 또는 (ii) 서열번호 8의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 3' UTR을 포함하는 것인, 조성물.
- [0835] 제11항 제1항에 있어서, 적어도 1종의 RNA는 적어도 100개의 뉴클레오티드의 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, 조성물.
- [0836] 제12항 제11항에 있어서, 폴리-A 꼬리는 서열번호 78로 나타난 폴리-A 꼬리를 포함하는 것인, 조성물.
- [0837] 제13항 제1항에 있어서, 1종 이상의 RNA는 다음을 포함하는 것인, 조성물:
- [0838] - $m_2^{7,3'-0}Gppp(m_1^{2'-0})ApG$ 또는 3'-O-Me- $m^7G(5')ppp(5')G$ 를 포함하는 5' 캡;
- [0839] - (i) 서열번호 2, 4, 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열, 또는 (ii) 서열번호 2, 4, 및 6으로 구성된 군으로부터 선택되는 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 5' UTR;
- [0840] - (i) 서열번호 8의 뉴클레오티드 서열, 또는 (ii) 서열번호 8의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 3' UTR; 및
- [0841] - 적어도 100개의 뉴클레오티드를 포함하는 폴리-A 꼬리.
- [0842] 제14항 제13항에 있어서, 폴리-A 꼬리는 서열번호 78을 포함하는 것인, 조성물.
- [0843] 제15항 제1항의 조성물 및 약학적으로 허용 가능한 담체, 희석제 및/또는 부형제를 포함하는 약학적 조성물.
- [0844] 제16항 필요로 하는 대상체에 제1항의 조성물을 투여하는 단계를 포함하는, 고형 종양의 치료 또는 고형 종양 가능성 감소 방법.
- [0845] 제17항 고형 종양 치료 또는 고형 종양 가능성 감소 방법으로, 이를 필요로 하는 대상체에 제1 RNA 및 추가 RNA를 투여하는 단계를 포함하며, 이때, 제1 RNA는 IL-12sc 단백질, IL-15 스시 단백질, IFN α 단백질, 또는 GM-CSF 단백질을 암호화하며, 이때,
- [0846] - 제1 RNA가 IL-12sc 단백질을 암호화하는 경우, 추가 RNA는 IL-15 스시 단백질, IFN α 단백질, 및 GM-CSF 단백질을 암호화하고;
- [0847] - 제1 RNA가 IL-15 스시 단백질을 암호화하는 경우, 추가 RNA는 IL-12sc 단백질, IFN α 단백질, 및 GM-CSF 단백질을 암호화하고;
- [0848] - 제1 RNA가 IFN α 단백질을 암호화하는 경우, 추가 RNA는 IL-15 스시 단백질, IL-12sc 단백질, 및 GM-CSF 단백질을 암호화하고;
- [0849] - 제1 RNA가 GM-CSF 단백질을 암호화하는 경우, 추가 RNA는 IL-15 스시 단백질, IFN α 단백질, 및 IL-12sc 단백질을 암호화하는 것인, 방법.
- [0850] 제18항 제17항에 있어서, 제1 RNA는 추가 RNA와 동시에 대상체에 투여되는 것인, 방법.
- [0851] 제19항 제17항에 있어서, RNA는 종양 내 또는 종양 주위로 투여되는 것인, 방법.
- [0852] 제20항 제17항에 있어서, 대상체는 (i) 종양 절개, 절제, 또는 감량 수술, (ii) 면역요법, (iii) 방사선요법, 또는 (iv) 화학요법을 포함하는 추가 치료법으로 더 치료되는 것인, 방법.

- [0853] 제21항 제17항에 있어서, 대상체는 체크포인트 조절제로 더 치료되는 것인, 방법.
- [0854] 제22항 제21항에 있어서, 체크포인트 조절자는 항-PD1 항체, 항-CTLA-4 항체, 또는 항-PD1 항체와 항-CTLA-4 항체의 조합물인, 방법.
- [0855] 제23항 제21항에 있어서, RNA는 주사를 통해 종양 내 또는 종양 주위로 투여되고, 체크포인트 조절제는 전신으로 투여되는 것인, 방법.
- [0856] 제24항 제17항에 있어서, 고형 종양은 육종, 암종, 또는 림프종인, 방법.
- [0857] 제25항 제17항에 있어서, 고형 종양은 폐, 결장, 난소, 자궁경부, 자궁, 복막, 고환, 음경, 혀, 림프절, 췌장, 뼈, 유방, 전립선, 연조직, 결합조직, 신장, 간, 뇌, 갑상선, 또는 피부에 존재하는 것인, 방법.
- [0858] 제26항 제17항에 있어서, 고형 종양은 상피성 종양, 호지킨 림프종(HL), 비 호지킨 림프종, 전립선 종양, 난소 종양, 신장세포 종양, 소화관 종양, 간 종양, 결장직장 종양, 맥관 구조가 있는 종양, 중피종 종양, 췌장 종양, 유방 종양, 육종 종양, 폐 종양, 결장 종양, 뇌 종양, 흑색종 종양, 소세포 폐 종양, 신경모세포종 종양, 고환 종양, 암종 종양, 선암종 종양, 신경아교종 종양, 고환종 종양, 망막모세포종, 또는 골육종 종양인, 방법.
- [0859] 제27항 제17항에 있어서, 고형 종양 치료 또는 고형 종양 가능성 감소는 대상체의 종양의 크기 감소, 관해 중인 암의 재발 가능성 감소, 또는 암 전이 가능성을 포함하는 것인, 방법.
- [0860] 제28항 필요로 하는 대상체에 RNA 및 추가 치료법을 투여하는 단계를 포함하는, 고형 종양 치료 또는 고형 종양 가능성 감소를 위한 병용치료 방법으로, 이때, RNA는 IL-12sc 단백질, IL-15 스시 단백질, IFN α 단백질, 및 GM-CSF 단백질을 암호화하고, 추가 치료법은 면역요법, 화학요법, 또는 체크포인트 조절제를 포함하는 것인, 병용치료 방법.
- [0861] 제29항 제28항에 있어서, 추가 치료법은 항-PD1 항체, 항-CTLA-4 항체, 또는 항-PD1 항체와 항-CTLA-4 항체의 조합물을 포함하는 것인, 병용치료 방법.
- [0862] 제30항 IL-12sc 단백질을 암호화하는 서열을 포함하는 단리된 핵산으로, 이때, IL-12sc 단백질을 암호화하는 서열은 a) 서열번호 16 또는 18의 뉴클레오타이드 1 내지 984에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 80%, 또는 78% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드, b) 서열번호 16 또는 18의 뉴클레오타이드 1027 내지 1623에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 81% 동일성을 갖는 인접한 뉴클레오타이드, 및 c) a) 및 b)의 뉴클레오타이드 사이의 링커를 암호화하는 뉴클레오타이드를 포함하는 것인, 핵산.
- [0863] 제31항 제30항에 있어서, DNA인, 핵산.
- [0864] 제32항 제30항에 있어서, RNA인, 핵산.
- [0865] 제33항 IFN α 단백질을 암호화하는 서열을 포함하는 단리된 핵산으로, 이때, IFN α 단백질을 암호화하는 서열은 서열번호 21 또는 23의 뉴클레오타이드에 대해 적어도 99%, 98%, 97%, 96%, 95%, 90%, 85%, 또는 80% 동일성을 갖는 것인, 핵산.
- [0866] 제34항 제33항에 있어서, DNA인, 핵산.
- [0867] 제35항 제33항에 있어서, RNA인, 핵산.
- [0868] 제36항 고형 종양 치료 또는 고형 종양 가능성 감소 방법으로, 이를 필요로 하는 대상체에 제34항의 RNA를 투여하는 단계를 포함하며, 이때, 대상체는 IL-15 스시 단백질, IFN α 단백질, 및 GM-CSF 단백질을 암호화하는 추가의 RNA로 더 치료되는 것인, 방법.
- [0869] 제37항 고형 종양 치료 또는 고형 종양 가능성 감소 방법으로, 이를 필요로 하는 대상체에 제35항의 RNA를 투여하는 단계를 포함하며, 이때, 대상체는 IL-15 스시 단백질, IL-12sc 단백질, 및 GM-CSF 단백질을 암호화하는 추가의 RNA로 더 치료되는 것인, 방법.
- [0870] 제38항 전사를 가능하게 하는 조건 하에서 프로모터에 작동 가능하게 연결된 제32항의 핵산을 포함하는 발현 구성체를 RNA 중합효소와 접촉시키는 단계를 포함하는, IL-12sc를 암호화하는 RNA의 제조방법.
- [0871] 제39항 전사를 가능하게 하는 조건 하에서 프로모터에 작동 가능하게 연결된 제35항의 핵산을 포함하는 발현 구성체를 RNA 중합효소와 접촉시키는 단계를 포함하는, IFN α 를 암호화하는 RNA의 제조방법.

- [0872] 제40항 제1항의 구성물을 포함하는 키트.
- [0873] 제41항 IL-12sc 단백질을 암호화하는 RNA, IL-15 스시 단백질을 암호화하는 RNA, IFN α 단백질을 암호화하는 RNA, 및 GM-CSF 단백질을 암호화하는 RNA를 포함하는 키트로서, 이 RNA들은 동일한 용기 내에 존재하지 않는 것인, 키트.
- [0874] 제42항 제41항에 있어서, 각 RNA는 개별 용기에 존재하는 것인, 키트.
- [0875] 제43항 제40항 내지 제42항 중 어느 한 항에 있어서, 고형 종양의 치료 또는 고형 종양 가능성 감소를 위한 조성물 또는 RNA의 사용 설명서를 더 포함하는 키트.
- [0876] 본 설명 및 예시적인 구현에는 제한적인 것으로 취급되어서는 안 된다. 본 명세서 및 첨부된 청구범위의 목적을 위하여, 달리 지시되지 않는 한, 양, 백분율, 또는 비율을 표시하는 모든 숫자 및 본 명세서 및 청구항에 사용된 기타 수치값은 "약"이라는 용어에 의해 모든 경우에서, 그것들이 이미 그렇게 수정되지 않는 정도까지, 변형되는 것으로 이해되어야 한다. 따라서, 반대로 표시되지 않는 한, 다음의 명세서 및 첨부된 청구항에 기재된 수치 파라미터는 달성되도록 추구되는 원하는 특성에 따라 달라질 수 있는 근사치이다. 최소한, 그리고 청구항의 범위에 대한 균등론 적용을 제한하려는 시도로서가 아니라, 각 수치 파라미터는 적어도 보고된 유효 자릿수에 비추어, 그리고 일반적인 반올림 기법을 적용하여 해석되어야 한다.
- [0877] 본 명세서 및 첨부된 청구항에 사용된 바와 같이, 단수형("a", "an" 및 "the") 및 임의의 단어의 임의의 단수적 사용은, 명백히 및 모호하지 않게 하나의 지시 대상에 한정되지 않는 한, 복수의 지시 대상을 포함한다. 본 명세서에 사용된 용어 "포함한다" 및 이의 문법적 변이형은 비제한적인 것으로 의도되어, 목록에서 항목을 언급할 때, 치환될 수 있거나 나열된 항목에 첨가될 수 있는 다른 유사한 항목을 배제하는 것은 아니다.
- [0878] **실시예**
- [0879] 다음의 실시예는 특정한 개시된 구현예를 설명하고자 제공된 것으로, 어떠한 방식으로든 본 개시의 범위를 제한하는 것으로 해석되어서는 안 된다.
- [0880] **실시예 1 - 재료 및 방법**
- [0881] **B16F10 종양 모델:** 연구 등록 이전 적어도 3일 동안 6 내지 8주령의 17.0 내지 20.9 g 체중의 암컷 C57BL/6J 마우스(Jackson Laboratory; 미국 메인 주 바 하버 소재)를 순응시켰다. 마우스는 먹이(Harlan 2916 설치류 사료, 미국 메사추세츠 주 소재) 및 멸균수에 자유롭게 접근할 수 있었고, 상대습도 55% $\pm$ 15%의 22°C $\pm$ 2°C에서 12시간 명/암 주기로 수용하였다. B16F10 세포를 아메리칸 타입 컬처 컬렉션(American Type Culture Collection; ATCC)(미국 버지니아 주 머내서스 소재)(카탈로그 번호 CRL-6475)으로부터 입수하고, 37°C에서 5% CO₂ 중에서 10% 열 불활성화 소 태아 혈청(HI FBS)(Life technologies, 카탈로그 번호 10082-147)이 첨가된 둘벨코 변형 이글 배지(DMEM)(Life technologies, 카탈로그 번호 11995) 중에 배양하였다. 0.25% 트립신-EDTA(Life technologies, 카탈로그 번호 25200-056)를 이용하여 세포를 수확하고, 둘벨코 인산염 완충 식염수(DPBS)(Life technologies, 카탈로그 번호 14190-144)에 재현탁시키고, 마우스당 0.5 x 10⁶개 세포/200 μ l를 암컷 C57BL/6J 마우스의 우측 옆구리에 피하(SC) 이식하였다. 이중 옆구리 종양 모델의 경우, 제0일에, 마우스당 0.5 x 10⁶개 B16F10 세포/200 μ l를 우측 옆구리에 피하(SC) 이식하고, 마우스당 0.25 x 10⁶개 B16F10 세포/200 μ l를 좌측 옆구리에 SC 이식하였다. 사이토카인 mRNA의 국소 투여가 원위 효과를 나타낼 수 있는지를 시험하기 위하여(도 19 참조), 연구 등록 이전 적어도 6일 동안 6 내지 8주령의 17 내지 24 g 체중의 암컷 C57BL/6J01aHsd 마우스(Envigo, 독일 로스도르프)를 순응시켰다. 마우스는 먹이(ssniff M-Z, 오토클레이브 가능, 독일 조스트) 및 멸균수에 자유롭게 접근할 수 있었고, 상대습도 55% $\pm$ 10%의 22°C $\pm$ 2°C에서 12시간 명/암 주기로 수용하였다. B16F10 세포를 아메리칸 타입 컬처 컬렉션(ATCC® CRL-6475™)으로부터 입수하고, 37°C에서 7.5% CO₂ 중에서 10% 소 태아 혈청(FBS)(Biochrom, 카탈로그 번호 S 0115)이 첨가된 DMEM, 고포도당, GlutaMAX™(Life technologies, 카탈로그 번호 31966047) 중에 배양하였다. StemPro® Accutase® 세포 해리 시약(Life technologies, 카탈로그 번호 A1110501)을 이용하여 세포를 수확하고, 둘벨코 인산염 완충 식염수(DPBS)(Life technologies, 카탈로그 번호 14190-169)에 재현탁시키고, 마우스당 0.3 x 10⁶개 세포/100 μ l를 암컷 C57BL/6J 마우스의 우측의 면도된 옆구리에 피하(SC) 이식하였다. 원위부 폐 종양 시딩의 경우, B16F10_{luc}-gfp 세포를 사용하였다. 이들 세포는 루시페라아제 및 GFP를 암호화하는 플라스미드로의 안정적인 형질감염에 의해 B16F10으로부터 유래되었다. B16F10_{luc}-gfp 세포를 B16F10과 동일한 조건으로 배양하였다; 0.5 μ g/mL 퓨로마이신만 배양 배지에 첨가하였다. SC 이식 1일 후에 0.3 x 10⁶개 세포/200 μ l의

B16F10_luc-gfp 세포를 마우스당 정맥 내(IV)로 꼬리 정맥에 주사하였다. 종양 SC 접종 10 내지 14일 후에 종양 내 mRNA 주사를 개시하였다. 종양 성장은 2 내지 3일마다 캘리퍼 측정으로 평가하였고, 다음 공식을 이용하여 수직 직경들의 곱으로 표현하였다: $a \times b / 2 (a < b)$. 폐에서 루시페라아제 양성 종양 세포의 생착을 Xenogen IVIS 스펙트럼 영상화 시스템(Caliper Life Sciences)을 이용하여 생체 내 생물발광 영상화에 의해 분석하였다. L-루시페린 수용액(250 μ l, 1.6 mg; BD Biosciences)을 복강 내로 주사하였다. 살아 있는 동물로부터 방출된 광자를 10분 후에 1분의 노출 시간으로 정량화하였다. 관심 영역(ROI)을 평균 복사조도(Caliper Life Sciences의 리빙 이미지 소프트웨어를 사용하여 마우스의 그레이스케일 사진 상에 중첩된 컬러스케일 이미지로 표현된 광자 $s^{-1} cm^{-2} sr^{-1}$)로 정량화하였다. 절대 정량화를 위하여, 생물발광 신호를 총 유량(광자 s^{-1})로 블롯팅하였다. 도 20c 내지 도 20g 및 도 21e 내지 도 21i에 수행된 연구의 경우, 폐 전이의 시딩 없이 위에 기술된 C57BL/6J01aHsd 마우스(Envigo, 독일 로스도르프)의 모델을 또한 사용하였다.

[0882] **CT26 종양 모델:** 도 2, 도 3, 도 7d 내지 도 7f, 도 8, 도 9, 도 12d 및 도 21에 수행된 연구의 경우, 연구 등록 전에 적어도 6일 동안 6 내지 8주령의 17 내지 24 g 체중의 암컷 Balb/c Rj 마우스(Janvier, 프랑스 Genest-St.-Isle)를 순응시켰다. 마우스는 먹이(ssniff M-Z, 오토클레이브 가능, 독일 조스트) 및 멸균수에 자유롭게 접근할 수 있었고, 상대습도 $55\% \pm 10\%$ 의 $22^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$ 에서 12시간 명/암 주기로 수용하였다. CT26 세포를 (ATCC® CRL-2638™)로부터 입수하고, $37^{\circ}C$ 에서 5% CO_2 중에서 10% 소 태아 혈청(FBS)(Biochrom, 카탈로그 번호 S 0115)이 첨가된 로스웰 파크 메모리얼 연구소 배지(RPMI) 1640 배지, GlutaMAX™(Life technologies, 카탈로그 번호 61870-044) 중에 배양하였다. StemPro® Accutase® 세포 해리 시약(Life technologies, 카탈로그 번호 A1110501)을 이용하여 세포를 수확하고, DPBS(Life technologies, 카탈로그 번호 14190-169)에 재현탁시키고, 마우스당 0.5×10^6 개 세포/100 μ l를 암컷 Balb/c Rj 마우스의 우측의 면도된 옆구리에 SC 이식하였다. 종양 접종 13 내지 19일 후에 종양 내 mRNA 주사를 개시하였다. 종양 성장은 2 내지 3일마다 캘리퍼 측정으로 평가하였고, 다음 공식을 이용하여 수직 직경들의 곱으로 표현하였다: $a \times b / 2$ (여기서, b가 두 가지 직경 중 더 긴 직경임($a < b$)).

[0883] 도 6 및 도 7a 내지 도 7c에서 수행된 연구의 경우, 연구 등록 이전 적어도 3일 동안 6 내지 8주령의 17.0 내지 20.9 g 체중의 암컷 BALB/c 마우스(Jackson Laboratory; 미국 메인 주 바 하버 소재)를 순응시켰다. 마우스는 먹이(Harlan 2916 설치류 사료, 미국 매사추세츠 주 소재) 및 멸균수에 자유롭게 접근할 수 있었고, 온도($22^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$), 상대습도($55\% \pm 15\%$)에서 12시간 명/암 주기로 수용하였다. CT26 세포를 ATCC(미국 버지니아 주 머내서스 소재)(카탈로그 번호 CRL-2638)로부터 입수하고, $37^{\circ}C$ 에서 5% CO_2 중에서 10% HI FBS(Life technologies, 카탈로그 번호 10082-147)이 첨가된 RPMI-1640 (Life technologies, 카탈로그 번호 11875-093) 중에 배양하였다. 0.25% 트립신-EDTA(Life technologies, 카탈로그 번호 25200-056)를 이용하여 세포를 수확하고, DPBS(Life technologies, 카탈로그 번호 14190-144)에 재현탁시키고, 마우스당 0.5×10^6 개 세포/200 μ l를 BALB/c 암컷 마우스의 우측 옆구리에 SC 이식하였다.

[0884] CT26 종양 모델에서 종양 성장 이외에도 gp70-반응성 CD8+ T 세포를 표시된 혈액 중에서 측정하였다. EDTA 코팅된 튜브를 이용하여 혈액 샘플을 채취하였다. 100 μ L의 혈액을 FACS 튜브로 옮기고, T-Select H-2Ld MuLV gp70 사랑체-SPSYVYHQF-APC(MBL (TS-M-521-2), 100 μ L 혈액의 경우 4 μ L), 항-CD8a FITC(life technologies(MCD801), 100 μ L 혈액의 경우 1 μ L)) 및 항-CD45 V500(BD (561487), 100 μ L 혈액의 경우 1 μ L))을 함유하는 항체 혼합물을 첨가하였다. 실온에서 20분 인큐베이션 후, 혈액 용해 완충액(BD (349202), 튜브당 300 μ L)을 첨가하고, 추가 6분 동안 인큐베이션 하였다. 그 후, 샘플을 PBS-EDTA 완충액으로 2회 세척하였다. FACS Canto II 유세포 분석기에서 FACS 샘플을 분석하였다.

[0885] **MC38 종양 모델:** 연구 등록 이전 적어도 3일 동안 6 내지 8주령의 17.0 내지 20.9 g 체중의 암컷 C57BL/6J 마우스(Jackson Laboratory; 미국 메인 주 바 하버 소재)를 순응시켰다. 마우스는 먹이(Harlan 2916 설치류 사료, 미국 매사추세츠 주 소재) 및 멸균수에 자유롭게 접근할 수 있었고, 상대습도 $55\% \pm 15\%$ 의 $22^{\circ}C \pm 2^{\circ}C$ 에서 12시간 명/암 주기로 수용하였다. MC38 세포는 S. A. Rosenberg 박사(국립보건원, 미국 메릴랜드 주 베테스다)의 후한 선물이었다. $37^{\circ}C$ 의 5% CO_2 에서 10% HI FBS(Gibco, 카탈로그 번호 100082)가 첨가된 L-글루타민 함유 RPMI-1640(Gibco, 카탈로그 번호 11875)에 세포주를 배양하였다. 세포를 수확하고, DPBS(Gibco, 카탈로그 번호 14190)에 재현탁시키고, 마우스당 1×10^6 개 세포/200 μ l를 암컷 C57BL/6J 마우스의 우측 옆구리에 SC 이식하였다.

[0886] **A375 종양 모델:** 연구 등록 이전 적어도 3일 동안 6 내지 8주령의 17.0 내지 20.9 g 체중의 중증 복합 면역 결

핍증(SCID) 마우스(Jackson Laboratory; 미국 메인 주 바 하버 소재)를 순응시켰다. 마우스는 먹이(Harlan 2916 설치류 사료, 미국 매사추세츠 주 소재) 및 멸균수에 자유롭게 접근할 수 있었고, 상대습도 $55\% \pm 15\%$ 의 $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 에서 12시간 명/암 주기로 수용하였다. A375 세포를 ATCC(미국 버지니아 주 머내서스)(카탈로그 번호 CRL-1619)로부터 입수하였다. 37°C 의 $5\% \text{CO}_2$ 에서 $10\% \text{HI FBS}$ (Life technologies, 카탈로그 번호 10082-147)가 첨가된 DMEM(Life technologies, 카탈로그 번호 11995)에 세포주를 배양하였다. $0.25\% \text{트립신-EDTA}$ (Life technologies, 카탈로그 번호 25200-056)를 이용하여 세포를 수확하고, DPBS(Life technologies, 카탈로그 번호 14190-144)에 재현탁시키고, $3.0 \times 10^6 / 100 \mu\text{l}$ PBS를 $100 \mu\text{l}$ BD 매트릭셀 매트릭스(Matrigel Matrix)(BD, 카탈로그 번호 354234)와 혼합하고, 암컷 SCID 마우스의 우측 옆구리에 SC 이식하였다.

[0887] **KM12(CRC) 이종이식 모델:** 연구 등록 이전 적어도 3일 동안 10주령의 17.3 g 내지 21.9 g 체중의 암컷 NOD.CB17-Prkdcscid/SCID 마우스(Jackson Laboratory, 미국 메인 주 바 하버 소재)를 순응시켰다. 마우스는 먹이(Harlan 2916 설치류 사료, 미국 매사추세츠 주 소재) 및 멸균수에 자유롭게 접근할 수 있었고, 상대습도 ($55 \pm 15\%$)의 ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$)에서 12시간 명/암 주기로 수용하였다. KM-12 세포는 미국 국립 암 연구소(NCI)(카탈로그 번호 507345)로부터 입수하였다. 세포를 $10\% \text{HI FBS}$ (Gibco, 카탈로그 번호 10082)가 첨가된 L-글루타민 함유 RPMI 배지 1640(Gibco, 카탈로그 번호 11875)에서 성장시키고, $5\% \text{CO}_2$ 의 37°C 에서 인큐베이션 하였다. $0.25\% \text{트립신-EDTA}$ (Gibco, 카탈로그 번호 25200)를 이용하여 세포를 수확하고, DPBS(Gibco, 카탈로그 번호 14190)에 재현탁시키고, 각각의 마우스에 대해, $50\% \text{매트리젤}$ (BD, 카탈로그 번호 356234) 함유 $200 \mu\text{l}$ DPBS 중에 5.0×10^6 개 세포를 암컷 SCID 마우스의 우측 옆구리에 SC 이식하였다.

[0888] **RPMI8226(골수종) 이종이식 모델:** 연구 등록 이전 적어도 3일 동안 12주령의 19.8 g 내지 26.6 g 체중의 암컷 NSG 마우스(Jackson Laboratory, 미국 메인 주 바 하버 소재)를 순응시켰다. 마우스는 먹이(Harlan 2916 설치류 사료, 미국 매사추세츠 주 소재) 및 멸균수에 자유롭게 접근할 수 있었고, 상대습도 ($55 \pm 15\%$)의 ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$)에서 12시간 명/암 주기로 수용하였다. RPMI8226 세포를 ATCC(카탈로그 번호 CCL-155)로부터 입수하였다. 세포를 $10\% \text{HI FBS}$ (Gibco, 카탈로그 번호 10082)가 첨가된 L-글루타민 함유 RPMI 배지 1640(Gibco, 카탈로그 번호 11875)에서 성장시키고, $5\% \text{CO}_2$ 의 37°C 에서 인큐베이션 하였다. $0.25\% \text{트립신-EDTA}$ (Gibco, 카탈로그 번호 25200)를 이용하여 세포를 수확하고, DPBS(Gibco, 카탈로그 번호 14190)에 재현탁시키고, 각각의 마우스에 대해, $50\% \text{매트리젤}$ (BD, 카탈로그 번호 356234) 함유 $200 \mu\text{l}$ DPBS 중에 5.0×10^6 개 세포를 암컷 NSG 마우스의 우측 옆구리에 SC 이식하였다.

[0889] **NCI-N87(위) 이종이식 모델:** 연구 등록 이전 적어도 3일 동안 11주령의 18.3 내지 22.7 g 체중의 암컷 NOD.CB17-Prkdcscid/SCID(Jackson Laboratory, 미국 메인 주 바 하버 소재)를 순응시켰다. 마우스는 먹이(Harlan 2916 설치류 사료, 미국 매사추세츠 주 소재) 및 멸균수에 자유롭게 접근할 수 있었고, 상대습도 ($55 \pm 15\%$)의 ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$)에서 12시간 명/암 주기로 수용하였다. NCI-N87 세포를 ATCC(카탈로그 번호 CRL-5822)로부터 입수하였다. 세포를 $10\% \text{HI FBS}$ (Gibco, 카탈로그 번호 10082)가 첨가된 L-글루타민 함유 RPMI 배지 1640(Gibco, 카탈로그 번호 11875)에서 성장시키고, $5\% \text{CO}_2$ 의 37°C 에서 인큐베이션 하였다. $0.25\% \text{트립신-EDTA}$ (Gibco, 카탈로그 번호 25200)를 이용하여 세포를 수확하고, DPBS(Gibco, 카탈로그 번호 14190)에 재현탁시키고, 각각의 마우스에 대해, $50\% \text{매트리젤}$ (BD, 카탈로그 번호 356234) 함유 $200 \mu\text{l}$ DPBS 중에 3.0×10^6 개 세포를 암컷 SCID 마우스의 우측 옆구리에 SC 이식하였다.

[0890] **NCI-H1975(NSCLC) 이종이식 모델:** 연구 등록 이전 적어도 3일 동안 10주령의 18.8 g 내지 26.0 g 체중의 암컷 NSG 마우스(Jackson Laboratory, 미국 메인 주 바 하버 소재)를 순응시켰다. 마우스는 먹이(Harlan 2916 설치류 사료, 미국 매사추세츠 주 소재) 및 멸균수에 자유롭게 접근할 수 있었고, 상대습도 ($55 \pm 15\%$)의 ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$)에서 12시간 명/암 주기로 수용하였다. NCI-H1975 세포를 ATCC(카탈로그 번호 CRL-5908)로부터 입수하고, $10\% \text{HI FBS}$ (Gibco, 카탈로그 번호 10082)가 첨가된 L-글루타민 함유 RPMI 배지 1640(Gibco, 카탈로그 번호 11875)에 배양하고, $5\% \text{CO}_2$ 의 37°C 에서 인큐베이션 하였다. $0.25\% \text{트립신-EDTA}$ (Gibco, 카탈로그 번호 25200)를 이용하여 세포를 수확하고, DPBS(Gibco, 카탈로그 번호 14190)에 재현탁시키고, 각각의 마우스에 대해, $50\% \text{매트리젤}$ (BD, 카탈로그 번호 356234) 함유 $200 \mu\text{l}$ DPBS 중에 5.0×10^6 개 세포를 암컷 NSG 마우스의 우측 옆구리에 SC 이식하였다.

[0891] **종양 재접종:** 위에 기술된 바와 같이 암컷 C57BL/6J 마우스에 B16F10 세포를 이식하였다. 제11일, 제13일, 제15일, 및 제17일에 ModB 사이토카인 mRNA 혼합물(IL-15스시, IL-12sc, GM-CSF, IFN α)로의 4회 종양 내 주사($80 \mu\text{g}$ mRNA/표적당 $20 \mu\text{g}$)로 마우스를 처리하였다. 사이토카인 mRNA 처리 후, 8마리의 마우스가 무종양이었다.

마지막 사이토카인 mRNA 처리 4주 후, 무종양 마우스에 마우스당 0.5×10^6 개 B16F10 세포/200 μ l를 SC 주사에 의해 재접종하고, 종양 성장을 모니터링하였다.

[0892] **종양 모니터링:** 최종 희생 시까지 주 2회 캘리퍼로 종양을 측정하였다. 종양이 대략 2000 mm^3 에 이르거나 동물 건강 문제(제양화된 종양의 20% 영역)가 있을 때, 동물을 안락사시켰다. 종양 퇴화는 1) 연구 종료 시 종양 부피 $< 20 \text{ mm}^3$ 또는 ii) $T^F/T^0 < 1$ (T^F 는 최종 종양 부피이고, T^0 는 최초 종양 내 mRNA 주사일의 종양 부피임)로 정의되었다.

[0893] **mRNA 개질 A(ModA):** 관심 유전자를 암호화하는 합성 DNA 단편을 5'-UTR(일부 경우 서열번호 1에 해당함), F 및 I라 지칭되는 두 개의 요소로 구성된 3' UTR(일부 경우 서열번호 7에 해당함), 및 총 110개 뉴클레오타이드의 폴리(A)-꼬리(A30-링커-A70 구조; 일부 경우 서열번호 78에 해당함)를 포함하는 공통 출발 벡터 내로 클로닝하였다. 클래스 IIS 제한 효소로 폴리(dA:dT)의 하류에서 플라스미드 DNA의 선형화를 수행하여 폴리(dA:dT) 이외의 추가 뉴클레오타이드가 없는 주형을 생성하였다(Holtkamp et al., *Blood* 108(13):4009-172006 (2006) 참조). 이전에 기술된 바와 같이, 7.5 mM ATP, CTP, UTP, GTP 및 6 mM D1, 베타-S-항역전 캡 유사체(베타-S-ARCA, Cap0)(Kuhn AN et al., *Gene Ther.* 17(8):961-71 (2010) 참조)의 존재 하에 선형화된 플라스미드 DNA를 대상으로 T7 RNA 중합효소(Thermo Fisher)를 이용한 시험관 내 전사를 수행하였다(Grudzien-Nogalska E et al., *Methods Mol Biol.* 969:55-72 (2013) 참조). 자성 입자를 이용하여 RNA를 정제하고(Berensmeier S. *Appl Microbiol Biotechnol.* 73(3):495-504 (2006) 참조), RNA 농도 및 품질을 각각 분광분석법으로 평가하고, 모세관 겔 전기영동 시스템으로 분석하였다.

[0894] **mRNA 개질 B(ModB):** 관심 유전자를 암호화하는 합성 DNA 단편을 5'-UTR(일부 경우 담배 에치 바이러스 리더 서열 TEV, 서열번호 3에 해당함), F 및 I라 지칭되는 두 개의 요소로 구성된 3' UTR(일부 경우 서열번호 7에 해당함), 및 총 110개 뉴클레오타이드의 폴리(A)-꼬리(A30-링커-A70 구조)를 포함하는 공통 출발 벡터 내로 클로닝하였다. 위에 기술된 바와 같이 플라스미드 DNA의 선형화 후, 곧 T7 RNA 중합효소(Thermo Fisher)로의 시험관 내 전사를 수행하였다. ModA에 대해 기술한 바와 같이 이를 수행하였으나, 캡 구조는 반응물에 첨가하지 않았고, UTP가 N1-메틸-슈도우리딘 삼인산 대신 사용되었다. 그 후, 자성 입자를 이용하여 RNA를 정제하고(Berensmeier 2006), 이후에 백시니아 바이러스 캡핑 효소(NEB)를 기초로 한 상업적으로 이용 가능한 시스템 및 mRNA Cap 2'-O-메틸전달효소(NEB)의 첨가를 이용하여 Cap1 구조를 효소적으로 도입하였다. 그 후, RNA를 대상으로 셀룰로스 기반 크로마토그래피에 의한 추가 정제 절차를 수행하여 이중 가닥 RNA 불순물을 제거하였다(Day PR et al., *Phytopathology* 67:1393 (1977); Morris TJ et al., *Phytopathology* 69:854-858 (1979); 및 Castillo A et al., *Virol J.* 8:38 (2011) 참조). RNA 농도 및 품질을 각각 분광분석법으로 평가하고, 모세관 겔 전기영동 시스템으로 분석하였다. 문헌[Karikó et al. *Nucleic Acids Res.* 39(21):e142 (2011)]에 기술된 바와 같이 dsRNA 특이적 J2 mAb(English & Scientific Consulting)를 이용하여 dsRNA의 존재를 노스웨스턴 도트-블롯 분석으로 평가하였다.

[0895] **mRNA 코돈 최적화:** 단백질의 암호화 서열은 단백질 번역의 효율뿐만 아니라 정확성에도 영향을 미칠 수 있다(Bossi L et al., *Nature.* 286(5769):123-7 (1980) 및 Irwin et al., *J Biol Chem.* 270(39):22801-6 (1995) 참조).

[0896] 따라서, 각 표적의 상이한 코돈 변이체를 설계하고 시험하였다. 각 표적에 대한 상이한 코돈 변이체 설계는 Life Technologies GmbH GeneArt®(독일 레겐스부르크)(Raab D et al., *Syst Synth Biol.* 4(3):215-25 (2010) 참조) 및 Eurofins MWG Operon(독일 에베르스베르크)의 공개적으로 이용 가능한 소프트웨어를 이용하였다. 또한, 각각의 코돈을 개별적으로 수동으로 편집하여 코돈 최적화를 수행하였다. 최적화 과정 중 야생형 서열과 비슷한 GC 함량을 유지하였다.

[0897] (i) HEK293T/17 세포의 mRNA 리포펙션 및 (ii) K562 세포의 mRNA 전기천공을 이용하여 수행된 시험관 내 발현에 의해 구성체의 평가 및 선택을 결정하였다.

[0898] 40,000개의 HEK293T/17 세포(ATCC® CRL-11268™)를 0.5% FBS(Biochrom, 카탈로그 번호 S 0115)를 함유하는 DMEM, 고포도당, GlutaMAX™(Life technologies, 카탈로그 번호 31966047) 중의 평판 96-웰 플레이트(VWR International, 카탈로그 번호 734-1794)에 시딩하였다. 96웰 플레이트에 시딩된 세포를 16 내지 18시간 동안 37°C, 7.5% CO₂에서 인큐베이션 하였다. RNase 불포함 1.5 ml 세이프-락 튜브 바이오 푸르(Safe-Lock tube biopur)(독일 에펜도르프, 카탈로그 번호 0030121589) 내의 20 μ l의 OptiMEM(Thermo Fisher, 카탈로그 번호

31985070)에 1.2 μ l의 형질감염 시약을 첨가하여 제조사의 프로토콜에 따라 리포펙타민 메신저 맥스 시약(Lipofectamine Messenger MAX Reagent, Invitrogen, 카탈로그 번호 LMRNA)을 이용하여 RNA로 부착성 HEK293T/17 세포를 형질감염시키고; 제2의 튜브에서, 지시된 RNA를 20 μ l의 OptiMEM에 첨가하였다. 10분의 인큐베이션 후, RNA를 함유하는 튜브를 리포펙타민 메신저 맥스를 함유하는 튜브 내로 희석하고, 추가 5분 동안 인큐베이션 한 후, 10 μ l의 RNA-지질-복합체를 100 μ l 배지 중의 HEK293T/17 세포층을 함유하는 96-웰 플레이트의 한 웰에 적가하였다. 10 μ l RNA-지질-복합체는 각각 5 ng, 25 ng 및 100 ng의 표적 RNA를 함유하였다. 플레이트를 3시간 동안 인큐베이터에 위치시킨 후, 추가 140 μ l의 신선한 배지(DMEM + 0.5% FBS)를 첨가하였다. 형질감염된 세포를 15 내지 18시간 동안 인큐베이션 하고, 상청액을 수집하고, 본 명세서에 기술된 바와 같이 ELISA에 의해 단백질 함량을 분석하였다.

[0899] 만성 골수성 백혈병으로부터 유래된 인간 세포주 K562(ATCC® CCL-243™)를 5% FBS가 첨가된 RPMI 1640 배지, GlutaMAX™(Life technologies, 카탈로그 번호 61870-044)에서 배양하였다. 다음과 같이 96-웰 플레이트 시스템에서 K562를 전기천공하였다. 세포를 X-VIVO15 배지(Lonza, 카탈로그 번호 BE02-060Q) 중에서 1회 세척하고, X-VIVO15 중에 250,000개 세포/150 μ l의 최종 농도로 현탁시켰다. 5 ng, 25 ng, 또는 100 ng의 RNA를 함유하는 96-웰 플레이트의 웰당 150 μ l의 세포 현탁액을 첨가하였다. 세포와 RNA를 혼합하고, Biorad의 96웰 Gene Pulser MX 세포 전기천공 시스템(250 V, 1 x 30 ms 펄스)에서 전기천공을 수행하였다. 전기천공 직후, 세포를 항생제 불포함 신선한 배지가 들어 있는 새로운 배양 플레이트로 옮기고, 37℃의 인큐베이터에서 1시간 동안 쉬게 하였다. 배지를 0.5% FCS가 첨가된 새로운 RPMI 1640 GlutaMAX로 교체하고, 15 내지 18시간 동안 인큐베이션 하였다. 상청액을 수확하고, 본 명세서에 기술된 바와 같이 ELISA로 단백질 함량을 분석하였다.

[0900] 제조사의 프로토콜에 따라 RNA 암호화 사이토카인에 특이적인 ELISA에 의해 단백질 농도를 결정하였다. (i) 인간 IL-15 스시/IL-15 스시 R 알파 복합 듀오셋(DuoSet) ELISA (ii) 마우스 IL-12sc 듀오셋 발색 시스템(Duo Set Development System)(DY419-05) (iii) 마우스 GM-CSF 듀오셋 ELISA 발색 시스템(DY415)(모두 RnD systems로부터 입수), 및 마우스 IFN α ELISA 키트(TCM)(PBL assay science, 42120-2).

[0901] 각각의 mRNA 표적의 경우, WT-서열 및 상이한 코돈 최적화 변이형에 대해 단백질 발현을 평가하였다. 각각 3종의 상이한 양의 개질된 RNA로 시험한 HEK293T/17의 리포펙션 및 K562의 전기천공의 데이터 세트를 단백질 암호화 서열의 선택에 고려하였다. 코돈 최적화 서열은 WT 서열과 비교하여 단백질 발현의 적어도 1.5배 증가가 측정된 경우 선택하였다. 그렇지 않은 경우, WT 서열을 선택하였다. 모든 구성체의 경우, WT 아미노산은 보존하면서, DNA 인식 서열(5'-CTCTTC-3')을 돌연변이시켜 EarI 제한 서열을 제거하였다.

[0902] **세포주:** HEK293(ATCC CRL-1573) 세포주 및 인간 흑색종 세포주 A101D(ATCC CRL-7798), A375(ATCC CRL-1619), A2058(ATCC CRL-11147), 및 Hs294T(ATCC HTB-140)를 ATCC로부터 입수하고, 37℃에서 5% CO₂의 가습 분위기에서 10% FBS(HI FBS)(Life Technologies, Cat. 10082)가 첨가된 DMEM(ThermoFisher Scientific, Cat 11885-084) 중에서 배양하였다.

[0903] **mRNA 형질감염:** 제조사의 프로토콜에 따라 리포펙타민 메신저맥스 시약(Invitrogen, Cat # LMRNA001)을 이용하여 세포를 형질감염시켰다. 간략하게는, 각 웰의 경우, 0.3 μ l의 형질감염 시약을 5 μ l의 Opti-MEM 배지(Life Technologies, Cat. 31985062)로 희석하고, 실온에서 10분 동안 인큐베이션 하였다; mRNA 혼합물을 Opti-MEM 배지로 희석하고(웰당 5 μ l), 희석된 메신저맥스 시약과 혼합하고, 실온에서 5분 동안 인큐베이션 하고, 96-웰 플레이트에 분주하였다. 세포를 완전 성장 배지 중에 희석하고, 웰당 40,000개 세포를 형질감염 혼합물에 첨가하였다. 세포를 CO₂ 인큐베이터 중 37℃에서 24시간 동안 인큐베이션 한 다음, 배지를 수집하고, 메소 스케일 디스커버리(Meso Scale Discovery; MSD) 분석으로 사이토카인 농도를 결정하였다.

[0904] **메소 스케일 디스커버리 분석:** 사이토카인 농도를 MSD 분석을 이용하여 결정하였다: IL12p70는 전염증 패널 1(인간) MSD 키트(카탈로그 N05049A-1), GM-CSF 및 IL-15 스시는 사이토카인 패널 1(인간) MSD 키트(카탈로그 N05050A-1), 및 IFN α 는 인간 IFN- α 2a 울트라 센서티브 키트(카탈로그 N05050A-1). MSD 디스커버리 워크벤치(Discovery Workbench) V. 4.0.12 소프트웨어 및 그래프패드 프리즘(GraphPad Prism) V.6.00 소프트웨어를 이용하여 데이터를 분석하였다.

[0905] **PBMC 단리 및 처리:** 류코팩(leukopak)(Research Blood Components)으로부터 밀도 경사 배지(Ficoll-Paque)에 의해 말초 혈액 단핵구 세포(PBMC)를 단리하였다. 96-웰 플레이트의 웰당 600,000개 PBMC를 첨가하였다. 24시간 동안 세포를 사이토카인 혼합물로 처리하고, 인간 IFN γ 384-조각 배양 MSD 분석을 이용하여 세포 배양 배지에서 IFN γ 생산을 측정하였다.

[0906] **CD8 반응 측정:** B16F10 종양 보유 마우스에 면역 mRNA(IFN α , IL-15 스시, GM-CSF, 및 IL-12sc, ModB) 또는 대조군 루시페라아제 mRNA(위약군)의 단일 종양 내 주사를 놓았다. 종양 내 mRNA 주사 7일 뒤에 종양을 절제하고, 면역형광을 위해 처리하고, CD8에 대한 항체로 염색시켰다(회색). 도 25에 도시된 바와 같이, 사이토카인 mRNA 종양 내 주사 후 CD8 세포가 존재하였다.

[0907] **생체 내 연구를 위한 mRNA 제조:** 물 중 동량(마이크로그램)의 mRNA를 의도했던 용량의 2배로 혼합하여 생체 내 연구를 위한 각각의 mRNA 혼합물을 제조하였다. 종양 내 주사일까지 mRNA 혼합물을 -80°C 에서 냉동하였다. 주사일에 mRNA를 해동하고, 동일한 부피의 2배 멸균 링거액과 혼합하였다. 생성된 1X RNA/링거액을 종양 내 주사에 사용하였다.

[0908] **유전자 발현 분석:** Precellys 24 균질기(Bertin Instruments)를 이용하여 RLT 완충액(Qiagen) 중에 A375 종양을 균질화하였다. 총 RNA를 RNeasy-96 키트(Qiagen)로 분리하고, 이어서 DN아제 처리로 스핀 프로토콜을 수행하였다. 뉴클레아제 불포함 물로 RNA를 용출시키고, NanoDrop 8000(Thermo Scientific)을 이용하여 자외선 흡광도로 정량화하였다. 제조사의 권고에 따라 고품질 RNA to cDNA 키트(Applied Biosystems)를 이용하여 cDNA 합성을 수행하였다. 표준 프로토콜에 따라 ViiATM 7(Applied Biosystems)에서 실시간 PCR을 수행하였다. TaqMan 유전자 발현 마스터 믹스(Applied Biosystems) 및 사전 설계된 Taqman 분석(Applied Biosystems)을 이용하여 증폭을 수행하였다. 내인성 대조군 GAPDH에 대해 유전자 발현을 정규화하였다. 유전자 발현을 평가하기 위하여 비교 ddCT 방법을 사용하였다.

표 3

유전자	분석 ID	로트 번호	형광 염료
ISG15	Hs01921425_s1	1548867	FAM
ISG54	Hs01922738_s1	1532771	FAM
Mx1	Hs00895608_m1	1539223	FAM
hGAPDH	4326317E	1311049	VIC

[0909]

[0910] **실시예 2 - 3종의 mRNA의 조합물은 생체 내에서 종양 부피를 감소시킨다**

[0911] GM-CSF, IL-2, 및 IL-12sc를 암호화하는 개질된 mRNA들의 혼합물을 B16F10 종양 보유 마우스 내로 주사하고, 종양 성장을 제41일까지 모니터링하였다. 도 1에 나타난 바와 같이, ModA를 갖는 GM-CSF, IL-2, 및 IL-12sc를 암호화하는 3종의 mRNA의 조합물(서열번호 32, 38, 및 56; 도 1a), 또는 ModB를 갖는 GM-CSF, IL-2, 및 IL-12sc를 암호화하는 3종의 mRNA의 조합물(서열번호 35, 41, 및 59; 도 1b)의 종양 내 주사는 10마리의 마우스 중 6마리에서 퇴화를 유도한 반면, 루시페라아제를 암호화하는 대조군 mRNA(ModA)로 처리한 마우스는 10마리 중 1마리에서 종양 퇴화를 나타냈다(도 1c). 이러한 데이터는 비슷한 설계의 반복 연구에서 확인되었다(도 1d 내지 1g). 반복 실험에서, ModA 또는 ModB를 갖는 사이토카인 mRNA(GM-CSF, IL-2, IL-12sc)의 혼합물은 9마리 마우스 중 5마리에서 종양 퇴화를 초래한 반면, ModA 및 ModB의 대조군 mRNA로의 처리는 각각 9마리 중 2마리 및 9마리 중 0마리의 종양 퇴화를 나타내었다.

[0912] 사이토카인 mRNA 처리의 효과를 CT26 종양에서 평가하였다. 확립된 CT26 종양을 갖는 마우스에 각각 ModA 및 ModB 형식의 GM-CSF, IL-2, 및 IL-12sc를 암호화하는 사이토카인 mRNA 혼합물을 주사하였다. 2종의 대조군을 포함시켰다: i) mRNA 링거 회색액 및 ii) 반딧불이 루시페라아제를 암호화하는 ModA mRNA. 제19일, 제21일, 제24일, 제26일, 제28일 및 제31일에 총 6회의 종양 내 주사를 투여하였다. 도 2에 도시된 바와 같이, GM-CSF, IL-2, 및 IL-12sc mRNA ModA(서열번호 56, 32, 및 38; 도 2a) 및 ModB(서열번호 59, 35, 및 41; 도 2b)는 둘 다 각각 8마리의 마우스 중 5마리와 6마리에서 종양 퇴화를 초래한 반면, ModA의 대조군 mRNA(도 2c) 또는 링거액(도 2d)으로 처리된 종양은 종양 퇴화를 전혀 보이지 않았다.

[0913] IL-15 스시, GM-CSF 및 IL-12sc를 암호화하는 사이토카인 mRNA 혼합물(ModB; 서열번호 53, 59, 및 41) 및 IL-2, GM-CSF 및 IL-12sc를 암호화하는 사이토카인 mRNA 혼합물(ModB; 서열번호 35, 59, 및 41)을 대상으로 CT26 종양 모델에서 항종양 활성을 평가하였다. 종양 접종 후 제13일, 제15일, 제18일, 제20일 및 제22일에 종양에 종양 내 mRNA 주사를 놓았다. 도 3에 도시된 바와 같이, IL-2 혼합물(도 3a) 또는 IL-15 스시 혼합물(도 3b)의 종양 내 주사는 각각 10마리 또는 11마리의 종양 보유 동물 중 5마리에서 종양 퇴화를 초래한 반면(도 3a 및 도

3b), 루시페라아제 mRNA(ModB)를 주사한 대조군에서는 어떠한 종양 퇴화도 관찰되지 않았다(도 3c).

[0914] IL-2, IL-12sc, 및 GM-CSF(도 4a-ModA [서열번호 32, 38, 및 56], 도 4b-ModB [서열번호 35, 41, 및 59]), 또는 IL-15 스시, IL-12sc, 및 GM-CSF 또는 (도 4c-ModA [서열번호 50, 38, 및 56], 도 4d-ModB [서열번호 53, 41, 및 59])의 mRNA 혼합물의 항종양 활성을 B16F10 종양 모델에서 추가로 평가하였다. 제11일, 제13일, 제15일, 및 제17일에 B16F10 종양을 가진 마우스에 mRNA를 종양 내로 주사하였다. IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF를 암호화한 사이토카인 mRNA 혼합물로 B16F10 종양을 처리하자 각각 ModA 및 ModB에서 8마리의 마우스 중 3마리와 4마리에서 종양 퇴화가 일어났다. IL-2, IL-12sc, 및 GM-CSF(ModA 또는 ModB)의 mRNA 혼합물로 처리된 종양은 8마리 마우스 중 4마리에서 종양 퇴화가 있었으나, 루시페라아제를 암호화하는 ModA 또는 ModB mRNA로 처리된 마우스의 경우 종양 퇴화가 전혀 나타나지 않았다(도 4e-ModA, 도 4f-ModB).

[0915] **실시예 3 - 4종의 mRNA의 조합물은 생체 내에서 종양 부피를 감소시킨다**

[0916] 사이토카인 mRNA 혼합물에 대한 제4의 mRNA의 첨가 효과를 시험하였다. B16F10 종양 보유 마우스에 i) GM-CSF, IL-2, IL-12sc(서열번호 59, 35, 및 41; 도 5a), ii) GM-CSF, IL-15 스시, IL-12sc(서열번호 59, 53, 및 41; 도 5b) 및 iii) GM-CSF, IL-15 스시, IL-12sc, IFN α (서열번호 59, 53, 41, 및 47; 도 5c)를 암호화하는 ModB 사이토카인 mRNA 혼합물의 4회 종양 내 주사를 놓고, 종양 성장을 제45일까지 모니터링하였다. 각각의 사이토카인 mRNA 혼합물은 항종양 효과를 나타내어, GM-CSF, IL-2, 및 IL-12sc 또는 GM-CSF, IL-15 스시, 및 IL-12sc의 사이토카인 mRNA 혼합물의 종양 내 주사 후에는 8마리 중 4마리에서 종양이 퇴화하였고, GM-CSF, IL-15 스시, IL-12sc, 및 IFN α 로의 처리 시 8마리 중 7마리에서 종양이 퇴화되었다. 대조군 mRNA(ModB)로 처리한 마우스는 종양 퇴화를 전혀 나타내지 않았다(도 5d).

[0917] 3종의 상이한 뮤린 생체 내 종양 모델 CT26, B16F10 및 MC38에서 GM-CSF, IL-2, IL-12sc, 및 IFN α 의 항종양 활성을 조사하였다. 종양 보유 마우스에 IL-2, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 를 암호화하는 ModB 사이토카인 mRNA(서열번호 35, 41, 59, 및 47) 또는 반딧불이 루시페라아제를 암호화하는 대조군 ModB mRNA의 4 내지 6회 종양 내 주사를 놓았다. 각 종양 모델에서 항종양 활성을 평가하였다. 이러한 사이토카인 mRNA 조합물로 처리한 마우스는 각각 CT26(도 6a), B16F10(도 6c) 및 MC38(도 6e) 모델에서 4/8, 7/8 및 5/5의 퇴화하는 종양을 나타내었다. 루시페라아제 mRNA로 처리된 비교 종양 보유 마우스에서는 종양 퇴화가 전혀 관찰되지 않았다(도 6b [CT26], 도 6d [B16F10], 및 도 6f [MC38]).

[0918] IL-2, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (ModB, 서열번호 35, 41, 59, 및 47) 또는 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (ModB, 서열번호 53, 41, 59, 및 47) 각각을 암호화하는 4-구성요소 사이토카인 mRNA 혼합물의 항종양 활성을 CT26 종양 모델에서 평가하였다. 종양 보유 마우스를 6회의 종양 내 주사로 처리하고, 종양 성장을 모니터링하였다. IL-2, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (도 7a) 및 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (도 7b)로의 처리는 둘 다 효과적으로 각각 4/8 및 8/8 마우스에서 종양 퇴화를 유도한 반면, 대조군 mRNA로 처리된 마우스의 경우, 종양 퇴화가 전혀 관찰되지 않았다(도 7c). 이러한 데이터는 비슷한 설계의 반복 연구에서 확인되었다(도 7d 내지 도 7f).

[0919] IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (ModB, 서열번호 53, 41, 59, 및 47)의 mRNA 혼합물로부터 개별적인 구성요소를 체계적으로 제거한 CT26 종양 모델에서의 연구를 수행하였다. 접종 후 제12일, 제15일, 제19일, 및 제22일에 CT26 종양에 사이토카인 mRNA를 주사하였다. IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 를 암호화하는 mRNA의 4회 주사로 처리된 종양은 전체 10개의 처리된 종양에서 퇴화를 유도하였다(도 8a). i) IL-15 스시, IL-12sc 및 IFN α , ii) IL-15 스시, GM-CSF 및 IFN α , iii) IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α , iv) IL-15 스시, IL-12sc, 및 GM-CSF의 ModB mRNA 혼합물로 처리된 종양은 각각 10개 종양 중 8개, 6개, 8개, 7개 종양의 퇴화를 초래하였다(도 8b 내지 도 8e). 대조군 mRNA(ModB)로 처리한 종양은 종양 퇴화를 전혀 나타내지 않았다(도 8f). 종양 성장 동역학을 분석하기 위하여, 제33일까지 각 처리군에 대하여 평균 종양 부피를 계산하였다(도 8g). 가장 작은 평균 종양 부피는 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 의 혼합물로 처리된 마우스에서 관찰된 반면, 가장 큰 평균 종양 부피는 루시페라아제 처리된 동물에서 관찰되었다. 처리군 각각에 대해 제19일까지 종양 성장 억제 T/C(평균 종양 부피를 기준으로 한 종양/대조군)를 도표화하였다(도 8h). IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 의 4-구성요소 혼합물은 최대의 T/C를 나타내었다.

[0920] 도 8에 나타난 연구와 비슷하게, IL-2, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (ModB; 서열번호 35, 41, 59, 및 47)의 mRNA 혼합물로부터 개별적인 구성요소를 체계적으로 제거한 연구를 수행하였다. CT26 종양에 제19일, 제21일, 제23일, 제26일, 제28일 및 제30일에 6회의 종양 내 mRNA 주사를 놓았다. IL-2, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 의 사이토카인 mRNA 혼합물로의 처리는 10마리 동물 중 4마리에서 종양 퇴화를 초래하였고, 4마리의 동물에서는 완

전한 종양 퇴화를 유도하였고, 두 마리 개체에서는 제40일 이후에 안정적인 질병을 유도하였다(도 9a). i) IL-2, IL-12sc, 및 IFN α , ii) IL-2, GM-CSF 및 IFN α , iii) IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α , 및 iv) IL-12sc, GM-CSF 및 IL-2의 ModB 3-구성요소 mRNA 혼합물로 처리된 종양은 각각 2개, 3개, 3개 및 4개 종양의 퇴화를 초래하였고 (도 9b 내지 도 9e), 대조군 루시페라아제 mRNA로 처리된 CT26 종양은 종양 퇴화를 전혀 나타내지 않았다(도 9f).

[0921] 종양 성장 동역학을 분석하기 위하여, 제36일까지 각 처리군에 대하여 평균 종양 부피를 계산하였다. 가장 작은 평균 종양 부피는 IL-2, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 의 혼합물로 처리된 마우스에서 관찰된 반면, 가장 큰 평균 종양 부피는 루시페라아제 처리된 동물에서 관찰되었다(도 10a). 처리군 각각에 대해 제30일까지 종양 성장 억제 T/C(평균 종양 부피를 기준으로 한 종양/대조군)를 도표화하였다(도 10b). IL-2, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 의 4-구성요소 혼합물은 최대의 T/C를 나타내었다.

[0922] 도 9의 상이한 사이토카인 mRNA 혼합물로부터의 항종양 반응을 다음과 같이 더 분석하였다: 실험 말 또는 종결 시의 측정(V_t) 및 실험 시작 시의 측정(V_b) 사이의 종양 부피의 차이($\Delta V = V_t - V_b$)로 정의되는 종양 부피 변화(ΔV)를, 4 구성요소 사이토카인 mRNA 혼합물(IL-2, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α)로 처리된 마우스, 4종 사이토카인 중 하나를 생략한 3 구성요소 혼합물로 처리된 마우스 및 대조군 루시페라아제 mRNA로 처리된 마우스를 포함한 여섯 개의 처리군 각각의 모든 마우스에 대해 계산하였다. 종양 부피 변화에 대한 절사된 데이터(본래 데이터의 상위 및 하위 10%를 제거함)의 평균(μ) 및 표준편차(σ)를 대조군 루시페라아제군에 대해 계산하였고, 이 절사된 데이터의 Shapiro-Wilk 정규성 검정은 그것이 대략적으로 정규 분포를 따름을 보여주었다. 그런 다음, 모든 처리군의 각각의 개별 마우스에서 종양 부피 변화 데이터에 대하여 Z 점수($Z = (\Delta V - \mu) / \sigma$)를 계산하였다. 각 종양 부피 변화값 및 대조군의 절사 평균 사이의 비율(R)을 계산하였다($R = \Delta V / \mu$). 정의를 고려하여, Z 점수를 "종양 부피 감소의 유의성"으로, R을 "종양 부피 감소 정도"로 간주한다. 대조군 루시페라아제군에서보다 유의미하게 더 작은 종양 부피 증가(즉, 대조군과 비교하여 "유의미한 종양 감소")를 보여주는 마우스를 확인하기 위하여, $Z \leq -1.645$ ($p(Z \leq -1.645) = 0.05$) 및 $R \leq 0.15$ 의 컷오프를 적용하였다. 결과는 대조군보다 유의미하게 더 작은 종양 부피 증가를 나타내는 각 처리군의 마우스 수가 다음과 같음을 보여주었다: i) IL-2, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (ModB)의 사이토카인 mRNA 혼합물의 경우, 8마리 마우스 중 6마리. ii) IL-2, GM-CSF 및 IFN α (ModB)의 경우, 8마리 마우스 중 2마리, iii) IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α , 그리고 IL-2, IL-12sc, 및 IFN α 의 경우 8마리 중 3마리, 및 iv) IL-2, IL-12sc, 및 GM-CSF (ModB)의 사이토카인 mRNA 혼합물로 처리된 8마리 마우스 중 4마리(도 11).

[0923] 위에 기술된 바와 같이 암컷 C57BL/6J 마우스에 B16F10 세포를 이식하였다. 제11일, 제15일, 제19일, 및 제23일에 ModB 사이토카인 mRNA 혼합물(IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF, IFN α) 또는 대조군 루시페라아제 mRNA로의 4회 종양 내 주사(8 μ g mRNA/표적당 2 μ g)로 마우스를 처리하였다. 사이토카인 mRNA의 4-구성요소 혼합물로 처리는 10마리의 처리된 마우스 중 6마리에서 종양 거부를 초래하였다. 도 24b 참조. 대조적으로, 단일 mRNA로 처리한 어떠한 군에서도 무종양 마우스가 관찰되지 않았다(도 24c 내지 도 24f). IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF, IFN α 의 조합물은 증가된 전체 생존을 초래하였고, 마우스의 60%는 제70일에 무종양인 반면, 단일 사이토카인 mRNA로 처리된 마우스의 모든 종양은 동물을 안락사시킬 필요가 있는 단계까지 진행되었다(도 24g). 루시페라아제 대조군을 도 24a에 나타내었다.

[0924] **실시예 4 - 사이토카인 mRNA는 종양 재접종으로부터 보호한다**

[0925] 면역 기억의 발달에 미치는 사이토카인 mRNA 혼합물의 영향을 평가하기 위하여, 재접종 실험을 수행하였다. 간략하게는, B16F10 종양 보유 마우스를 IL-15스시, IL-12sc, GM-CSF, 및 IFN α (Mod B; 서열번호 53, 41, 59, 및 47)의 사이토카인 mRNA 혼합물로 처리하였다. 사이토카인 mRNA 처리 B16F10 종양 일부는 완전히 퇴화되어 무종양 동물을 초래하였다. 그런 다음, 적응 면역 기억을 평가하는 방법으로 이들 무종양 동물에 B16F10 세포를 재접종하고, 9마리의 naive 마우스에 종양 생착에 대한 양성 대조군으로서 B16F10 종양 세포를 이식하였다(도 12a). B16F10 세포가 생착된 아홉 마리의 naive 마우스는 모두 종양을 발달시킨 반면, 여덟 마리의 무종양 마우스는 모두 B16F10 세포를 거부하였고, B16F10 종양 성장을 나타내지 않았다(도 12b). 이전에 사이토카인 mRNA로 처리된 마우스 일부는 본래의 종양 위치에 국소화된 백반을 발달시킨다(도 12c). 이 실험을 근본적으로 반복하였고, 결과를 도 33에 나타내었다.

[0926] 면역 기억의 발달에 미치는 사이토카인 mRNA 혼합물의 영향을 평가하기 위하여, CT26 종양 모델을 이용한 재접종 실험을 수행하였다. 따라서, CT26 종양 보유 마우스를 IL-15스시, IL-12sc, GM-CSF, 및 IFN α (Mod B; 서열번호 53, 41, 59, 및 47)의 사이토카인 mRNA 혼합물로 처리하였다. 사이토카인 mRNA 처리 CT26 종양 일부는 완

전히 퇴화되어 무종양 동물을 초래하였다. 그 후, 세 마리의 무종양 동물에 CT26 종양 세포를 재접종하였고, 세 마리의 무종양 동물에 gp70 에피토프(CT26-Δgp70)가 녹아있던 CT26 종양 세포를 재접종하였다. 종양 생장에 대한 양성 대조군으로서 각각 9마리와 10마리의 naive 마우스에 CT26 종양 세포 및 CT26-Δgp70을 이식하였다. 종양 접종 후 제21일에 CT26 종양을 생착시킨 9마리의 naive 마우스 중 8마리가 종양을 발달시켰고, CT26-Δgp70 종양이 생착된 10마리의 naive 마우스가 모두 종양을 발달시킨 반면, 각 군의 모든 세 마리의 무종양 마우스는 CT26 및 CT26-Δgp70 세포를 거부하였고, 각각 CT26 종양 및 CT26-Δgp70의 성장을 나타내지 않았다(도 12d). 이 실험은 CT26 종양 모델에서 사이토카인 mRNA 주사 시 면역 기억이 면역우성 에피토프 gp70에 특이적인 T 세포로 제한되지 않음을 보여준다.

[0927] **실시예 5 - 사이토카인 mRNA의 전신성 항종양 활성**

[0928] 국소적인 종양 내 사이토카인 mRNA가 전신성 항종양 반응을 나타내는 능력을 평가하기 위하여, 마우스의 좌측 및 우측 옆구리에 B16F10 종양 세포를 생착시켰다(도 13a). 좌우 B16F10 종양을 보유한 마우스에 루시페라아제를 암호화하는 대조군 mRNA 또는 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (ModB; 서열번호 53, 41, 59, 및 47)를 암호화하는 사이토카인 mRNA 혼합물로 4회 종양 내 주사를 놓았다. 우측 종양에는 3가지 상이한 용량 수준(표적당 20 μg, 2 μg 및 0.2 μg mRNA에 해당하는 80 μg, 8 μg, 및 0.8 μg mRNA)의 mRNA를 주사한 반면, 좌측 옆구리의 종양은 미처리되었다. 용량 의존적 항종양 활성은 주사(도 13b) 및 미주사(도 13c) 종양 둘 다에서 관찰되었고, 종양 성장 억제체는 미주사 종양에서 88%로부터 주사된 종양에서 95%까지의 범위였다. 사이토카인 mRNA 처리로 처리된 군은 루시페라아제 대조군 mRNA로 처리된 군과 비교하여 증가된 중간 생존기간을 나타내었다(도 13d).

[0929] 국소적인 종양 내 사이토카인 mRNA가 전신성 항종양 반응을 나타내는 능력을 더 평가하기 위하여, 마우스의 우측 옆구리에 B16F10 종양 세포를 생착시키고, 폐에서의 종양 유도를 위하여 루시페라아제를 발현하는 B16F10 세포의 IV 주사를 받게 하였다(도 19a). SC 종양 이식 후 제11일, 제14일, 및 제18일에, B16F10 종양을 보유한 마우스에 옆구리 종양 내로만 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (ModB; 서열번호 53, 41, 59, 및 47)의 사이토카인 mRNA 혼합물로 총 3회 종양 내 주사를 놓았고, 폐의 종양은 미처리하였다. 대조군에는 임의의 암호화 서열이 없는 동량의 대조군 mRNA의 종양 내 주사를 놓았다. 제20일에 종점 분석을 위하여 마우스를 희생시키고, 이 시점에 폐를 채취하여 중량을 측정하였다. 도 19b는 검은색 종양 결절을 시각화하기 위하여 네 마리 동물의 예시적인 생물발광 측정 및 이에 따라 채취된 폐 사진을 보여준다. SC 종양의 종양 성장은 사이토카인 mRNA 혼합물 주사에 의해 강력하게 억제된 반면, 대조군 mRNA가 주사된 종양은 도 19c에 도시된 바와 같이 점진적으로 성장하여, 각 군의 15마리 마우스의 평균 종양 부피를 보여주었다. 대조군 mRNA 처리 동물과 비교하여 SC 종양에 종양 내 사이토카인 mRNA 주사를 받은 동물에서 폐 종양 성장이 억제되었다; 도 19d는 제20일에 군당 모든 15마리 동물의 생물발광 측정의 총 용량 분석을 보여주는데, 이는 루시페라아제 발현 종양 세포로 인한 종양 부담에 대한 상관관계를 나타낸다; 선은 중간값을 나타내고, 별표는 T 검정으로 분석한 $p < 0.05$ 를 나타낸다. 추가로, 사이토카인 mRNA로 처리한 동물들의 폐는 유의미하게 적은 중량을 나타내었다(도 19e, 선은 중간값을 나타냄). 대조군 mRNA로 처리한 동물의 더 큰 중량의 폐는 더 높은 종양 부담으로 인한 것이었다.

[0930] **실시예 6 - 인간 사이토카인 mRNA**

[0931] 인간 사이토카인 mRNA의 시험관 내 발현을 평가하기 위하여, 인간 사이토카인 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF, 및 IFN α 2b(서열번호 26, 18, 29, 및 23)(ModB)를 암호화하는 mRNA 혼합물을 4종의 흑색종 용양 세포주(A375, A101D, A2058 및 Hs294T)와 함께 HEK293 세포주 내로 형질감염시켰다(도 14a). 사이토카인 mRNA 혼합물은 5종의 인간 세포주의 패널 전반에 걸쳐 용량 의존적인 발현 및 분비를 나타내었다(도 14b 내지 도 14f).

[0932] IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 2b의 인간 mRNA 혼합물의 약물동력학적 효과를 시험관 내에서 인간 말초 혈액 단핵구 세포(PBMC)로 평가하였다. 요컨대, IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 2b(ModB)의 인간 사이토카인 mRNA 혼합물 또는, IL-12sc, IFN α 2b, IL-15 스시 또는 GM-CSF (ModB)를 암호화하는 개별 사이토카인 mRNA들을 HEK293 세포에서 형질감염시키고, 조정 배지를 24시간에 수집하고, 희석하고, 인간 PBMC에 첨가하였다(도 15a). IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 2b의 사이토카인 mRNA 혼합물로 처리된 6명의 공여자로부터의 중간 IFN γ 수준은 5623 pg/mL인 반면, IL-12sc, IFN α 2b, IL-15 스시 또는 GM-CSF에 대한 개별 사이토카인 mRNA로의 처리는 각각 534, 67, 17, 및 4 pg/mL의 중간 IFN γ 수준을 유도하였다(도 15b).

[0933] IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 2b (ModB), 그리고 IL-2, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 2b (ModB)의 인간 사이토카인 mRNA 혼합물의 생체 내 발현을 A375 인간 흑색종 이종이식에서 모니터링하였다. 종양 보유 마우스에 사이토카인 mRNA의 단일 주사를 놓았고, mRNA 주사 2시간, 4시간, 8시간, 24시간, 48시간 및 72시간 후에 종양

샘플을 수집하였다. 종양 용해물을 제조하고, 개별적인 인간 사이토카인 IFN α 2b(도 16a), IL-2(도 16b), IL-12sc(도 16c), IL-15 스시(도 16d), GM-CSF(도 16e)의 발현을 평가하였다.

[0934] 개별적인 사이토카인 각각에 대해 시간 의존적인 발현이 관찰되었고, 최대 농도(C_{max})는 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 2b(표 4), 그리고 IL-2, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 2b(표 5)의 혼합물의 경우 2 내지 8시간 사이에서 발생하였다.

표 4

IL-15 스시 혼합물에 대한 약물동력학 결과

종양	GM-CSF	IFN α 2b	IL-12sc	IL-15스시
t _{1/2} (시간)	12.4	9.59	15.2	10.2
T _{max} (시간)	4	4	8	4
C _{max} (pg/mg)	1591	4862	3767	2639

[0935]

표 5

IL-2 혼합물에 대한 약물동력학 결과

종양	GM-CSF	IFN α 2b	IL-12sc	IL-2
t _{1/2} (시간)	14.8	10.2	15.5	12.8
T _{max} (시간)	2	2	8	2
C _{max} (pg/mg)	2487	10685	4961	4274

[0936]

[0937] IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 2b (ModB), 그리고 IL-2, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α 2b (ModB)의 사이토카인 mRNA 혼합물의 mRNA 주사 2시간, 4시간, 8시간, 24시간, 48시간 및 72시간 후에 약물동력학 마커로서 인간 인터페론 알파 유전자 ISG15, ISG54 및 MX1의 유도를 A375 종양에서 모니터링하였다. 대조군 처리된 종양과 비교하여, 사이토카인 mRNA로 처리된 A375 종양은 ISG15(도 17a), ISG54(도 17b) 및 MX1(도 17c)의 100배를 초과하는 유도를 나타내었으며, 피크 유도는 종양 내 mRNA 주사 8시간 후에 발생하였다.

[0938] 실시예 7 - 인터페론 효과

[0939] B16F10 종양 보유 마우스에 IL-2, Flt3 리간드(FLT3L), 41BBL(CD137L 또는 종양 괴사 인자 수퍼패밀리 구성원 9로도 알려져 있음), 및 CD27L-CD40L(이는 CD70으로도 알려져 있는 CD27L의 가용성 도메인의 융합 단백질 및 CD40L을 포함한다; CD27L 및 CD40L은 모두 GS-링커 서열에 의해 분리된 CD27L 또는 CD40L의 세 개의 가용성 도메인으로 구성된다)을 암호화하는 ModA ("표준") 사이토카인 mRNA(도 18a, 서열번호 32, 62, 68, 및 74) 또는, IL-2, FLT3L, 41BBL, 및 CD27L-CD40L을 암호화하는 ModB ("개질") 사이토카인 mRNA(도 18b, 서열번호 35, 65, 71, 및 77)의 종양 내 주사를 놓았다. 또한, IFN α 를 암호화하는 ModA mRNA(서열번호 44) 또는 IFN α 를 암호화하는 ModB mRNA(서열번호 47)를 각각 ModA 또는 ModB mRNA 혼합물에 첨가하였다(도 18d 및 도 18e). 항종양 활성을 평가하였다.

[0940] ModA mRNA의 이러한 조합물로 처리한 마우스는 IFN α 가 없는 경우에는 9마리 마우스 중 4마리가 무종양이었고(도 18b), IFN α 가 있을 경우에는 9마리 마우스 중 3마리가 무종양이었다(도 18d). 따라서, IFN α mRNA로의 처리는 mRNA가 ModA 형태로 투여될 때 사이토카인에 대한 반응을 증가시키는 것으로 보이지 않았다.

[0941] 대조적으로, ModB mRNA의 조합물로 처리한 마우스는 IFN α 가 없는 경우에는 9마리 마우스 중 1마리가 무종양이었고(도 18c), IFN α 가 있을 경우에는 9마리 마우스 중 7마리가 무종양이었다(도 18e). 따라서, IFN α mRNA로의 처리는 mRNA가 ModB 형태로 투여될 때 사이토카인 혼합물에 대한 반응을 증가시켰다.

[0942] 실시예 8 - 항체와 조합한 사이토카인 mRNA

[0943] 항체의 전신 투여와 조합한 사이토카인 mRNA의 종양 내 주사의 효과를 평가하기 위하여, 마우스의 좌측 및 우측 옆구리에 B16F10 또는 MC38 종양 세포를 생착시켰다. 마우스는 제11일, 제15일, 제19일, 제23일에 옆구리 종양 중 한쪽에만 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (ModB; 서열번호 53, 41, 59, 및 47)의 사이토카인 mRNA 혼합물로 4회 종양 내 주사를 받은 한편, 다른 옆구리 종양은 미처리한 채로 두었다. 마우스에 제10일, 제13일, 제16일, 제19일, 제22일, 제25일에 항-PD1 항체(5 mg/kg의 랫트 IgG2a 항-마우스 PD-1 클론 RMP1-14의 사노피 (Sanofi) 뮤린화 버전)의 복강 내 주사도 놓았다. 그룹은 다음과 같았다: 1) 대조군 mRNA(80 μ g 총 mRNA; 1.6 mg/mL의 50 μ L 종양 내 주사 플러스 대조 이소형 항체(클론 MOPC-21(BioLegend); 5 mg/kg); 2) 대조군 mRNA 플러스 항-PD1 항체; 3) 사이토카인 mRNA 플러스 대조 이소형 항체; 및 4) 사이토카인 mRNA 플러스 항-PD1. 전체 생존을 B16F10(도 20a) 및 MC38(도 20b) 종양 모델에서 모니터링하였다. 두 종양 모델에서 가장 높은 전체 생존은 사이토카인 mRNA 및 항-PD-1 처리의 조합에서 관찰되었는데, B16F10 보유 마우스의 60% 및 MC38 보유 마우스의 80%가 연구 종료 시 무종양이었다. B16F10 종양 모델에서는, 항-PD-1 또는 사이토카인 mRNA 단독으로 처리된 마우스의 10%가 무종양이었으나, MC38 모델에서는 항-PD-1로 처리된 마우스의 40% 및 사이토카인 단독으로 처리된 마우스의 30%가 무종양이었다. 이 결과는 사이토카인 mRNA 및 PD-1 조합과 관련된 강력한 항종양 활성을 나타낸다.

[0944] PD-1 항체와 조합한 국소적인 종양 내 사이토카인 mRNA가 전신성 항종양 반응을 나타내는 능력을 더 평가하기 위하여, 마우스의 우측 옆구리에 B16F10 종양 세포를 생착시키고, 1일 후에 폐 전이 유도를 위하여 루시페라아제를 발현하는 B16F10 세포의 IV 주사를 받게 하였다. IV 종양 이식 후 제11일, 제14일, 및 제17일에, B16F10 종양을 보유한 마우스에 옆구리 종양 내로만 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (ModB; 서열번호 53, 41, 59, 및 47)의 사이토카인 mRNA 혼합물로 총 3회 종양 내 주사를 놓았고, 폐의 종양은 미처리하였다. 같은 날, 마우스에 PD-1 항체(10 mg/kg의 랫트 IgG2a 항-마우스 PD-1 클론 RMP1-14의 사노피 뮤린화 버전)의 복강 내 (IP) 주사도 놓았다. 그룹은 다음과 같았다: 1) 대조군 mRNA(40 μ g 총 mRNA; 대조 이소형 항체(클론 MOPC-21(BioLegend); 10 mg/kg)의 50 μ L 종양 내 주사(도 20c); 2) 대조군 mRNA 플러스 항-PD1 항체(도 20d); 3) 사이토카인 mRNA 플러스 대조 이소형 항체(도 20e); 및 4) 사이토카인 mRNA 플러스 항-PD1(도 20f). SC 종양의 종양 성장(도 20c 내지 도 20f)뿐만 아니라 생존(도 20g)도 모니터링하였다. 이 모델에서 전체 생존을 SC 종양으로 인한 종양 부담 및 폐 거짓전이 종양(이 도면에는 미도시)에 의해 결정하였다; 일부 마우스에서 SC 종양은 거부된 반면, 폐 전이는 점차 커졌다. 가장 높은 전체 생존은 사이토카인 mRNA 및 항-PD-1 처리의 조합에서 관찰되었다. 사이토카인 mRNA 단독으로 처리된 마우스 중 6 내지 7%가 무종양인 반면, 항-PD-1 단독 또는 대조군 mRNA + 이소형 항체를 받았던 마우스는 높은 종양 부담으로 제22일에 모두 희생되었다. 이 결과는 이 폐 거짓전이 있는 B16F10 종양 모델에서 사이토카인 mRNA 및 PD-1 조합과 관련된 강력한 항종양 활성을 나타내는 반면, 항-PD-1 항체 단독은 어떠한 항종양 활성도 보여주지 않았다.

[0945] 항체의 전신 투여와 조합한 사이토카인 mRNA의 종양 내 주사의 효과를 더 평가하기 위하여, 마우스의 우측 옆구리에 CT26 종양 세포를 생착시켰다. 마우스에 종양 접종 후 제11일, 제14일, 제18일 및 제21일에 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (ModB; 서열번호 53, 41, 59, 및 47)의 사이토카인 mRNA 혼합물로 4회 종양 내 주사를 놓았다. 같은 날, 마우스에 항-CTLA-4 항체(마우스당 100 μ g/200 μ L; InVivoMAb의 클론 9H10) 또는 이소형 대조 항체(마우스당 100 μ g/200 μ L; BioXCell의 아르메니아 햄스터 IgG)의 복강 내(IP) 주사도 놓았다. 그룹은 다음과 같았다: 1) 사이토카인 mRNA 플러스 항-CTLA-4 항체(도 21a); 2) 사이토카인 mRNA 플러스 이소형 대조 항체(도 21b); 3) 대조군 mRNA 플러스 항-CTLA-4 항체(도 21c) 및 4) 대조군 mRNA 플러스 이소형 대조 항체(도 21d). 종양 내 사이토카인 mRNA 및 IP 주사된 항-CTLA-4의 병용 요법은, 종양 접종 후 제55일에 16마리의 마우스 중 12마리가 무종양으로, 가장 강력한 항종양 활성을 초래하였다(도 21a). 사이토카인 mRNA 플러스 이소형 대조 항체(도 21b) 또는 대조군 mRNA 플러스 항-CTLA-4 항체(도 21c)로의 처리는, 각각 연구 종료 시 5마리와 7마리의 무종양 마우스를 나타내, 더 적은 항종양 활성을 유도하였다. 대조적으로, 대조군 mRNA 플러스 이소형 대조 항체(도 21d)를 받은 그룹에서는, 오로지 한 마리의 무종양 마우스만 연구 종결 시에 남아 있었다.

[0946] 항-CTLA-4 항체와 조합한 사이토카인 mRNA의 종양 내 주사의 효과를 더 평가하기 위하여, 마우스의 우측 옆구리에 B16F10 종양 세포를 생착시켰다. 마우스에 종양 접종 후 제13일, 제17일, 및 제20일에 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (ModB; 서열번호 53, 41, 59, 및 47)의 사이토카인 mRNA 혼합물로 3회 종양 내 주사를 놓았다. 종양 접종 후 제13일, 제17일, 제20일 및 제24일에, 마우스에 항-CTLA-4 항체(마우스당 100 μ g/200 μ L; InVivoMAb의 클론 9H10) 또는 이소형 대조 항체(마우스당 100 μ g/200 μ L; BioXCell의 아르메니아 햄스터 IgG)의 복강 내(IP) 주사도 놓았다. SC 종양의 종양 성장 및 생존을 모니터링하였다. 그룹은 다음과 같았다: 1) 사이토카인 mRNA 플러스 항-CTLA-4 항체(도 21e); 2) 사이토카인 mRNA 플러스 이소형 대조 항체(도 21f); 3)

대조군 mRNA 플러스 항-CTLA-4 항체(도 21g) 및 4) 대조군 mRNA 플러스 이소형 대조 항체(도 21h). 종양 내 사이토카인 mRNA 및 IP 주사된 항-CTLA-4의 병용 요법은, 종양 접종 후 제60일에 9마리의 마우스 중 6마리가 무종양으로, 가장 강력한 항종양 활성을 초래하였다(도 21e). 사이토카인 mRNA 플러스 이소형 대조 항체로의 처리(도 21f)는 9마리 마우스 중 2마리의 무종양 마우스를 나타내어 더 적은 항종양 활성을 유도하였다. 대조적으로, 대조군 mRNA 플러스 항-CTLA-4 항체(도 21g) 또는 대조군 mRNA 플러스 이소형 대조 항체(도 21h)를 받은 두 그룹에서는, 연구 종결 시 무종양 마우스가 전혀 남아 있지 않았다. 생존율(%)을 도 21i에 도시하였는데, 이는 사이토카인 mRNA 및 항-CTLA-4 처리의 조합에서 연구 종료 시(제70일) 종양 보유 마우스의 67%의 가장 높은 전체 생존율을 보여준 반면, 사이토카인 mRNA 단독으로 처리된 마우스의 33%는 무종양이었다. 이 결과는 이 B16F10 종양 모델에서 사이토카인 mRNA 단독 및 사이토카인 mRNA와 항-CTLA-4 항체와 관련된 강한 항종양 활성을 나타내며, 이때, 항-CTLA-4 항체 단독은 어떠한 항종양 활성도 보여주지 않았다.

[0947] **실시예 9 - 여러 암 유형에서의 mRNA 사이토카인 주사**

[0948] 다양한 유형의 암에서 사이토카인 mRNA 종양 내 주사의 효과를 평가하기 위하여, 5종의 이종이식 마우스 모델 - KM12(CRC), RPMI8226(골수종), NCI-N87(위), A375(흑색종), 및 NCI-H1975(NSCLC) - 을 실시예 1에 기술된 바와 같이 시험하였다. KM12(CRC), RPMI8226(골수종), NCI-N87(위), A375(흑색종), 및 NCI-H1975(NSCLC) 종양 보유 마우스에 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (ModB; 서열번호 26, 18, 29, 및 23)의 인간 사이토카인 mRNA 혼합물 8 μ g(2 μ g/표적)의 단일 종양 내 주사를 놓고, 암호화된 사이토카인을 제24시간에 종양에서 평가하였다. IL-15 스시(도 22d), IL-12sc(도 22a), GM-CSF(도 22c) 및 IFN α (도 22b)의 4종 사이토카인 각각의 발현을 5종의 이종이식 모델 모두에서 검출하였는데, 가장 높은 사이토카인 수준은 NCI-H1975에서 관찰되었고, 이어서 A375, NCI-N87, RPMI8226, 및 KM12이었다.

[0949] **실시예 10 - 종양 내 mRNA 사이토카인 주사 후 사이토카인의 용량 의존적인 혈청 발현**

[0950] 우측 옆구리에 단일 A375 종양을 생착시킨 마우스의 혈청에서 암호화된 사이토카인의 발현에 미치는 상이한 종양 내 mRNA 용량의 영향을 조사하였다. 마우스에 인간 IL-15 스시, IL-12sc, GM-CSF 및 IFN α (ModB; 서열번호 26, 18, 29, 및 23)의 사이토카인 mRNA 혼합물의 단일 종양 내 주사를 놓았다. 종양 내 mRNA 주사 6시간 후에 혈청을 수집하고, 메소 스케일 디스커버리 분석으로 사이토카인 발현을 분석하였다. mRNA 암호화된 사이토카인 각각의 용량 의존적인 발현은 80 μ g(20 μ g)의 최고 용량에서부터 0.0256 μ g(0.0064 μ g)의 최저 용량까지 혈청에서 관찰되었다. 결과를 도 23a 내지 도 23d에 나타내었다.

[0951] **실시예 11 - 사이토카인 mRNA는 gp70+ CD8 T 세포의 증식을 초래한다**

[0952] 한쪽 옆구리에 단일 CT26 종양을 보유한 마우스에 IL-15 스시, GM-CSF, IFN α , 및 IL-12sc(ModB; 서열번호 53, 41, 59, 및 47)의 사이토카인 mRNA 혼합물의 4회 종양 내 주사를 놓았다. 최초 종양 내 mRNA 투여 13일 후 혈액을 수집하고 gp70 종양 항원에 특이적인 T 세포를 유세포 분석법으로 정량화하였다. 혈액 중 gp70 종양 항원에 특이적인 T 세포의 빈도는 대조군 RNA를 놓은 마우스와 비교하여 mRNA 사이토카인 종양 내 주사 시에 마우스에서 맹렬히 증가되었다.

[0953] **실시예 12 - 사이토카인 mRNA는 여러 전염증 경로를 유도하고 처리 및 미처리 마우스에서 면역 침윤물을 증가시킨다.**

[0954] 좌측 및 우측 옆구리에 B16F10 종양을 보유한 마우스를 대상으로 80 μ g의 mRNA(20 μ g/표적)의 단일 종양 내 주사를 우측 종양에 놓았고(우측 종양은 0.5×10^6 개 세포로 시작되었음(처리)), 0.25×10^6 개 세포로 시작된 종양은 미처리 상태로 유지되었다. mRNA 종양 내 주사 7일 후, 양쪽 종양을 수집하고, RNA를 단리하여, RNA 시퀀싱 분석을 하였다. 도 27a 내지 도 27c에 도시된 바와 같이, IL-15 스시, GM-CSF, IFN α , 및 IL-12sc(서열번호 59, 53, 41, 및 47)의 사이토카인 mRNA 혼합물로의 처리는 다양한 IFN감마 반응 유전자를 포함한, 여러 전염증 경로를 상향 조절하였다. 전염증/IFN감마 관련 경로의 상향 조절은 처리 및 미처리 종양 둘 다에서 발생하여, 국소적인 종양 내 처리가 전신성 면역 조절 효과를 나타낸다는 통념을 뒷받침하였다.

[0955] 유전자 발현에서 관찰된 변화를 설명할 수 있는 신호전달 경로의 변화를 확인하기 위하여, 주사된 옆구리의 사이토카인 mRNA 처리군 및 대조군 사이에서 다르게 발현된 3298개 유전자(1699개는 상향 조절되고 1599개는 하향 조절됨) 및 미주사 옆구리의 4973개 유전자(2546개는 상향 조절되고 2427개는 하향 조절됨)에 대해 원인이 되는 네트워크 분석(독창성 경로 분석 도구의 일부)을 수행하였다. 경로의 변화를 나타내고자 Z 점수를 계산하였는데, 점수의 부호는 변화의 방향을 나타낸다(양의 부호는 활성화를 시사하는 반면, 음의 부호는 억제 를 시사함).

[0956] 주사된 종양 및 미주사 종양의 대조군 및 사이토카인 mRNA 처리된 샘플에서 IFNG에 의해 조절된 328개의 유전자 (295개 상향 조절 및 33개 하향 조절)의 발현에 대한 계층적 군집화를 수행하였다. 샘플 전체에 걸쳐 각 유전자의 발현을 z 점수 정규화하였다. 유사성 메트릭은 Pearson의 상관 계수를 기반으로 하고, 완전 연관을 이용하여 계통도를 생성한다. 표 6 참조.

[0957] 침윤된 면역세포의 상대적 풍부도는 면역세포 유형 특이적 유전자 서명의 평균 발현을 계산함으로써 결정된다.

표 6

유전자	IFNG_조절	처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
ABI1	활성화	1.6776	0.0073	0.0995	1.5218	0.0354	0.1551
ACOD1	활성화	31.6293	3.9652E-06	0.0024	6.1017	0.0096	0.0911
ADGRG2	활성화	1.8174	0.0248	0.2076	1.3902	0.2293	0.4662
ADORA2B	활성화	2.9657	0.0044	0.0752	1.4261	0.352	0.6138
AIF1	활성화	6.0406	0.0005	0.0201	4.7598	0.0032	0.057
AIM2	활성화	9.9707	0.000085324	0.0086	3.4835	0.0276	0.1361
ANGPTL4	활성화	2.0707	0.0293	0.2265	2.0904	0.0368	0.1586
APOL6	활성화	10.3994	0.0017	0.0418	10.1341	0.0031	0.0564
APP	활성화	2.0312	0.0006	0.0238	2.2382	0.0003	0.0276
ARFGAP3	활성화	1.6535	0.0146	0.1517	1.0201	0.9237	1
ASS1	활성화	3.5414	0.0084	0.1093	-1.0202	0.9668	1
ATF3	활성화	5.5284	0.0006	0.0231	-1.1007	0.8409	1
B2M	활성화	4.7005	0.000092097	0.0089	2.7946	0.0085	0.0859

[0958]

유전자	IFNG_조절	처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
BACH1	활성화	2.2944	0.0098	0.1179	1.3281	0.3821	0.6482
BATF2	활성화	4.0479	0.0211	0.1885	1.6468	0.4201	0.6889
BCL2L11	활성화	4.2973	0.0057	0.0868	1.1465	0.7946	1
BCL3	활성화	4.4411	0.0167	0.1639	2.5676	0.1413	0.3455
BLNK	활성화	4.2753	0.0003	0.0158	3.2008	0.0044	0.0643
BST1	활성화	16.9081	1.3371E-06	0.0016	6.6164	0.0007	0.0334
BTG1	활성화	3.5307	0.0001	0.0102	-1.1775	0.5968	0.8607
CIQA	활성화	5.3999	0.0029	0.0588	1.3506	0.5911	0.8558
CIQB	활성화	5.955	0.0104	0.1219	3.531	0.0786	0.2408
CIQC	활성화	6.2282	0.0009	0.0307	2.7013	0.0707	0.2284
C2	활성화	2.2866	0.0367	0.2598	2.5908	0.0242	0.1281
C3	활성화	10.2057	0.0043	0.0734	11.6428	0.0044	0.0648
C4B	활성화	3.3143	0.0154	0.1562	1.3973	0.5045	0.7768
CSAR1	활성화	6.4343	0.000061281	0.0074	1.8122	0.1729	0.3925

[0959]

유전자	IFNG_조절	처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
CAMK4	활성화	2.5261	0.0011	0.0335	2.0726	0.012	0.1009
CASP1	활성화	8.2891	0.0079	0.1049	6.7759	0.0214	0.1263
CASP4	활성화	3.9281	0.0015	0.0389	1.2492	0.5969	0.8608
CCL11	활성화	6.225	0.0028	0.0579	9.5207	0.0007	0.0334
CCL17	활성화	3.9738	0.0268	0.2146	3.0432	0.0868	0.2549
CCL2	활성화	5.0444	0.0331	0.2446	1.9159	0.4045	0.6716
CCL22	활성화	5.4223	0.000050981	0.0069	3.6151	0.002	0.0467
CCL3	활성화	8.2215	0.0007	0.0259	4.7966	0.0129	0.1045
CCL4	활성화	8.7234	0.0008	0.0287	2.8285	0.1042	0.2846
CCL5	활성화	19.1375	0.000004935	0.0027	9.4224	0.0004	0.0299
CCL7	활성화	4.7053	0.0068	0.0952	-1.2497	0.6964	0.9457
CCL8	활성화	9.3589	0.0113	0.1283	3.9524	0.1286	0.3243
CCR1	활성화	5.333	0.0012	0.0349	1.7221	0.2823	0.5325
CCR2	활성화	5.8007	0.0025	0.0546	2.1931	0.1766	0.3975

[0960]

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
CCR5	활성화	10.8409	0.000010504	0.004	4.8697	0.0025	0.0512
CCR12	활성화	3.9822	0.002	0.0465	3.6428	0.0056	0.071
CD14	활성화	5.6413	0.0025	0.0546	1.413	0.5406	0.8104
CD2	활성화	13.539	0.0001	0.0095	5.0981	0.0138	0.1086
CD274	활성화	11.0684	0.000096803	0.0091	3.4411	0.038	0.1616
CD38	활성화	5.5697	0.0005	0.0212	1.4645	0.4221	0.6908
CD40	활성화	11.0285	0.0003	0.0158	1.2537	0.7201	0.9637
CD40LG	활성화	3.1168	0.0068	0.0952	1.1976	0.6673	0.9224
CD68	활성화	6.1325	0.000040468	0.0063	3.6801	0.0029	0.0544
CD74	활성화	30.4664	0.000057089	0.0072	5.9291	0.0291	0.1392
CD80	활성화	4.1003	0.0005	0.0217	3.5579	0.0026	0.0517
CD86	활성화	6.3927	0.0008	0.027	8.2257	0.0004	0.0289
CDKN2A	활성화	1.9017	0.0117	0.1312	-1.2679	0.3579	0.6202
CEBPB	활성화	4.4389	0.0007	0.0253	2.1429	0.0784	0.2404

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
CELSR1	활성화	1.6953	0.0001	0.0107	1.1455	0.3001	0.5534
CERS6	활성화	2.2538	0.0064	0.0927	1.717	0.0763	0.2363
CFB	활성화	9.003	0.0001	0.0109	6.2886	0.0018	0.0444
CH25H	활성화	4.3757	0.007	0.097	1.9042	0.2435	0.4858
CHRNA	활성화	1.6587	0.0293	0.2263	1.0536	0.8254	1
CIITA	활성화	6.2751	0.0008	0.0287	2.736	0.0651	0.2172
CLEC2D	활성화	4.9639	0.0002	0.0135	2.6567	0.0223	0.1263
CLEC4E	활성화	25.396	2.9823E-07	0.001	7.0201	0.0009	0.0355
CLIC4	활성화	2.2909	0.000025847	0.0053	1.4654	0.0399	0.1658
CMPK2	활성화	2.6988	0.0048	0.0785	1.9213	0.0687	0.2249
CORO1A	활성화	5.8653	0.0076	0.1019	2.1612	0.2494	0.4929
CP	활성화	2.7012	0.0222	0.1945	1.2703	0.5885	0.8544
CSF1	활성화	5.3648	0.0071	0.0977	2.9314	0.0916	0.2624
CSF2	활성화	2.4249	0.0053	0.0828	1.8261	0.0635	0.2145

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
CSF2RB	활성화	7.8798	0.000014063	0.0041	3.3417	0.008	0.0833
CTS8	활성화	2.9396	0.0192	0.1786	-1.5854	0.3271	0.5867
CTSD	활성화	1.7662	0.0058	0.0873	1.5654	0.0351	0.1546
CTSH	활성화	6.6723	0.0004	0.0189	3.0998	0.0341	0.1523
CTSS	활성화	14.2913	0.000052305	0.0069	2.0554	0.2402	0.4813
CXCL1	활성화	2.4631	0.0443	0.2909	2.3701	0.0679	0.223
CXCL10	활성화	4.0615	0.0183	0.174	3.84	0.0314	0.1453
CXCL11	활성화	6.3825	0.0032	0.0623	2.1745	0.2167	0.4494
CXCL12	활성화	4.1992	0.0099	0.1191	3.9497	0.0188	0.1263
CXCL16	활성화	11.7476	0.000012898	0.0041	2.7724	0.052	0.1919
CXCL2	활성화	17.8737	0.000065478	0.0076	2.0435	0.2897	0.5414
CXCL3	활성화	2.5623	0.0157	0.1584	-1.1159	0.7808	1
CXCL9	활성화	10.5652	0.002	0.0475	6.7433	0.0152	0.1139
CYBB	활성화	10.2429	0.0001	0.0102	2.4115	0.1288	0.3246

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
CYLD	활성화	2.1952	0.0005	0.0217	1.0366	0.8685	1
CYSLTR2	활성화	4.6876	0.0015	0.0389	-1.3886	0.4896	0.7624
DAPK1	활성화	2.9566	0.0202	0.1837	2.3734	0.0752	0.2341
DAXX	활성화	2.5923	0.0255	0.2101	2.7152	0.0271	0.1349
DDIT3	활성화	2.2027	0.0286	0.2233	2.4229	0.0212	0.1263
DDX58	활성화	2.2084	0.0054	0.084	1.2566	0.422	0.6908
DP4	활성화	4.4101	0.047	0.3002	2.2805	0.2869	0.5383
DTX3L	활성화	3.4716	0.000027857	0.0053	1.6387	0.0759	0.2356
EBI3	활성화	5.2118	0.0003	0.0153	2.8451	0.0203	0.1263
ECE1	활성화	3.9089	0.0033	0.0624	1.8673	0.1782	0.3996
EGLN3	활성화	2.9572	0.0465	0.2989	1.0391	0.9453	1
EGR2	활성화	2.4479	0.0155	0.157	2.5764	0.0158	0.1159
ERAP1	활성화	2.5669	0.0033	0.0634	2.2811	0.0134	0.1068
FAM26F	활성화	14.7052	0.0008	0.0279	26.6887	0.0002	0.0227

[0964]

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
FAS	활성화	7.0896	0.0003	0.0169	4.7216	0.0052	0.0695
FCER1G	활성화	6.7045	0.0007	0.0254	4.8631	0.0059	0.0728
FGF2	활성화	2.9272	0.0257	0.2106	1.8257	0.2249	0.4606
FGL2	활성화	12.456	9.3027E-06	0.0038	4.9116	0.0036	0.0599
FPR2	활성화	26.1833	0.000096227	0.0091	4.1758	0.0744	0.2328
FTH1	활성화	1.6855	0.0413	0.2791	2.2166	0.0045	0.0657
GBP2	활성화	7.2783	0.0007	0.0248	6.7229	0.0017	0.0437
GBP3	활성화	6.2795	0.0006	0.0222	3.0356	0.0358	0.156
GBP4	활성화	18.7632	0.0002	0.0139	6.7981	0.0154	0.1146
GBP5	활성화	18.254	0.0003	0.0157	7.5534	0.0118	0.1
GBP6	활성화	6.4537	0.0004	0.0187	8.0969	0.0002	0.0266
GBP7	활성화	4.3285	0.0017	0.0427	2.3295	0.0713	0.2296
GCH1	활성화	3.9933	0.0057	0.0867	-2.2318	0.1144	0.3009
GNA13	활성화	1.843	0.0129	0.1403	1.2404	0.3874	0.6539

[0965]

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
GSDMD	활성화	5.5069	0.000067203	0.0076	4.0075	0.0013	0.0403
GZMB	활성화	10.9342	0.001	0.0323	11.0118	0.0018	0.0442
H2-M3	활성화	6.3613	0.0003	0.0169	-1.2831	0.6129	0.8754
H2-Q7	활성화	13.035	0.00007123	0.0078	13.2107	0.0001	0.0209
H2-T23	활성화	9.9835	0.0035	0.0651	1.093	0.9091	1
HICAR2	활성화	5.1405	0.0007	0.0254	3.0731	0.0206	0.1263
HCK	활성화	7.0952	0.000025322	0.0053	4.1767	0.0019	0.0455
HIF1A	활성화	1.661	0.0261	0.2122	1.117	0.6345	0.8942
HMOX1	활성화	2.9191	0.0049	0.0797	2.2892	0.0345	0.1532
ICAM1	활성화	5.8185	0.0005	0.0217	4.9939	0.0023	0.0487
ICOSL	활성화	1.9545	0.0086	0.1107	1.8592	0.0203	0.1263
IDO1	활성화	2.1676	0.007	0.097	1.5151	0.1535	0.3644
IDO2	활성화	2.1198	0.0058	0.088	1.1685	0.5669	0.8345
IFI44	활성화	10.2739	0.0001	0.0093	5.8893	0.0032	0.057

[0966]

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
IFIH1	활성화	3.3922	0.0001	0.0093	1.8886	0.0369	0.1588
IFIT1	활성화	4.7651	0.00038724	0.0062	2.3488	0.0191	0.1263
IFIT2	활성화	2.6547	0.0381	0.266	1.6098	0.3269	0.5865
IFIT3	활성화	6.6433	0.0003	0.0153	2.3076	0.0981	0.2746
IFITM1	활성화	13.8818	0.0017	0.0427	4.0409	0.096	0.2703
IFITM3	활성화	5.3416	0.00049885	0.0069	4.6318	0.0003	0.0278
IFNG	활성화	15.8295	0.00030559	0.0055	5.3984	0.0086	0.0862
IFNGR1	활성화	4.6529	0.0003	0.0169	1.1624	0.713	0.9579
IKBKE	활성화	3.6191	0.00070796	0.0078	2.1509	0.0151	0.1135
IL10RA	활성화	6.6362	0.0006	0.0225	2.2744	0.1259	0.3198
IL12B	활성화	1.5869	0.0237	0.2019	1.3356	0.1698	0.3882
IL12RB1	활성화	3.6563	0.0032	0.0623	2.7374	0.0261	0.1323
IL12RB2	활성화	10.8737	0.0001	0.0105	2.7693	0.0898	0.2596
IL15RA	활성화	5.6222	0.0002	0.0124	3.263	0.01	0.0929

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
IL18BP	활성화	13.3799	0.00016505	0.0045	2.6518	0.0808	0.2445
IL18R1	활성화	10.5794	0.0004	0.0172	4.1773	0.0288	0.1387
IL18RAP	활성화	12.8979	1.6368E-06	0.0016	3.9032	0.0058	0.0721
IL1A	활성화	5.0611	0.0002	0.014	2.016	0.1006	0.2792
IL1B	활성화	7.1785	0.0017	0.0427	2.9628	0.0846	0.2505
IL1RL1	활성화	3.2501	0.0421	0.2825	2.7191	0.0999	0.2778
IL1RN	활성화	11.4696	0.00016637	0.0045	3.5493	0.0183	0.1256
IL27	활성화	5.0377	0.0003	0.0145	2.9655	0.0136	0.1077
IL2RA	활성화	12.629	0.00036735	0.0059	9.0232	0.0004	0.03
IL3RA	활성화	2.0071	0.0463	0.2977	-2.3554	0.0222	0.1263
INHBA	활성화	7.0079	0.0006	0.0238	8.1176	0.0005	0.0316
IRF1	활성화	4.8896	0.0002	0.0136	4.2429	0.0011	0.0383
IRF2	활성화	3.0856	0.0001	0.0102	2.3475	0.0038	0.0609
IRF4	활성화	3.6001	0.0009	0.0303	2.7396	0.0107	0.0955

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
IRF5	활성화	6.3959	0.0039	0.0697	6.2724	0.0066	0.0767
IRF7	활성화	4.6951	0.0016	0.0408	2.6708	0.0468	0.1806
IRGM1	활성화	3.5604	0.0205	0.1855	3.8887	0.0196	0.1263
ISG15	활성화	6.1635	0.0003	0.0158	2.64	0.0488	0.1845
ISG20	활성화	3.3567	0.0012	0.0349	3.9719	0.0006	0.0322
ITGA4	활성화	2.0304	0.0397	0.272	2.0083	0.055	0.1984
ITGAL	활성화	16.3545	0.00032377	0.0056	6.1759	0.0055	0.0707
ITGAM	활성화	8.5704	0.0093	0.1151	3.5033	0.1371	0.3385
ITGAX	활성화	3.9189	0.0101	0.1202	2.0482	0.185	0.4084
ITGB2	활성화	7.7479	0.0002	0.0124	6.9547	0.0006	0.0332
JAK2	활성화	1.6647	0.0461	0.2976	1.3678	0.2378	0.4779
JUN	활성화	1.7589	0.0035	0.0649	-1.1739	0.4037	0.6708
KLF4	활성화	1.907	0.0409	0.2778	1.156	0.6546	0.9116
KLF6	활성화	2.4625	0.0037	0.0672	2.1351	0.0182	0.125

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
KYNU	활성화	3.8871	0.008	0.1057	4.8859	0.0039	0.061
LAG3	활성화	7.4221	0.0002	0.0114	2.156	0.1298	0.3262
LAT2	활성화	2.6441	0.028	0.2208	1.5322	0.3475	0.6094
LCN2	활성화	4.3524	0.0296	0.2275	16.3586	0.0003	0.0276
LCP2	활성화	8.4235	0.0004	0.0193	4.07	0.0205	0.1263
LGALS9	활성화	1.6825	0.0051	0.0817	1.6728	0.0085	0.086
LST1	활성화	7.6841	0.02	0.1832	1.6707	0.5648	0.8328
LTA	활성화	2.7386	0.0055	0.0851	2.4968	0.0157	0.1157
LTB	활성화	8.1723	0.0014	0.0379	2.3655	0.1846	0.4079
LY6E	활성화	5.1119	0.0028	0.0572	2.8148	0.061	0.2104
LY96	활성화	2.4218	0.0302	0.2305	1.5311	0.3103	0.5661
LYN	활성화	5.1219	0.001	0.0325	1.6841	0.2851	0.536
MAP3K8	활성화	7.131	0.0009	0.0302	1.0205	0.9717	1
MEFV	활성화	10.8378	0.000019758	0.0047	2.3756	0.0951	0.2688

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
MMP12	활성화	6.4662	0.0035	0.0647	5.0068	0.015	0.1131
MX1	활성화	6.1489	0.0128	0.1395	2.6469	0.1916	0.4171
MX2	활성화	3.9804	0.0005	0.0205	1.8666	0.1068	0.2889
NAMPT	활성화	2.341	0.0066	0.0943	-1.4194	0.2673	0.514
NAPSA	활성화	4.3452	0.0003	0.0149	4.7434	0.0003	0.0272
NEURL3	활성화	5.943	0.0009	0.0291	1.9354	0.2066	0.4363
NFKB1	활성화	1.8089	0.0051	0.0815	1.0738	0.7351	0.9751
NFKBIA	활성화	4.9409	0.000013016	0.0041	2.4668	0.0097	0.0912
NFKBIZ	활성화	2.328	0.0073	0.0995	2.0257	0.0308	0.1436
NGF	활성화	3.1687	0.0065	0.0933	3.4968	0.0055	0.0706
NLRCS	활성화	3.4173	0.0109	0.1261	2.2706	0.0985	0.2752
NLRP3	활성화	5.11	0.0007	0.0254	3.4525	0.0111	0.0975
NMI	활성화	2.0435	0.0228	0.1979	1.6117	0.1416	0.3459
NOD2	활성화	3.5157	0.000018135	0.0045	2.5449	0.0013	0.0396

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
NOS2	활성화	26.5216	2.2445E-06	0.0017	24.8128	7.9556E-06	0.0117
NOTCH1	활성화	2.2952	0.0301	0.2303	1.4949	0.3078	0.5625
NR1D1	활성화	1.7995	0.0049	0.0799	1.8784	0.0045	0.065
NR1P1	활성화	2.8421	0.001	0.0318	1.7353	0.0807	0.2444
OAS2	활성화	3.8997	0.0003	0.0154	2.3682	0.0204	0.1263
OAS3	활성화	14.5317	7.7153E-06	0.0034	4.0924	0.0123	0.1019
P2RY14	활성화	16.6314	0.0005	0.0204	4.8513	0.0471	0.1812
P2RY6	활성화	5.352	0.0001	0.0103	2.2094	0.0606	0.2093
PARP9	활성화	3.1267	0.0179	0.1716	-1.1573	0.7644	0.9977
PARVG	활성화	6.3047	0.0025	0.0539	1.2154	0.7444	0.9822
PDCD1L	활성화	11.6201	2.1928E-06	0.0017	3.9612	0.0045	0.065
PF4	활성화	6.7372	0.0284	0.2226	-2.2437	0.3655	0.6285
PIM1	활성화	4.0708	0.0003	0.0169	2.0732	0.0575	0.2034
PLA2G1 6	활성화	4.8619	0.001	0.0309	1.3802	0.4886	0.7613

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
PLAU	활성화	3.8214	0.00003401	0.0058	2.1662	0.0131	0.1056
PLEK	활성화	5.9274	0.0049	0.0805	2.9561	0.0921	0.2632
PMAIP1	활성화	3.4224	0.0002	0.0134	2.6199	0.0041	0.0627
PRDM1	활성화	3.5702	0.0297	0.2283	4.0395	0.0251	0.13
PRKCD	활성화	4.5574	2.2524E-07	0.001	2.0325	0.0066	0.0768
PRKCQ	활성화	2.1379	0.0065	0.0932	2.1615	0.0089	0.087
PSMB10	활성화	3.6197	0.005	0.0807	1.4724	0.3976	0.6643
PSMB8	활성화	3.9093	0.0032	0.0615	2.652	0.0388	0.1637
PSMB9	활성화	7.4132	0.0005	0.0197	4.5308	0.009	0.0877
PSME1	활성화	6.1609	0.0001	0.0096	3.9584	0.0037	0.06
PTAFR	활성화	8.5218	0.000052564	0.0069	2.2614	0.1024	0.2821
PTGES	활성화	3.3225	0.0241	0.2039	1.61	0.3819	0.6479
PTGS2	활성화	10.9036	0.0075	0.1017	3.9538	0.1309	0.3282
PTX3	활성화	5.271	0.0253	0.2091	1.8833	0.4052	0.672

[0973]

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
RAB20	활성화	2.29	0.0257	0.2106	1.1261	0.7537	0.9893
RAC2	활성화	7.9519	0.000098427	0.0091	3.7008	0.0123	0.1021
RIPK1	활성화	1.6822	0.0456	0.2959	-1.1344	0.6373	0.8964
RSAD2	활성화	3.916	0.0003	0.0152	1.6141	0.184	0.407
RTP4	활성화	4.8033	0.0025	0.0537	2.5839	0.0696	0.2269
RUNX2	활성화	5.3191	0.0001	0.0095	2.2697	0.0491	0.185
RUNX3	활성화	5.5652	0.0012	0.0354	5.5875	0.002	0.0467
SI00A10	활성화	2.1419	0.001	0.0318	-1.0647	0.7799	1
SI00A8	활성화	10.9785	0.0065	0.0931	11.8118	0.0079	0.0832
SI00A9	활성화	5.1245	0.0058	0.0879	4.0622	0.0228	0.1263
SI1PR3	활성화	2.8084	0.0426	0.2844	4.3054	0.0083	0.0851
SAMHD1	활성화	6.8165	0.000028539	0.0053	5.2676	0.0004	0.0289
SELL	활성화	9.0266	0.000036704	0.0059	2.6848	0.0503	0.1879
SEMA4A	활성화	4.5461	0.0002	0.0134	7.1376	0.000014188	0.0118

[0974]

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
SEPT3	활성화	1.9813	0.0021	0.0484	1.2827	0.2581	0.5036
SERPINB9	활성화	3.6968	0.0068	0.0955	1.3544	0.5306	0.8014
SERPINE1	활성화	2.7348	0.0131	0.142	1.0382	0.9268	1
SERPING1	활성화	8.5956	0.0003	0.0154	5.6206	0.0042	0.063
SHARPIN	활성화	1.8222	0.0003	0.0169	-1.1856	0.2897	0.5414
SLAMF1	활성화	4.2282	0.000066073	0.0076	1.8422	0.0753	0.2344
SLC11A1	활성화	8.1631	0.0002	0.0114	6.6594	0.0009	0.0364
SLC15A3	활성화	13.0122	0.0001	0.0093	4.2688	0.0238	0.1278
SLC16A9	활성화	2.2466	0.0273	0.2172	1.6072	0.21	0.4406
SLC28A2	활성화	6.903	0.0001	0.0096	1.4304	0.4466	0.7176
SLFN5	활성화	3.7058	0.0022	0.0493	2.1361	0.0772	0.2383
SMAD7	활성화	3.1247	0.0209	0.187	-1.1526	0.7767	1
SODS1	활성화	3.9437	0.011	0.1267	3.3365	0.0325	0.1481
SOD2	활성화	2.6759	0.0047	0.0774	3.1489	0.0021	0.0475

[0975]

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
SOD3	활성화	2.1257	0.0158	0.1591	1.4255	0.2663	0.5128
SP100	활성화	4.8282	7.0055E-06	0.0032	2.8699	0.0019	0.0452
SP110	활성화	3.7976	0.0057	0.0867	1.1957	0.71	0.9556
SPI1	활성화	10.5793	0.000055966	0.0071	6.5856	0.0014	0.0409
SPP1	활성화	2.5268	0.0212	0.1893	2.4021	0.0384	0.1624
STAT1	활성화	4.2736	0.0089	0.1122	3.9844	0.0176	0.1229
STAT2	활성화	5.4847	0.000013182	0.0041	3.019	0.0035	0.0589
STAT4	활성화	6.3819	0.0038	0.069	1.1576	0.8175	1
STAT6	활성화	1.7399	0.0097	0.1171	1.7712	0.0116	0.0993
STX11	활성화	3.6303	0.0058	0.088	1.7593	0.2306	0.4679
TAP1	활성화	4.588	0.001	0.0323	2.7092	0.0329	0.1493
TAP2	활성화	2.8268	0.0148	0.1526	1.5315	0.3257	0.585
TAPBP	활성화	2.5416	0.0274	0.2176	1.7971	0.1801	0.4019
TAPBPL	활성화	3.0796	0.0031	0.0609	2.4014	0.0251	0.13

[0976]

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
TBX21	활성화	3.8788	0.0008	0.0273	4.1566	0.0008	0.0354
TCIRG1	활성화	2.7899	0.0005	0.0217	1.2508	0.4321	0.7008
TGFBR2	활성화	1.9044	0.031	0.2346	1.2596	0.451	0.7222
THBS1	활성화	2.8135	0.005	0.0807	2.9522	0.0055	0.0707
THEMIS2	활성화	9.3368	0.0011	0.0339	6.5099	0.0079	0.0832
THY1	활성화	5.5745	0.0036	0.0666	3.0999	0.0597	0.2073
TLR1	활성화	3.9534	0.0044	0.0751	4.9709	0.002	0.0463
TLR2	활성화	4.2854	0.0004	0.0173	1.0613	0.8785	1
TLR7	활성화	3.6076	0.0317	0.2384	1.1789	0.7874	1
TLR8	활성화	7.9426	0.0012	0.0349	1.5453	0.4846	0.7574
TLR9	활성화	7.0125	0.0004	0.0182	5.5003	0.0026	0.052
TMEM50B	활성화	2.2646	0.0029	0.0584	1.6005	0.089	0.2584
TNF	활성화	15.5761	0.000001549	0.0016	3.6025	0.014	0.1094
TNFAIP2	활성화	4.2629	0.0043	0.0737	1.3184	0.5837	0.8504

[0977]

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IgG1 vs Luc mRNA/IgG1.FDR_BH
TNFRSF11A	활성화	3.7342	0.0089	0.1124	3.2927	0.0236	0.1273
TNFRSF14	활성화	3.3507	0.0151	0.1547	2.0443	0.1615	0.3761
TNFRSF1B	활성화	6.9767	0.0004	0.0187	3.0014	0.0433	0.1723
TNFSF10	활성화	5.9466	0.0008	0.0286	2.8254	0.0505	0.1883
TNFSF12	활성화	4.0396	0.0003	0.0145	3.0636	0.0039	0.061
TNFSF13	활성화	3.7405	0.0229	0.1979	-1.7547	0.3434	0.6048
TNFSF13B	활성화	4.2939	0.00009167	0.0089	1.0175	0.96	1
TRAFD1	활성화	7.5123	0.000066493	0.0076	1.4364	0.4415	0.7113
TRIM21	활성화	3.1067	0.0069	0.096	-1.1129	0.7984	1
TXK	활성화	3.1599	0.0017	0.0418	1.8261	0.0992	0.2766
UBD	활성화	39.4489	3.1101E-06	0.0021	20.5238	0.0001	0.0203
UBE2L6	활성화	3.418	0.002	0.0464	4.4962	0.0005	0.031
USP18	활성화	5.4886	0.0004	0.0192	1.697	0.258	0.5036
VCAM1	활성화	7.3103	0.0003	0.0163	1.2409	0.6812	0.9337

[0978]

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IGG1 vs Luc mRNA/IGG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IGG1 vs Luc mRNA/IGG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IGG1 vs Luc mRNA/IGG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IGG1 vs Luc mRNA/IGG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IGG1 vs Luc mRNA/IGG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IGG1 vs Luc mRNA/IGG1.FDR_BH
WARS	활성화	1.5033	0.0098	0.1179	1.8802	0.0003	0.0284
ZFP36	활성화	3.0067	0.0051	0.0815	-1.1887	0.0585	0.9153
AHCY	억제	-2.0639	0.0374	0.2628	-1.8643	0.0878	0.2566
ADP1	억제	-2.6893	0.0012	0.0354	-2.9843	0.0008	0.0346
AZGP1	억제	-3.6306	0.0039	0.0701	-3.72	0.0054	0.0705
CSE1L	억제	-1.9528	0.0448	0.2931	-4.9001	0.000053442	0.0177
DHX9	억제	-1.9049	0.0192	0.1787	-1.3891	0.2439	0.4863
EMID1	억제	-2.5566	0.047	0.3003	-1.9661	0.1701	0.3887
FKBP6	억제	-4.1867	0.0043	0.0733	-2.2618	0.1075	0.2898
FLT4	억제	-1.7478	0.0248	0.2076	-1.6367	0.0588	0.2058
GMP8	억제	-2.9853	0.027	0.2154	-5.877	0.0017	0.0432
GNAO1	억제	-2.2497	0.0179	0.1721	-1.0647	0.8565	1
HSP90AB1	억제	-1.9951	0.007	0.0974	-1.1404	0.6083	0.8715
ID1	억제	-2.9218	0.004	0.0713	-2.402	0.023	0.1263
IGFBP4	억제	-3.3872	0.0211	0.1885	-3.0044	0.0473	0.1815
MI6	억제	-3.5707	0.0052	0.0828	-1.1189	0.5425	0.8124
MSH2	억제	-1.909	0.0328	0.2435	-1.7932	0.0664	0.2198
MYC	억제	-1.8764	0.0225	0.1962	-1.5059	0.1507	0.36
P8K	억제	-4.8198	0.0008	0.0287	-10.4275	0.000012076	0.0117
PCDH17	억제	-2.2868	0.0029	0.0588	-1.1447	0.6223	0.8835
PLCG1	억제	-1.6389	0.0439	0.2895	1.263	0.3564	0.6189
PQLR2F	억제	-1.7137	0.0139	0.1473	-2.1058	0.0019	0.0456
PONP	억제	-1.5182	0.047	0.3002	-1.3884	0.1354	0.336
PRPF8	억제	-2.0788	0.0159	0.1593	-2.1997	0.0179	0.1239
PTGES2	억제	-1.9137	0.0278	0.2201	-1.0746	0.811	1

유전자	IFNG_조절	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IGG1 vs Luc mRNA/IGG1.배수 변화	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IGG1 vs Luc mRNA/IGG1.미가공 P 값	처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IGG1 vs Luc mRNA/IGG1.FDR_BH	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IGG1 vs Luc mRNA/IGG1.배수 변화	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IGG1 vs Luc mRNA/IGG1.미가공 P 값	미처리_ 사이토카인 mRNA 혼합물/IGG1 vs Luc mRNA/IGG1.FDR_BH
RAD18	억제	-2.1129	0.0032	0.0615	-1.7251	0.0354	0.1551
SF3A1	억제	-1.598	0.0042	0.0729	-1.2281	0.2111	0.4418
SLC12A2	억제	-2.8366	0.0039	0.0697	-3.5987	0.0011	0.0373
SMTN	억제	-1.8432	0.0398	0.2725	-1.2994	0.3927	0.6593
SOLE	억제	-4.0941	0.0396	0.2717	-4.8892	0.0296	0.1404
SREBF2	억제	-2.3929	0.0032	0.0615	-3.5164	0.0001	0.0209
SSBP1	억제	-1.5752	0.0094	0.1156	1.0074	0.9665	1
TNFR15	억제	-1.6002	0.044	0.2897	1.4394	0.1352	0.3357
TYMP	억제	-2.6432	0.0448	0.2928	1.469	0.4412	0.7111
UNC5B	억제	-2.3093	0.0267	0.2143	-1.5396	0.2666	0.5132

실시예 13 - 사이토카인 mRNA는 처리 및 미처리 종양에서 CD4+ 및 CD8+ T 세포를 증가시킨다

좌측 및 우측 옆구리에 B16F10 종양을 보유한 마우스를 대상으로 80 μ g의 mRNA(20 μ g/표적)의 단일 종양 내 주사를, 종양 중 하나에만, 0.5 x 10⁶개 세포로 시작된 우측 종양에 놓았고(처리), 0.25 x 10⁶개 세포로 시작된 나머지 종양은 미처리 상태로 유지되었다. 종양 내 mRNA 주사 7일 후에, 양쪽 종양을 수집하고, CD4+, CD8+, 및 FoxP3+ 세포에 대한 항체로 IHC(면역형광 현미경) 염색을 위하여 처리하였다. 도 28a 및 도 28b의 종양의 마우스는 사이토카인 mRNA로 처리한 반면, 도 28c 및 도 28d의 종양의 마우스는 대조군 mRNA로 처리하였다. 패널 a 및 c는 mRNA 주사한 종양의 것이고, 패널 b 및 d는 미주사한 상응하는 반대쪽 종양의 것이다. (도 28a 내지 도 28d). 사이토카인 mRNA 처리군 및 대조군 mRNA 처리군에 대하여, RNA를 주사한 5개의 종양 및 미주사한 상응하는 5개의 반대쪽 종양을 대상으로 CD4+, CD8+, FOXP3+ 세포에 대하여 면역형광 염색을 수행하였다. 세포의 상대적 빈도 및 비율을 도 28e, 도 28f, 도 28g에 도표화하였다. 이 결과는 IL-15 스시, GM-CSF, IFN α , 및 IL-12sc(서열번호 59, 53, 41, 및 47)의 사이토카인 mRNA 혼합물이 CD8+ 및 CD4+ T 세포 침윤을 증가시켜, CD8+/Treg 비율을 변경시킴을 보여준다. 면역 침윤의 증가는 처리 및 미처리 종양 둘 다에서 발생하여, 국소적인 종양 내 처리가 전신성 면역 조절 효과를 나타낸다는 통념을 뒷받침하였다.

실시예 14 - mRNA는 종양 및 침윤성 면역세포에서 발현된다

단일 B16F10 종양 보유 마우스에 Thy1.1 단백질을 암호화하는 mRNA로의 단일 종양 내 주사를 놓았다(도 29a 내지 도 29g). 종양 내 주사 대략 18시간 후, 종양을 분리하고, 항체 패널로 염색하고, 유세포 분석법을 수행하여 Thy1.1 단백질을 발현하는 세포를 정의하였다. 이 결과는 종양 및 면역세포 둘 다 mRNA를 흡수하고 발현함을 나타낸다.

실시예 15 - 종양 내 사이토카인 mRNA 주사 후 용량 의존적 종양 발현 및 PD 반응

B16F10 종양 보유 마우스에 80, 8 또는 0.8 μ g의, IL-15 스시, GM-CSF, IFN α , 및 IL-12sc(서열번호 59, 53, 41, 및 47)의 사이토카인 mRNA 혼합물로의 단일 mRNA 주사를 놓았다. 종양 내 주사 대략 6시간 후에, 종양을 제거하고, 용해시키고, IL-15 스시, GM-CSF, IFN α , 및 IL-12sc, IFN γ 및 IP-10의 수준을 종양 용해물에서 정

량화하였다. 도 30a 내지 도 30f는 사이토카인 mRNA가 용량 의존적인 방식으로 종양 내에서 발현되었음을 보여 준다.

[0987] 별도의 실험에서, B16F10 종양 보유 마우스에 80, 8 또는 0.8 μ g의, IL-15 스시, GM-CSF, IFN α , 및 IL-12sc(서열번호 59, 53, 41, 및 47)의 사이토카인 mRNA 혼합물로의 단일 mRNA 주사를 놓았다. 종양 내 사이토카인 mRNA 주사 7일 후에, 종양을 분리하고, 항체 패널로 염색하고, 유세포 분석법으로 분석하였다. 사용된 항체는 뮤린에 대한 것이었다: CD45, CD4, CD3, CD8, CD279, IFN γ , TNF α , FOXP3, 그랜자임 B. 이 결과는 사이토카인 mRNA 혼합물로의 처리가 CD8 $^{+}$ /Treg 비율을 바꾸었고(도 31a 및 도 31b), 종양 미세환경에서 다기능성 CD8 $^{+}$ T 세포의 빈도를 증가시켰으며(도 31c 및 도 31d), 침윤성 골수 세포에 대해 PD-L1을 증가시켰고(도 31e), 침윤성 CD8 $^{+}$ T 세포에 대해 PD-1 수준을 증가시켰음(도 31f)을 나타낸다.

[0988] 추가 실험에서, 좌측 및 우측 옆구리에 B16F10 종양을 보유한 마우스에 IL-15 스시, GM-CSF, IFN α , 및 IL-12sc(서열번호 59, 53, 41, 및 47)의 사이토카인 mRNA 혼합물 또는 대조군 mRNA의 단일 종양 내 주사를 종양 중 한쪽에만 놓았고(처리), 나머지 종양은 미처리 상태로 유지하였다. 종양 내 mRNA 주사 7일 후, 주사된 종양을 수집하고, CD45 $^{+}$, CD8 $^{+}$, CD3 $^{+}$, 및 그랜자임 B에 대한 항체로 유세포 분석 염색을 위하여 처리하였다. 결과는 사이토카인 mRNA 혼합물이 종양에서 종양 내 그랜자임 B CD8 $^{+}$ T 세포의 빈도를 증가시켰음을 나타내었다(도 31g 및 도 31h).

[0989] **실시예 16 - 종양 내 주사된 mRNA는 종양에서 일차적으로 발현된다**

[0990] B16F10 종양 보유 마우스에 반딧불이 루시페라아제를 암호화하는 mRNA 50 μ g의 단일 종양 내 주사를 놓았다. 6 시간 및 24시간의 시점에서 세 마리의 마우스를 희생시키고, 종양, 간, 비장, 종양 배출 림프절(TDLN) 및 비종양 배출 림프절(NDLN)을 대상으로 루시페라아제 발현을 생체 외에서 분석하였다. 도 32a 및 도 32b는 루시페라아제 발현이 종양에서 가장 높았으며, 이때, 발현은 임의의 다른 조직보다 100배 더 컸음을 보여준다.

[0991] **실시예 17 - CD4 $^{+}$, CD8 $^{+}$, 및 NK 세포는 B16F10 모델에서 사이토카인 mRNA의 항종양 활성화에 기여한다**

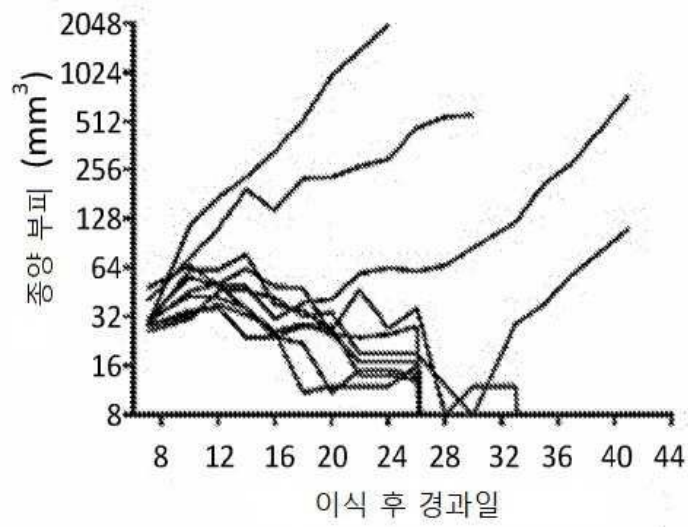
[0992] B16F10 종양 보유 마우스 그룹에 총 4주 동안 주 1회 복강 내 주사에 의해 고갈 항체(항-CD4, 항-CD8, 항-NK1.1) 100 μ g를 처리하였다. 항체 매개 세포 고갈은 IL-15 스시, GM-CSF, IFN α , 및 IL-12sc(서열번호 59, 53, 41, 및 47)의 사이토카인 mRNA 혼합물 80 μ g으로의 처리 하루 전에 시작되었다. 전체 생존에 미치는 항체 고갈의 영향을 모니터링하였다. 도 34에 도시된 결과는 개별적인 고갈 CD8 $^{+}$, CD4 $^{+}$, 또는 NK 세포가 사이토카인 mRNA의 항종양 활성화 및 전체 생존을 다양한 정도로 감소시켰음을 나타낸다.

[0993] **실시예 18 - 사이토카인 mRNA의 항종양 활성화는 IFN 감마 결핍 마우스에서 관찰되지 않는다**

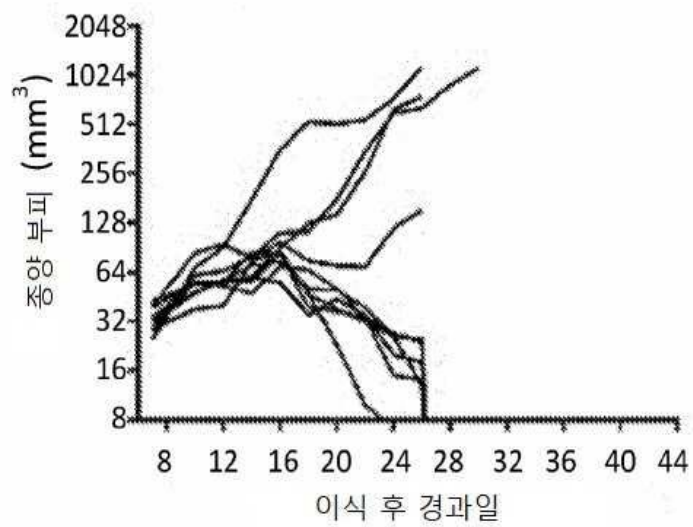
[0994] WT C57BL6J 마우스 및 뮤린 IFN γ 가 결핍된 C57BL6J 마우스(IFN γ KO)에 실시예 1에서 기술된 바와 같이 B16F10 종양 세포를 이식하였다. 마우스를 IL-15 스시, GM-CSF, IFN α , 및 IL-12sc(서열번호 59, 53, 41, 및 47)의 80 μ g(20 μ g/표적) 사이토카인 mRNA 혼합물 또는 80 μ g 대조군 mRNA로 종양 내 주사하여 처리하고, 전체 생존을 모니터링하였다. 도 35에 도시된 결과는 IFN γ 가 결여된 마우스는 사이토카인 mRNA로 처리 시 검출 가능한 항종양 반응을 보이지 않았음을 나타낸다.

도면

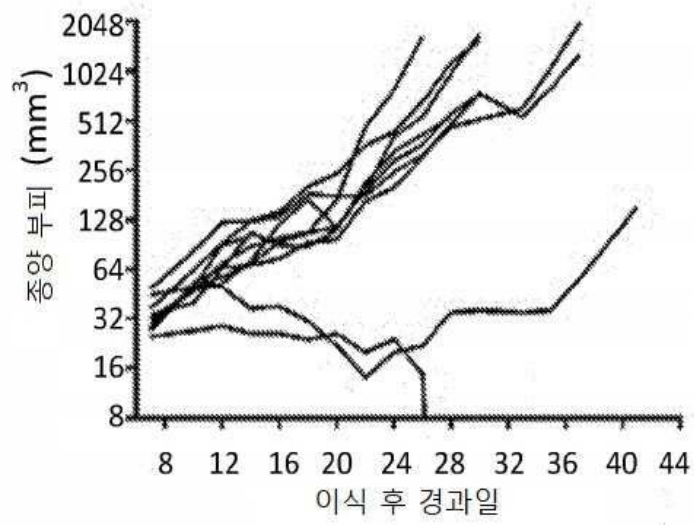
도면1a



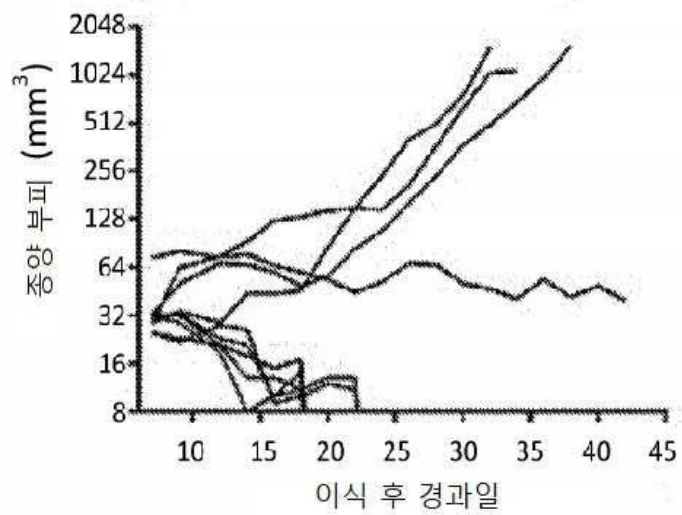
도면1b



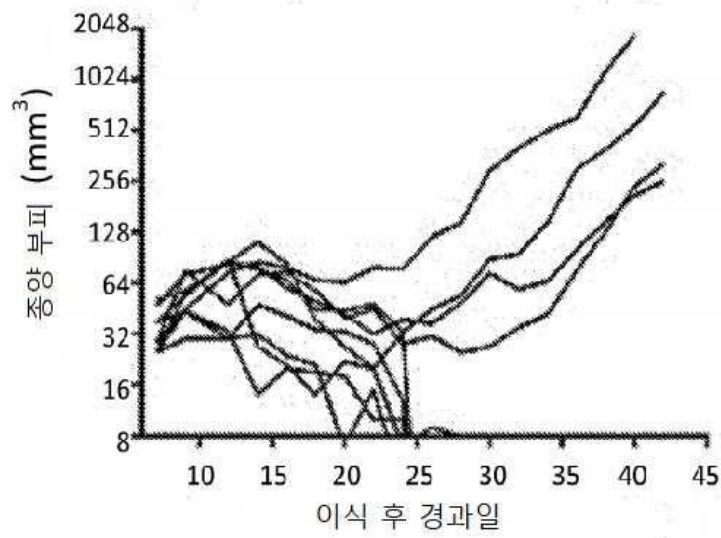
도면1c



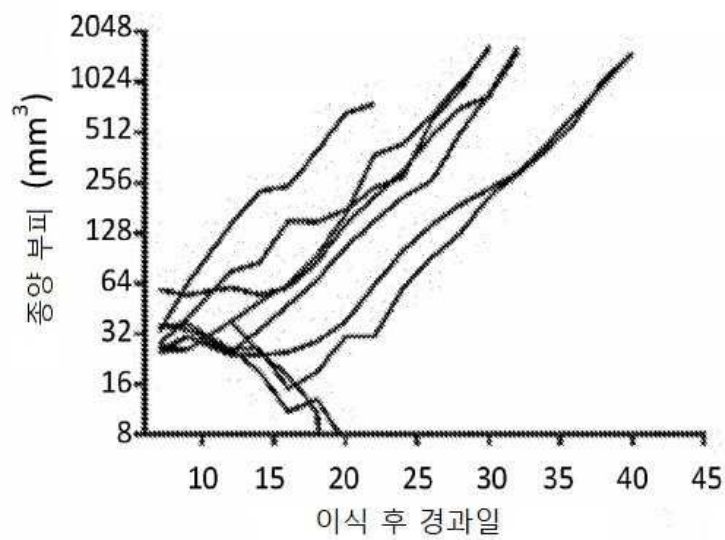
도면1d



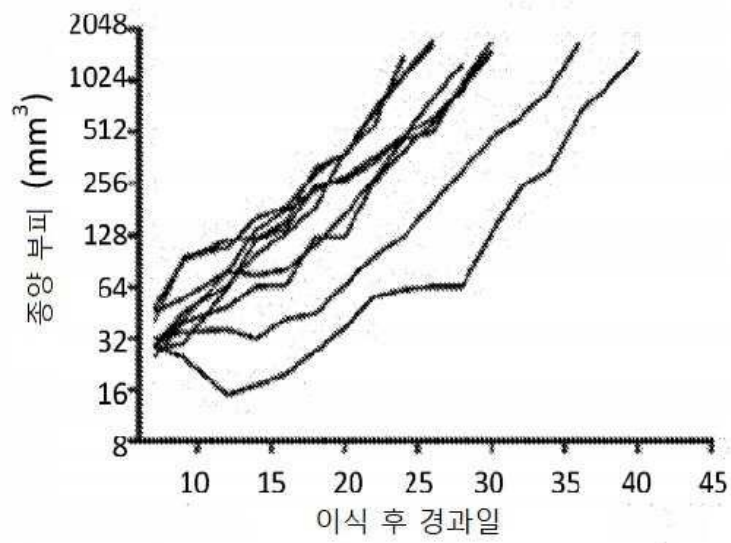
도면1e



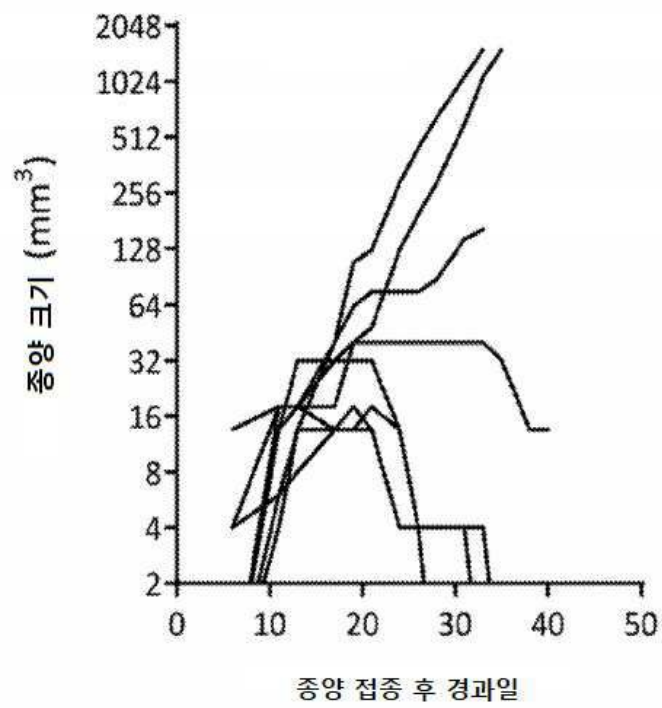
도면1f



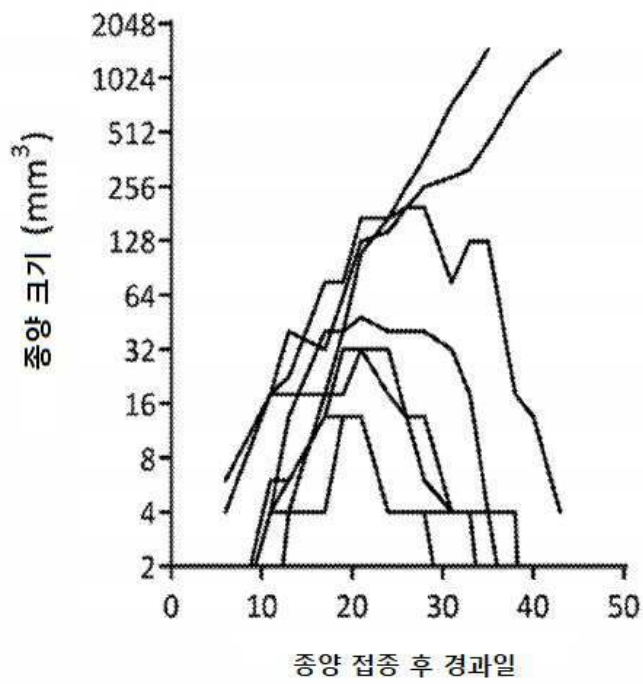
도면1g



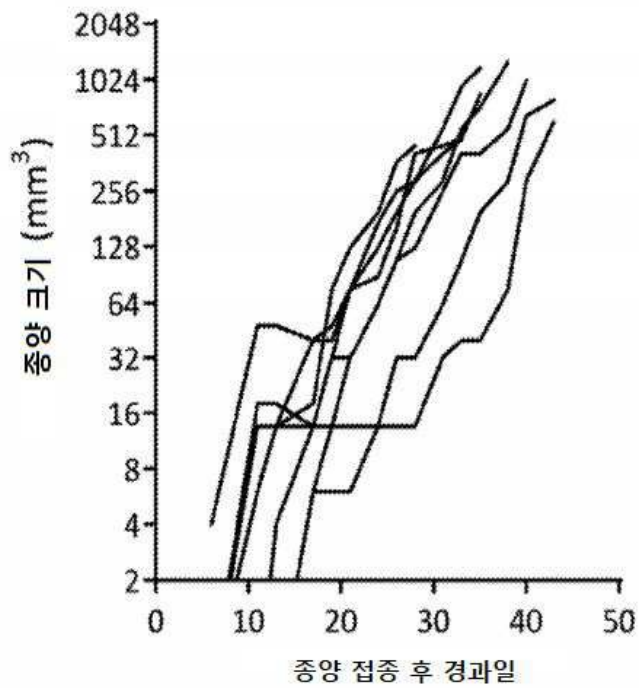
도면2a



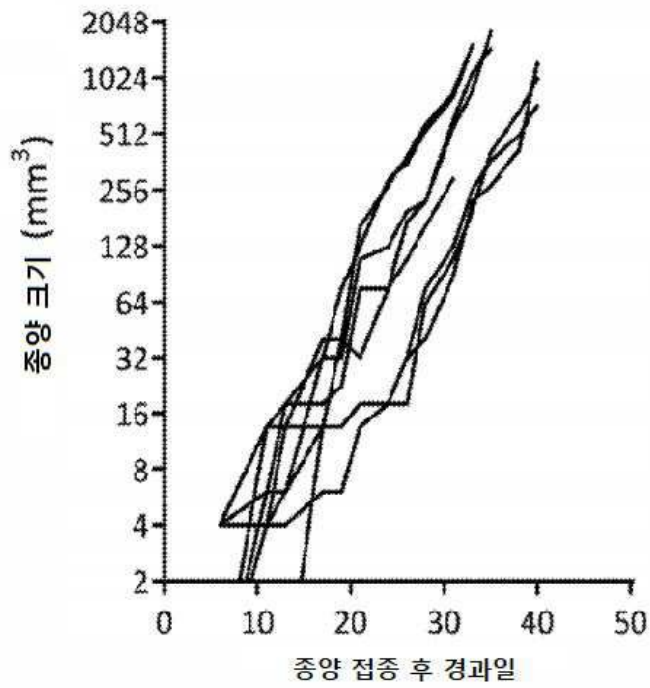
도면2b



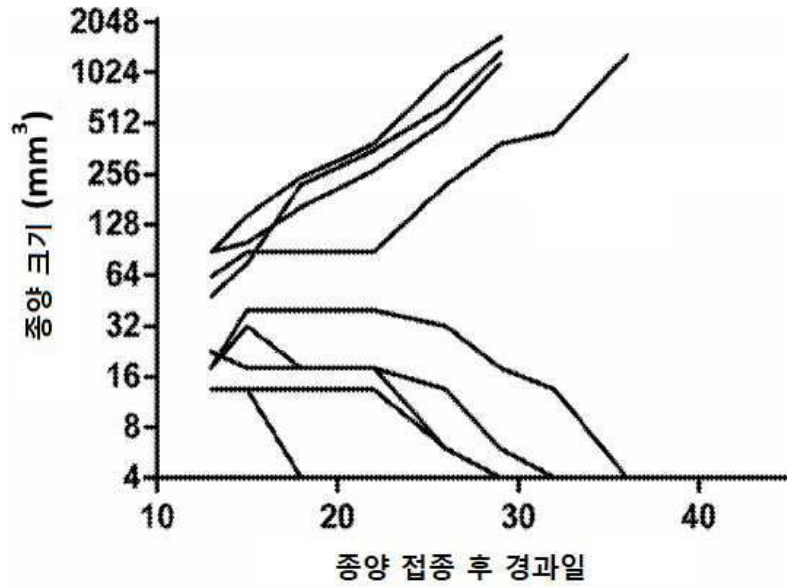
도면2c



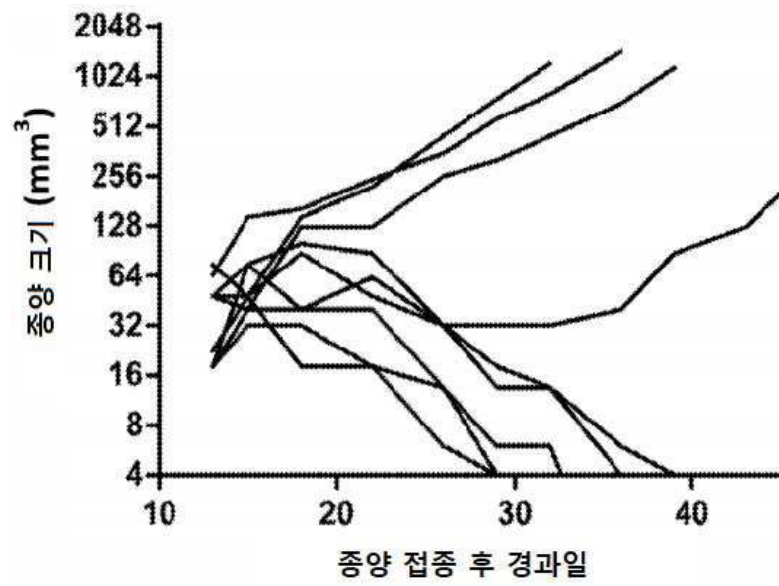
도면2d



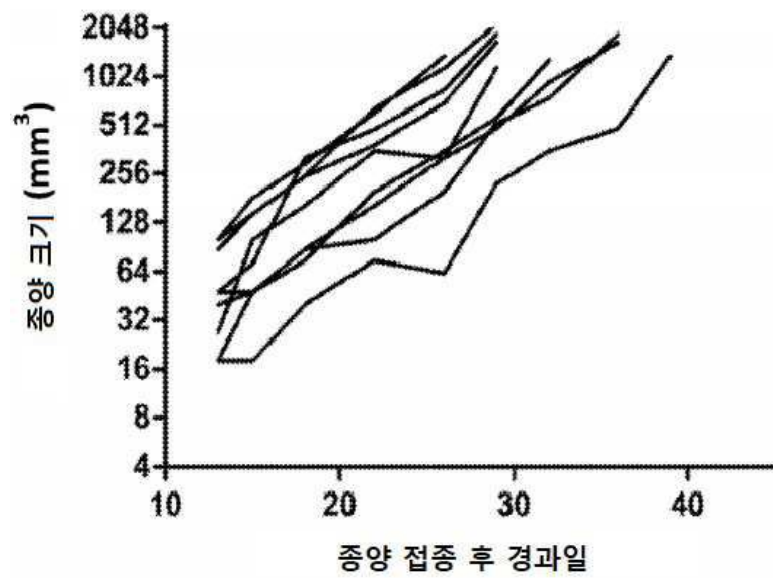
도면3a



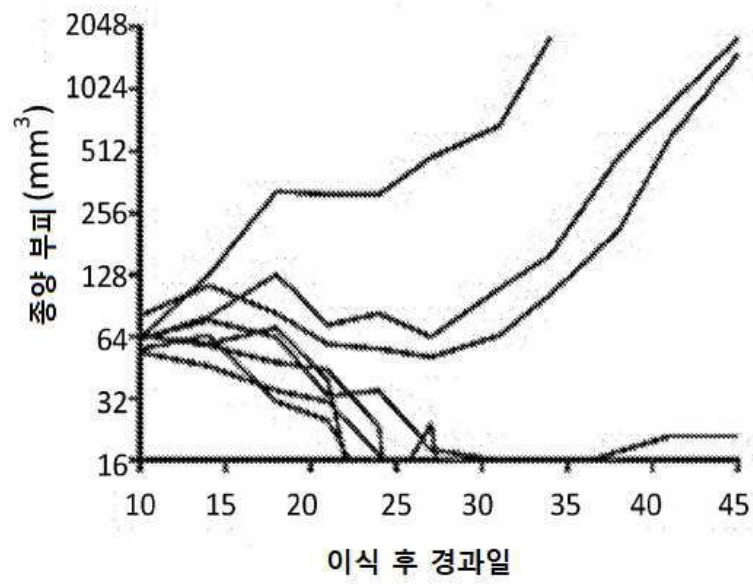
도면3b



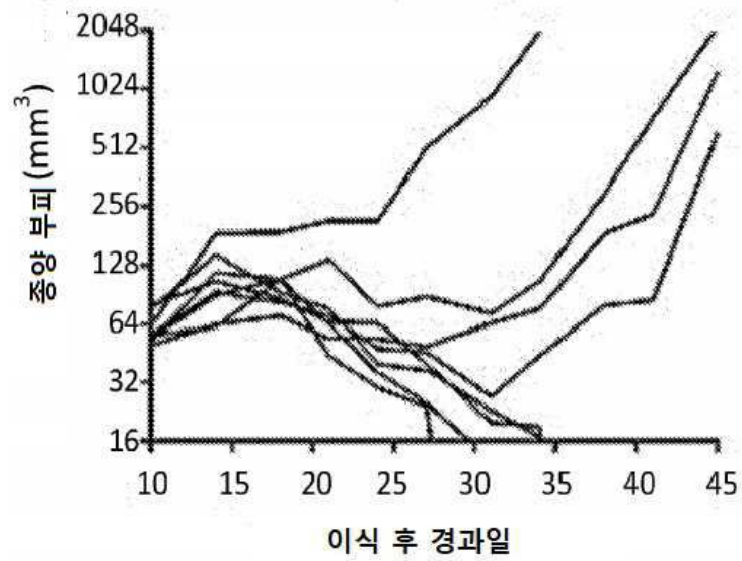
도면3c



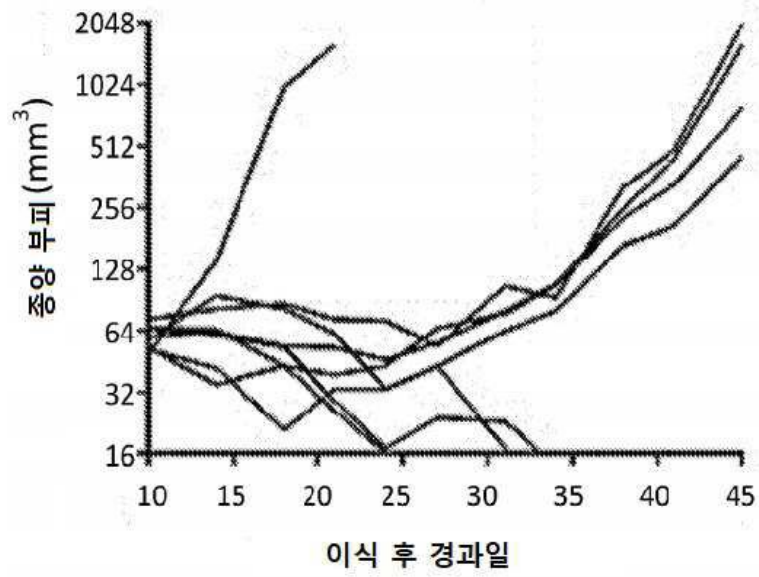
도면4a



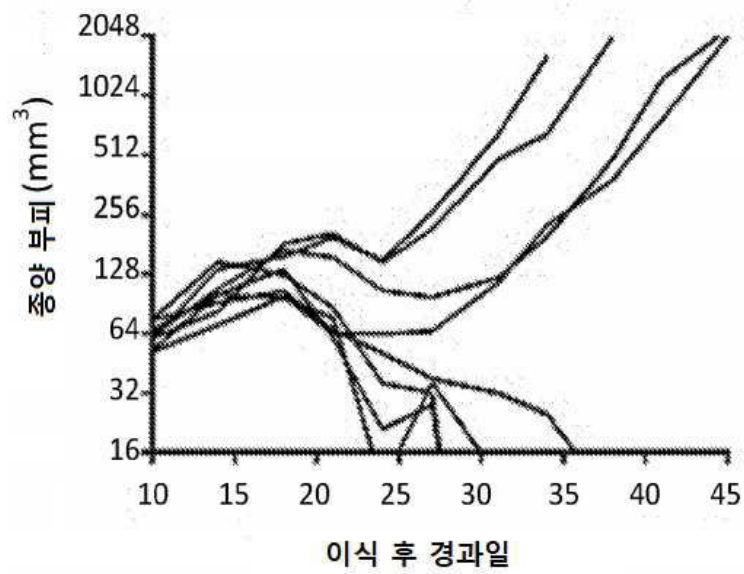
도면4b



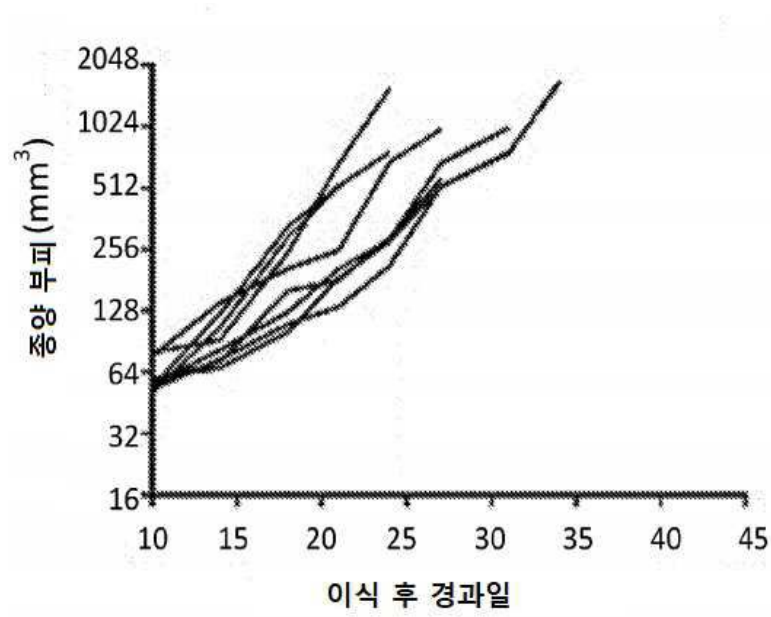
도면4c



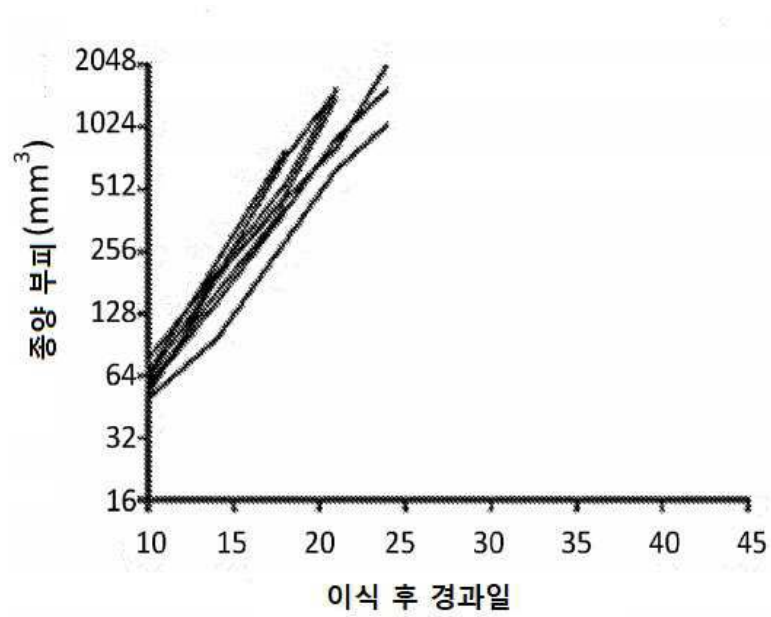
도면4d



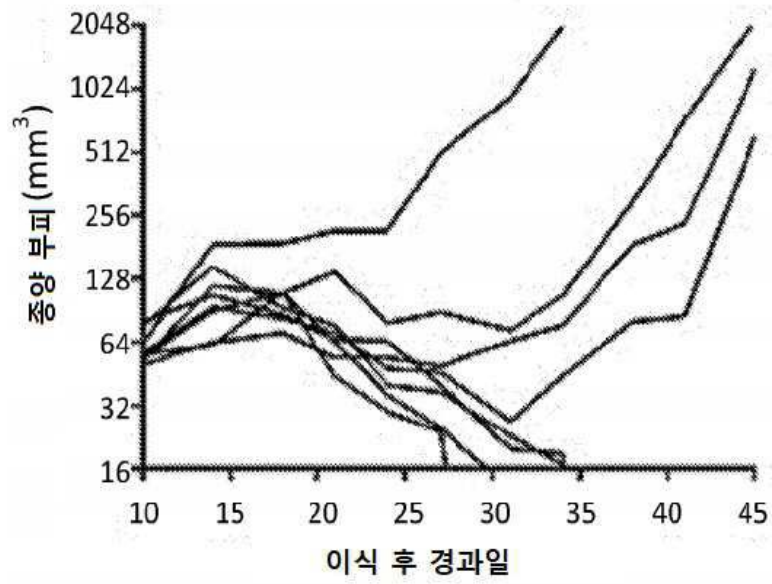
도면4e



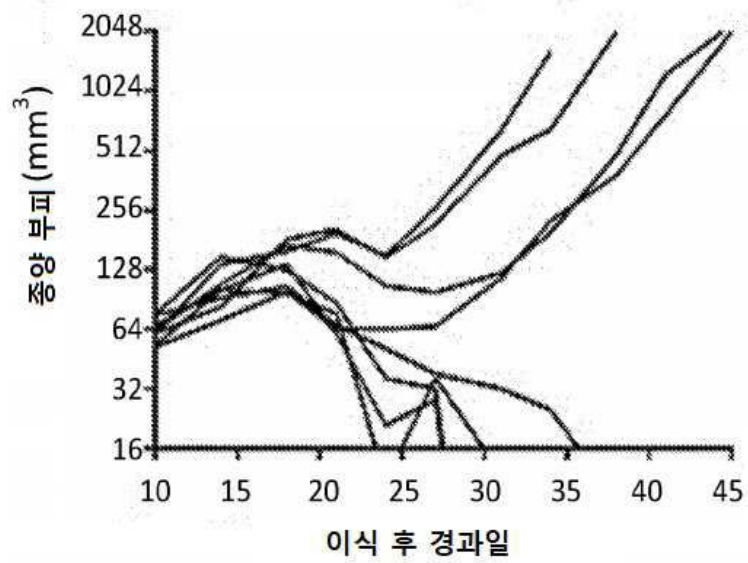
도면4f



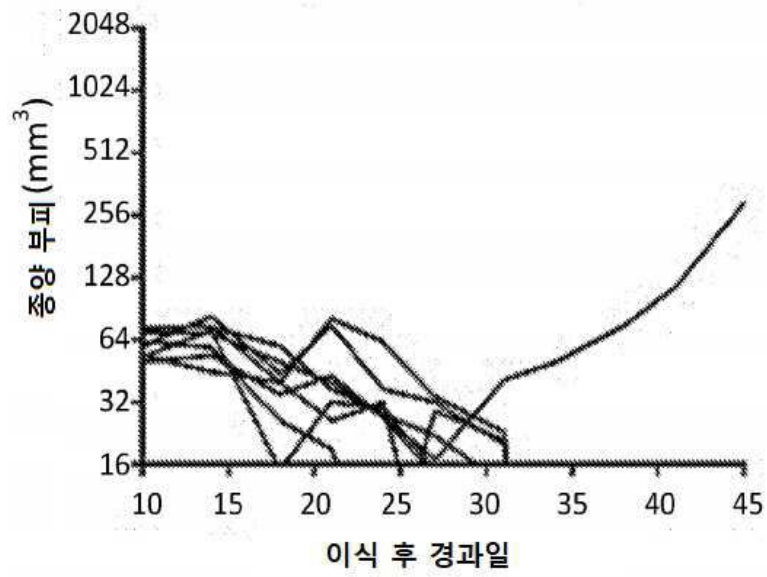
도면5a



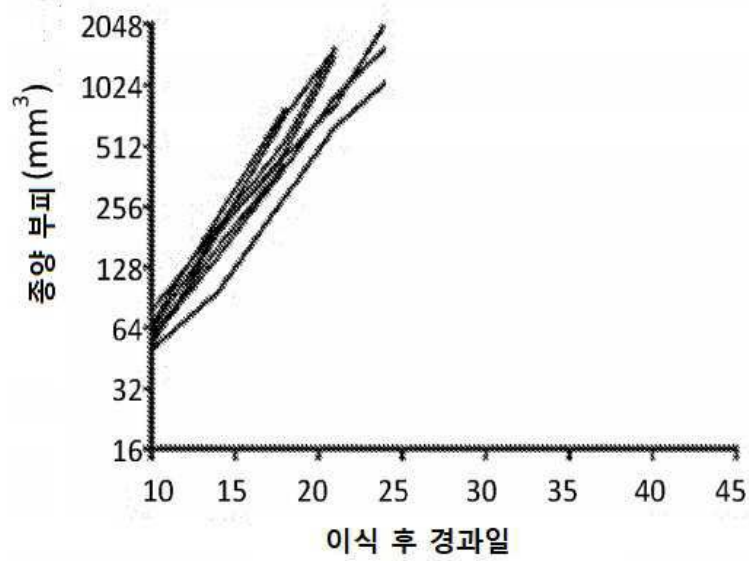
도면5b



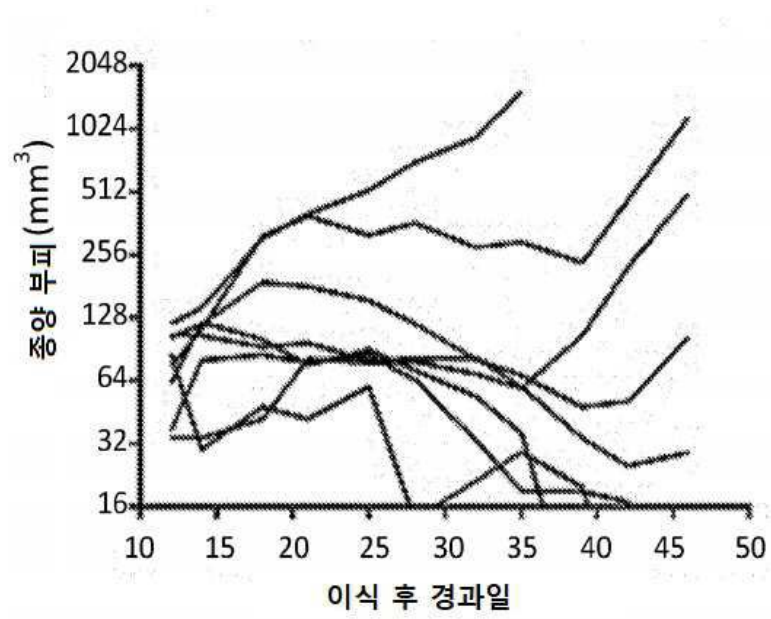
도면5c



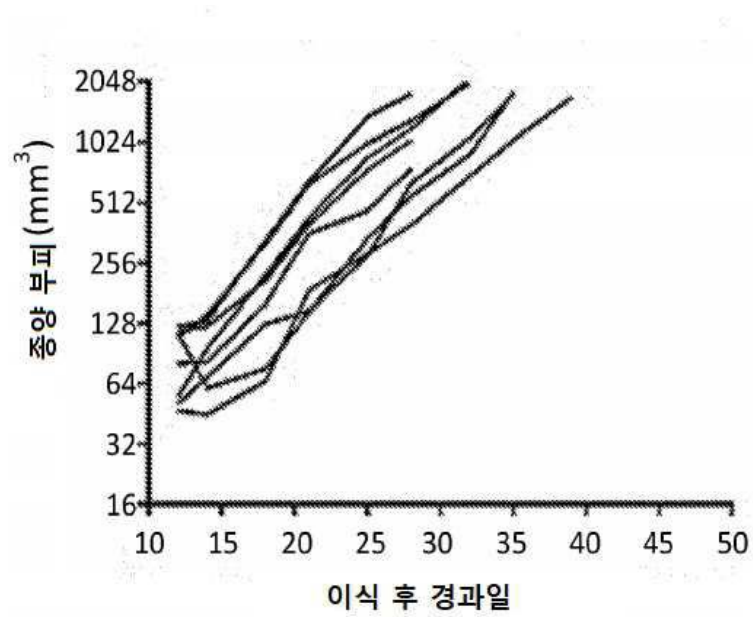
도면5d



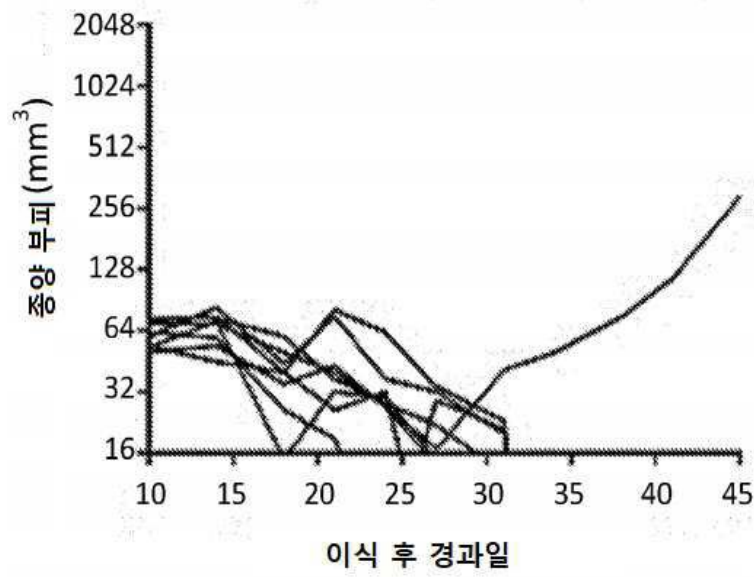
도면6a



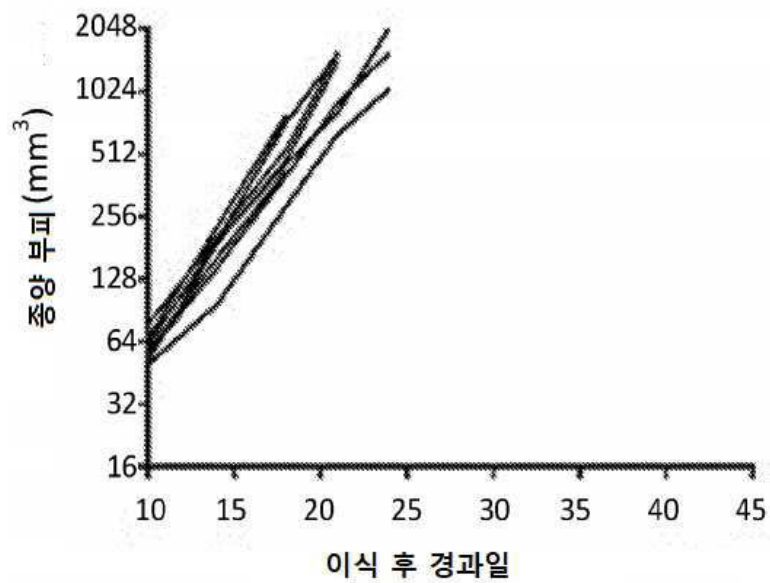
도면6b



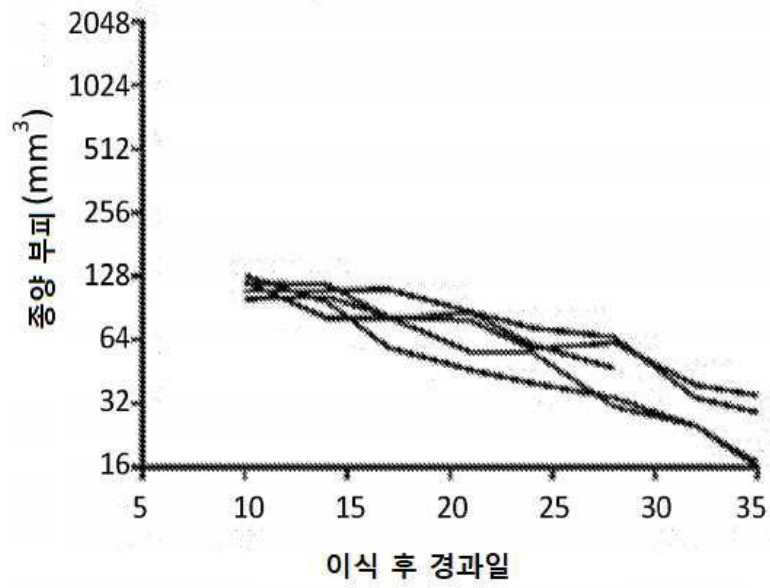
도면6c



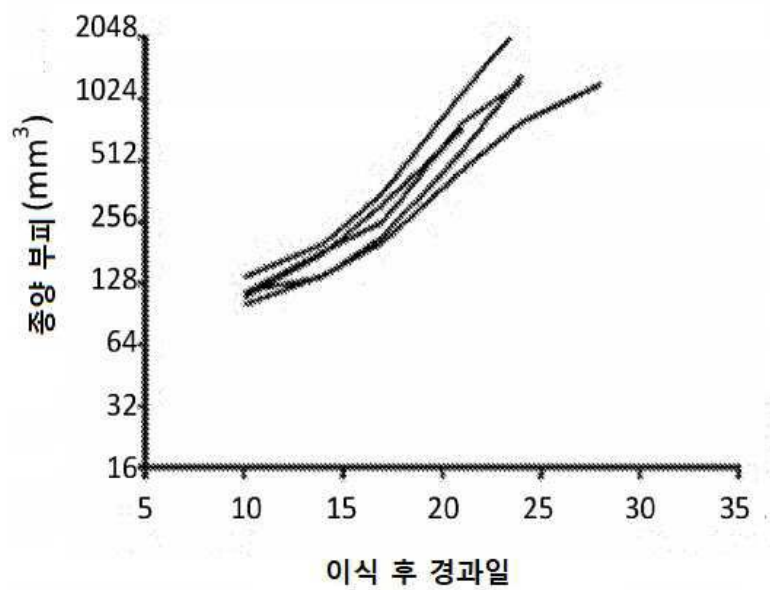
도면6d



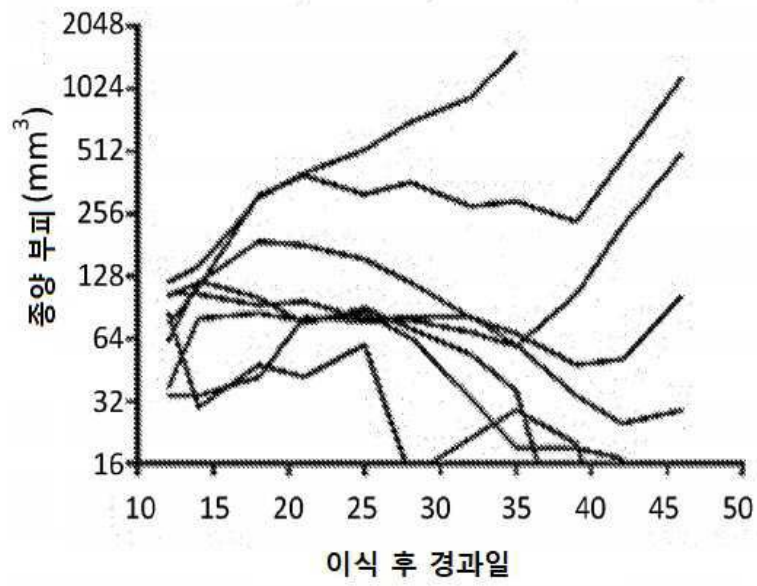
도면6e



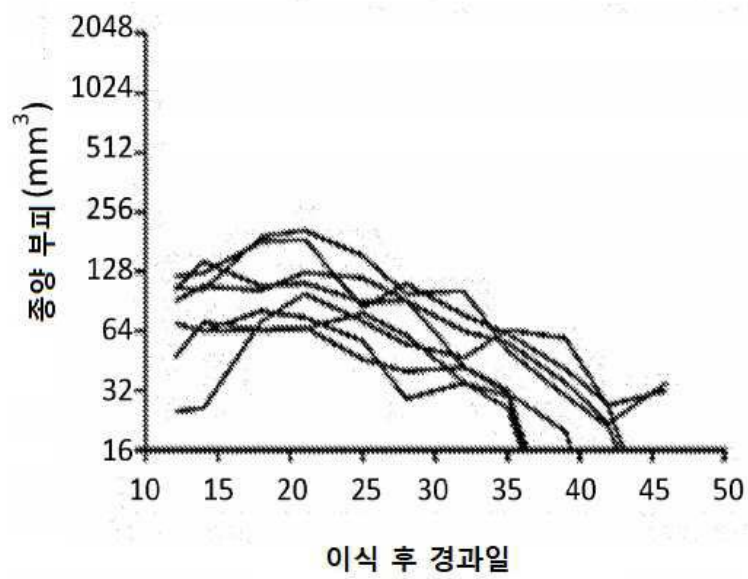
도면6f



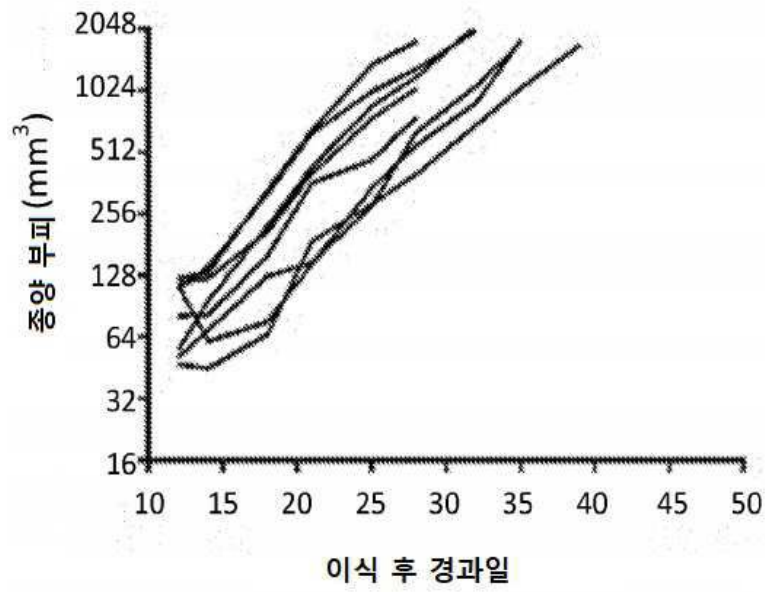
도면7a



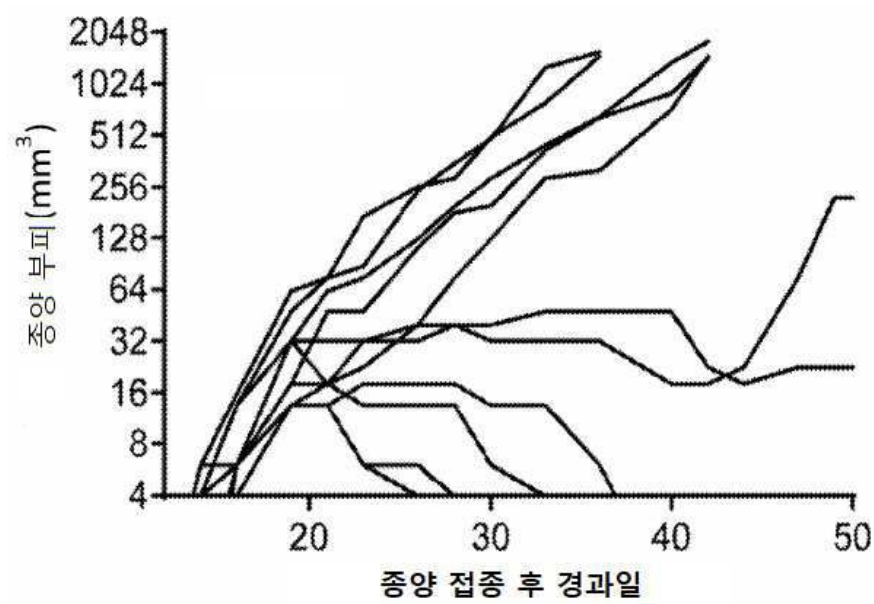
도면7b



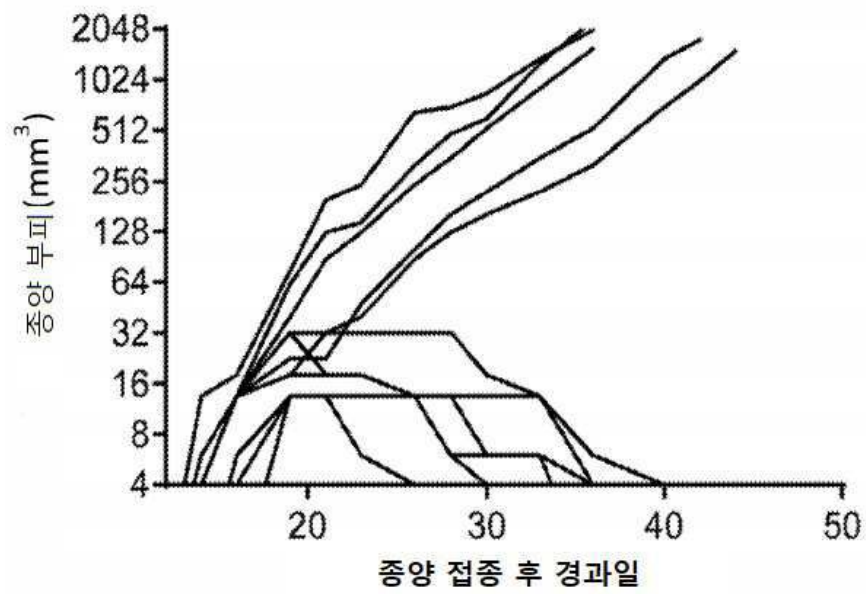
도면7c



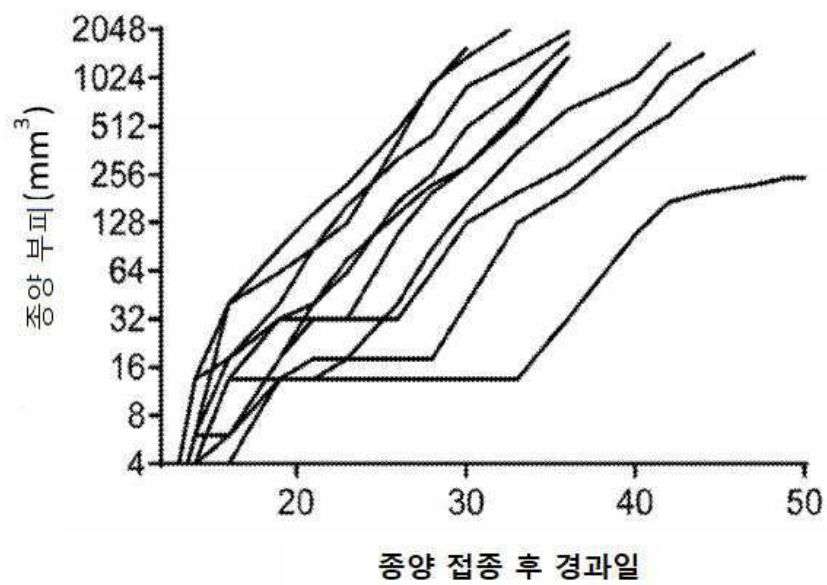
도면7d



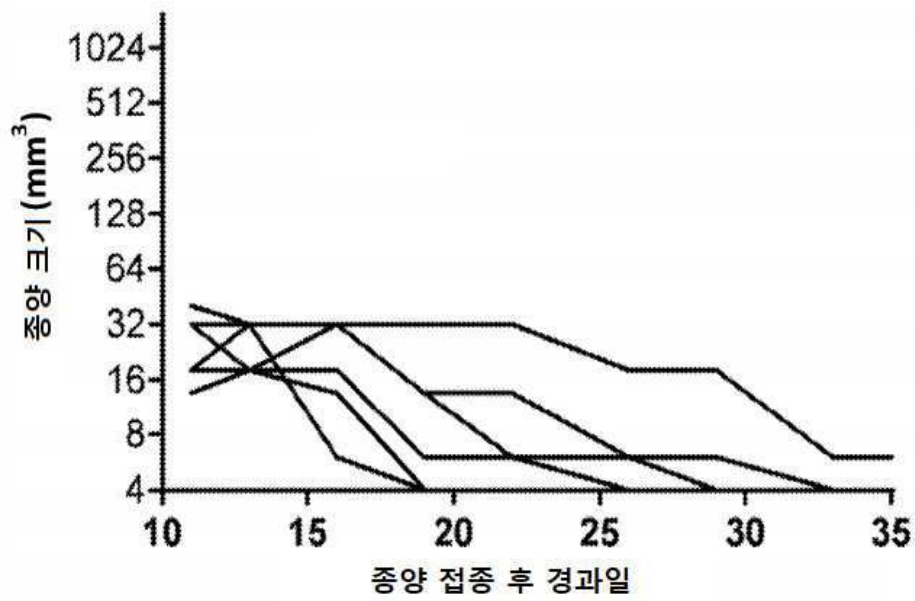
도면7e



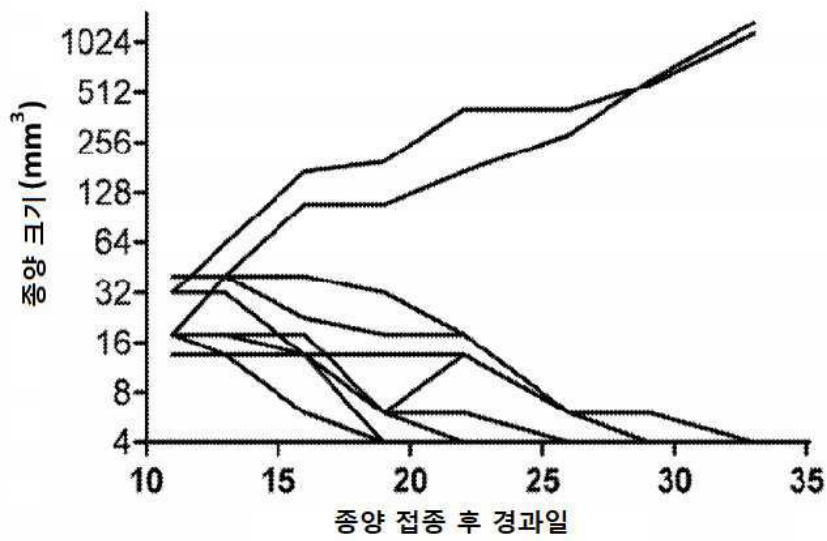
도면7f



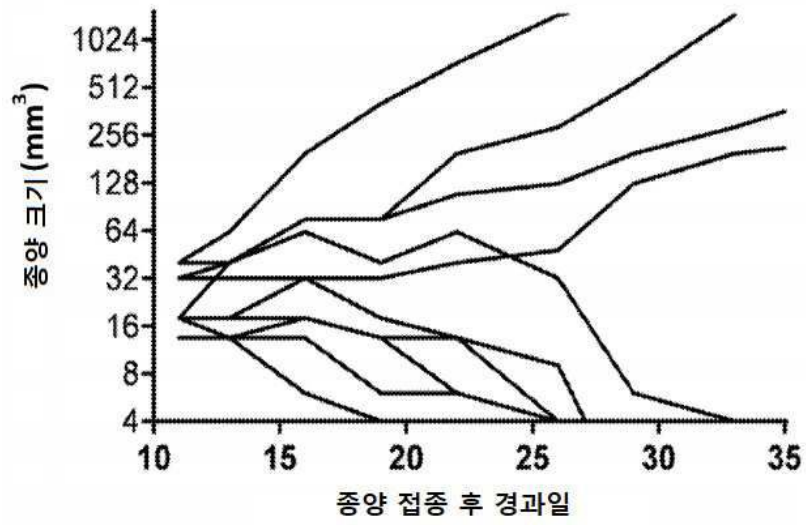
도면8a



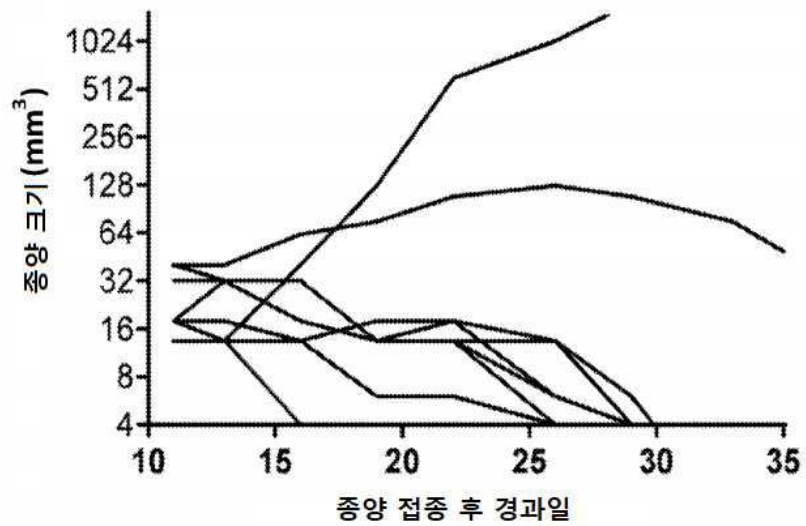
도면8b



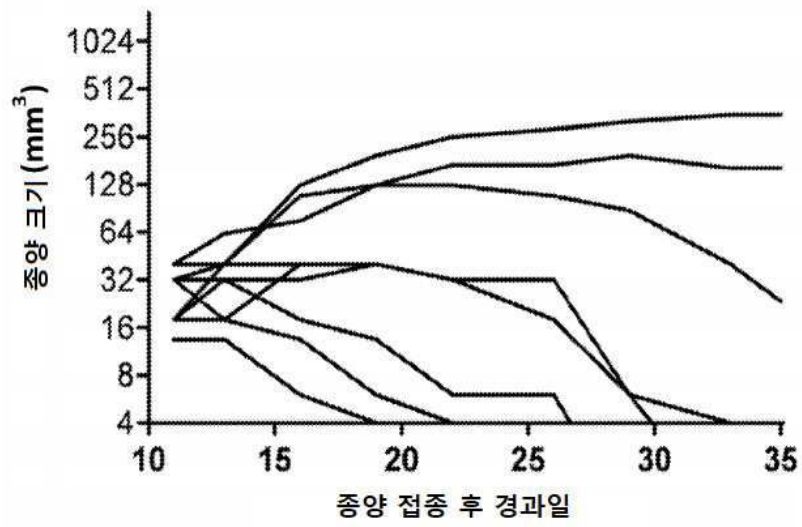
도면8c



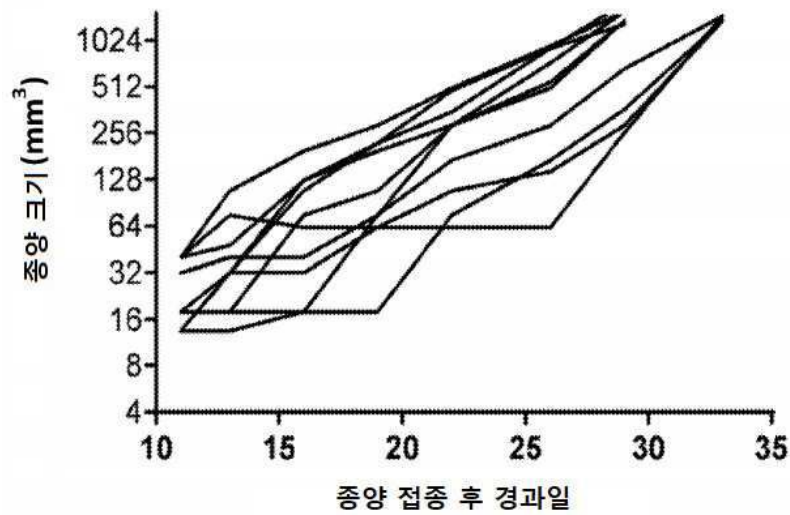
도면8d



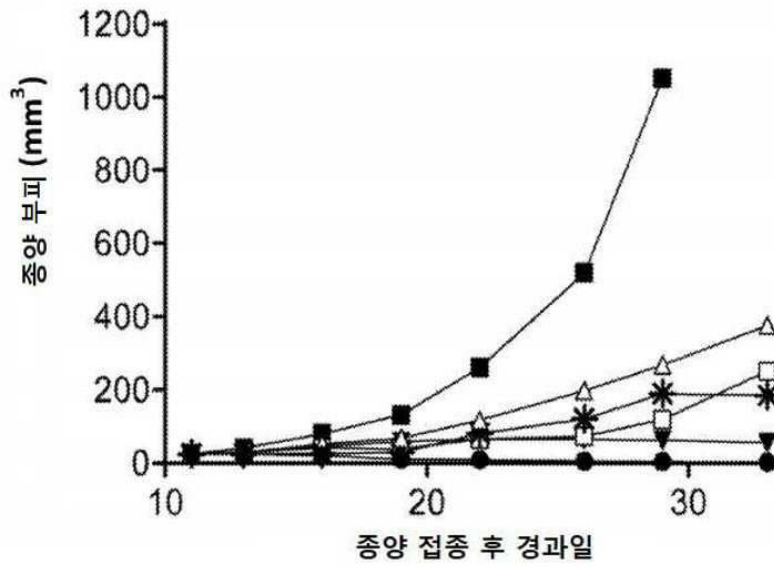
도면8e



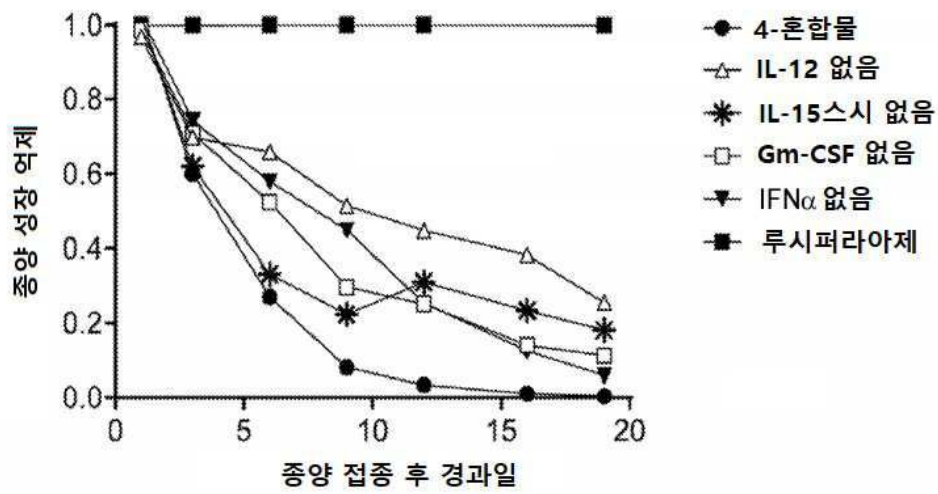
도면8f



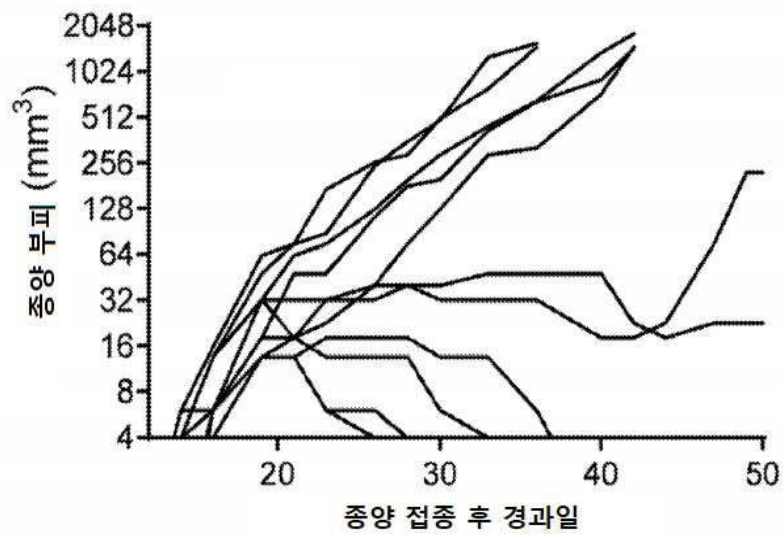
도면8g



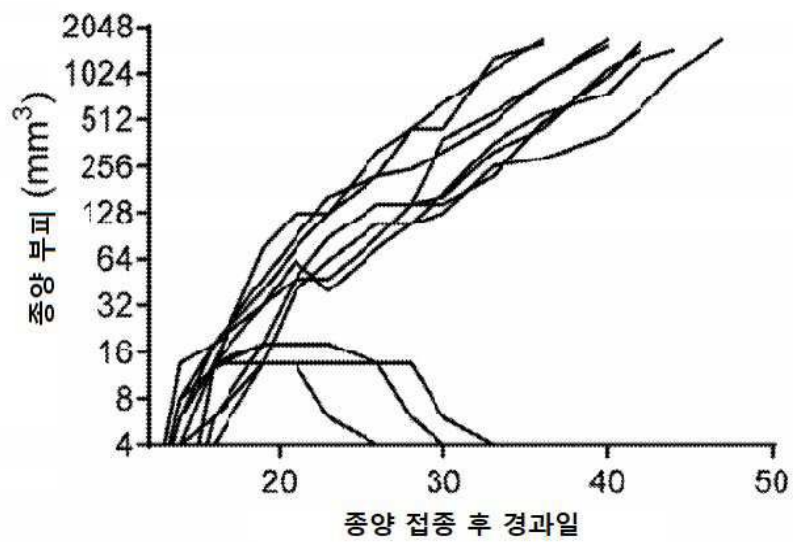
도면8h



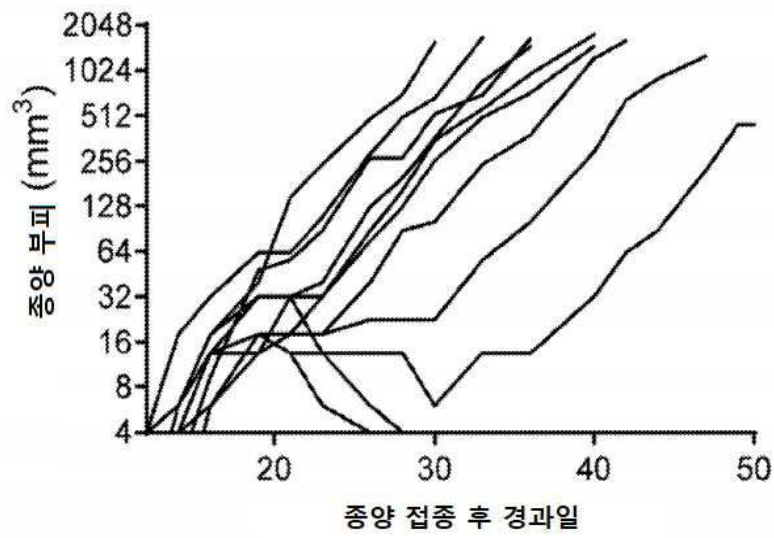
도면9a



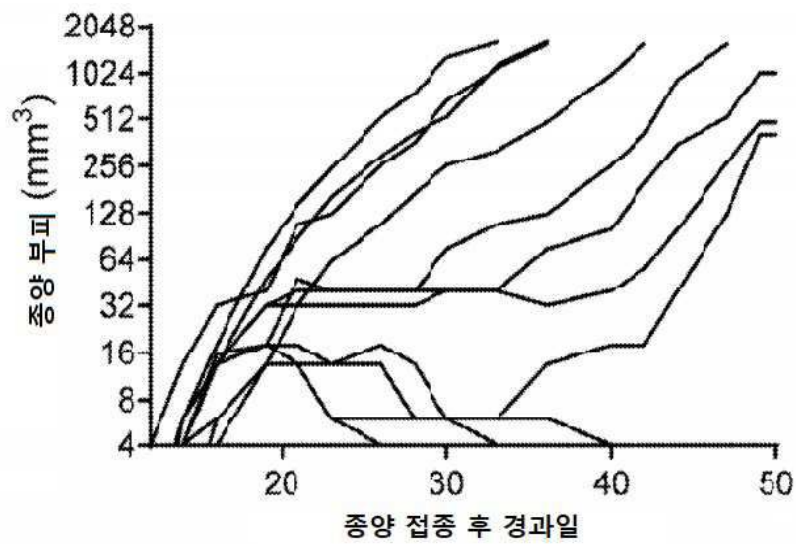
도면9b



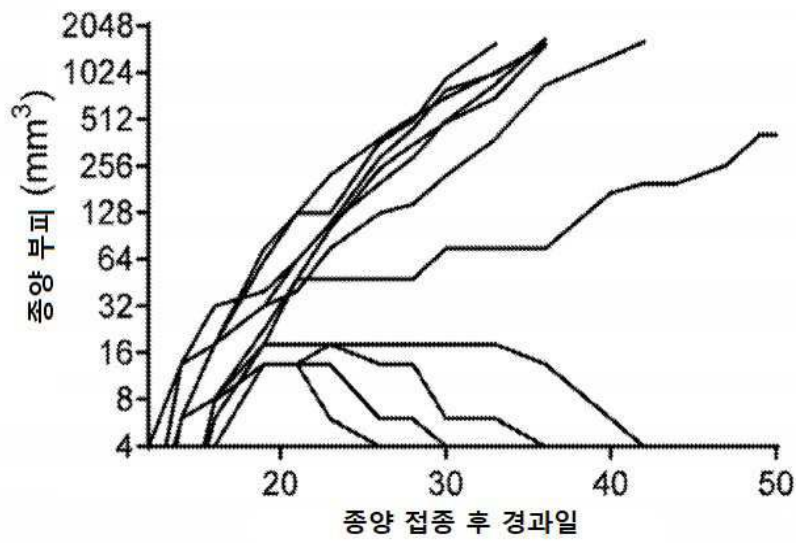
도면9c



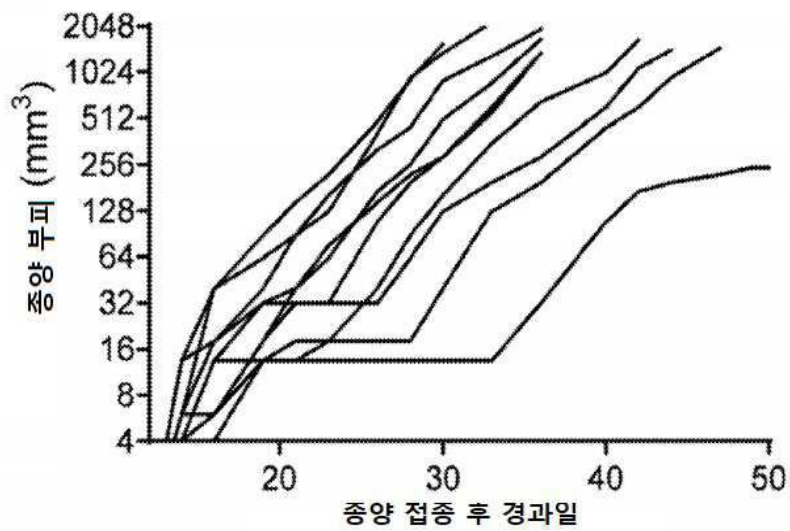
도면9d



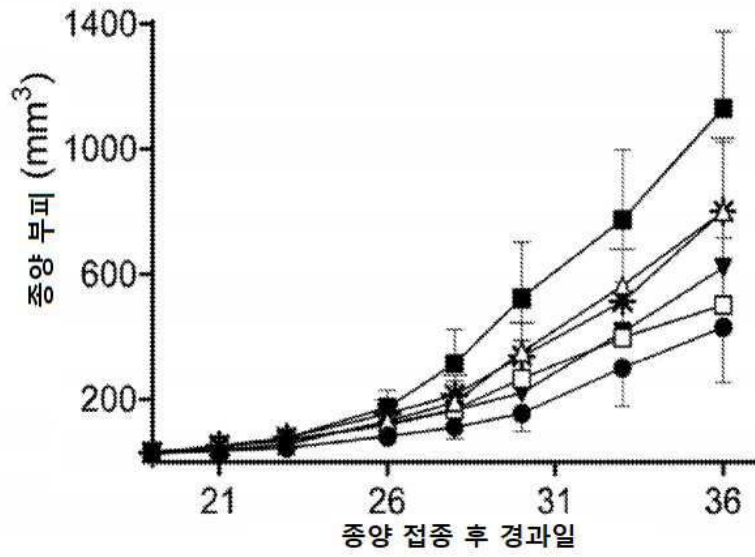
도면9e



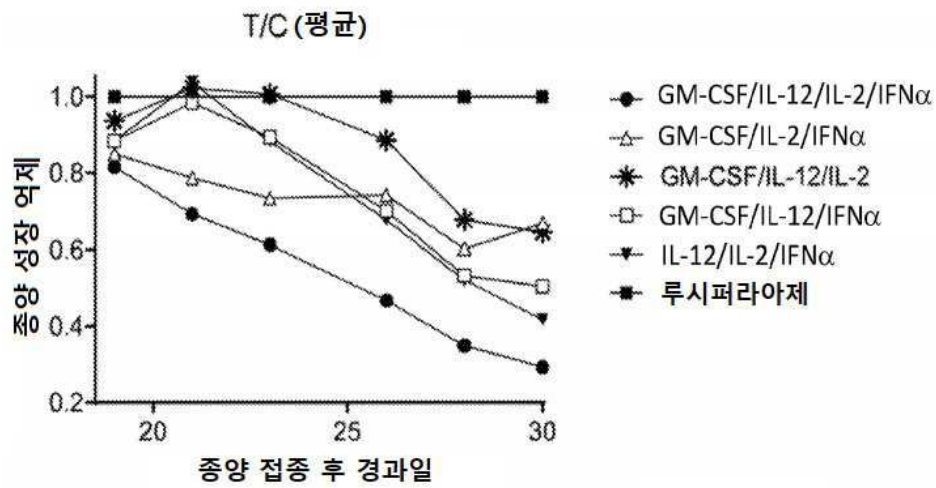
도면9f



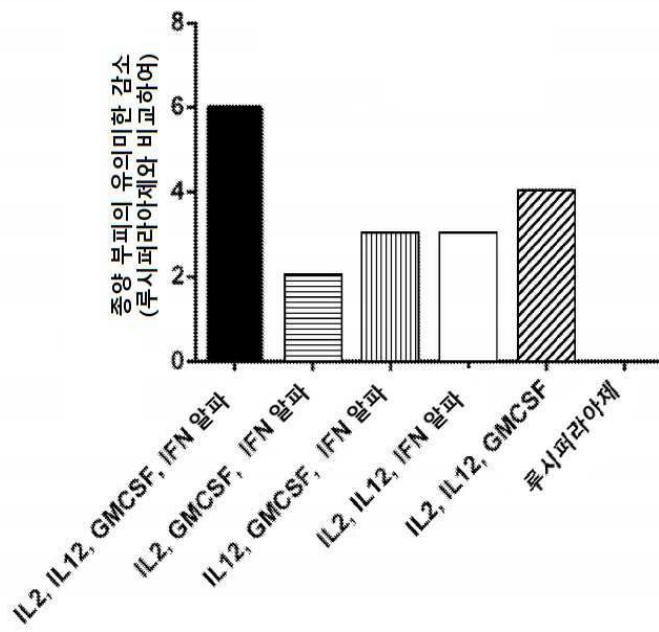
도면10a



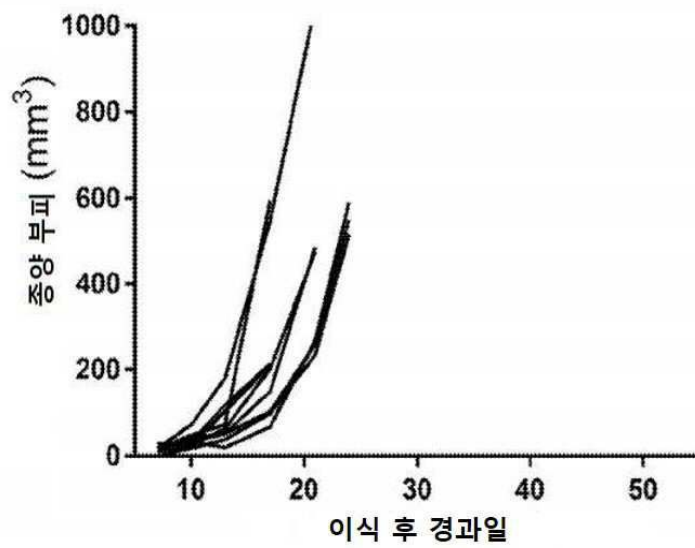
도면10b



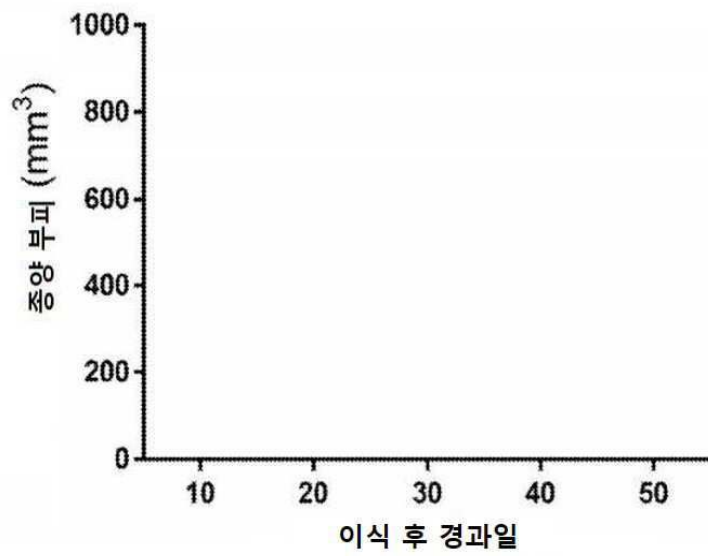
도면11



도면12a

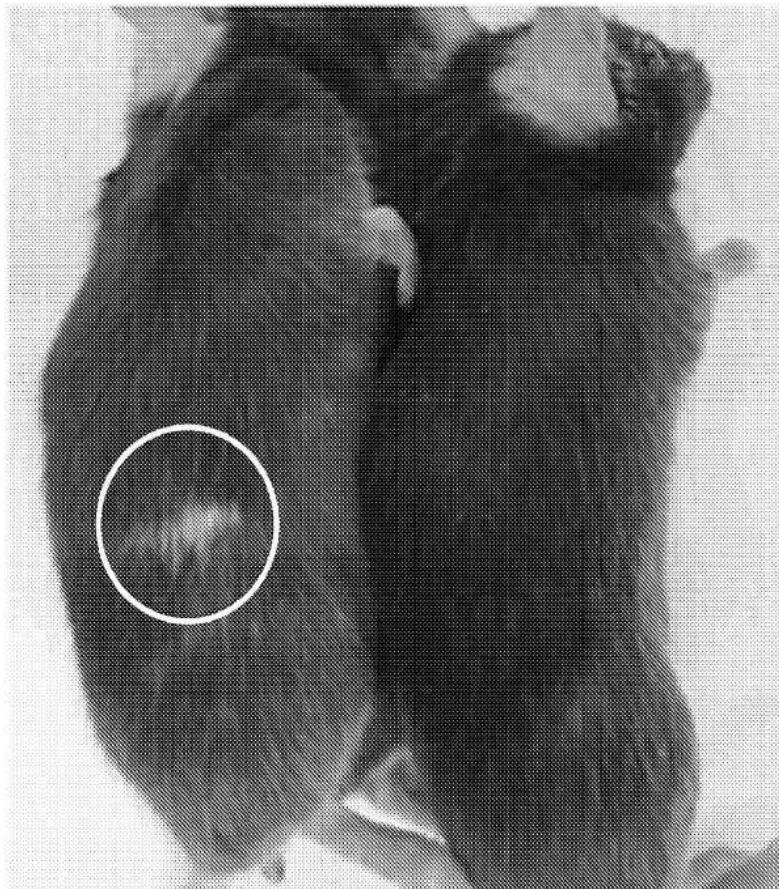


도면12b

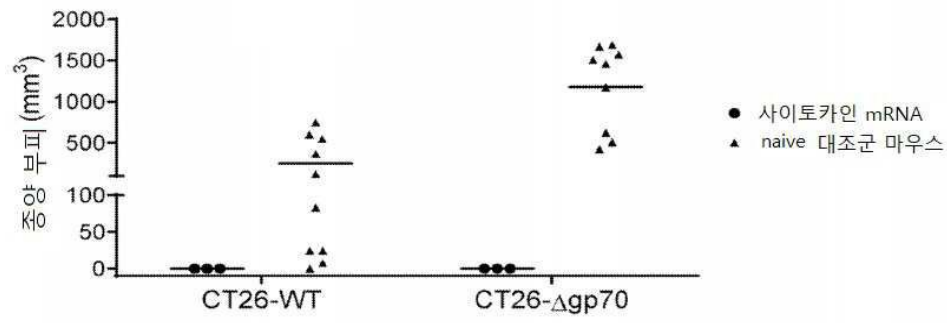


도면12c

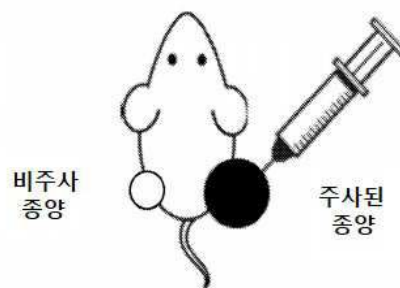
종양 부위의 국소화된 백반



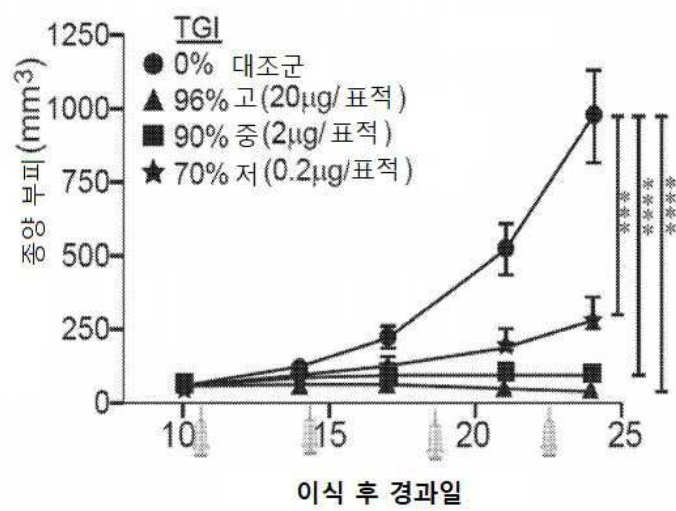
도면12d



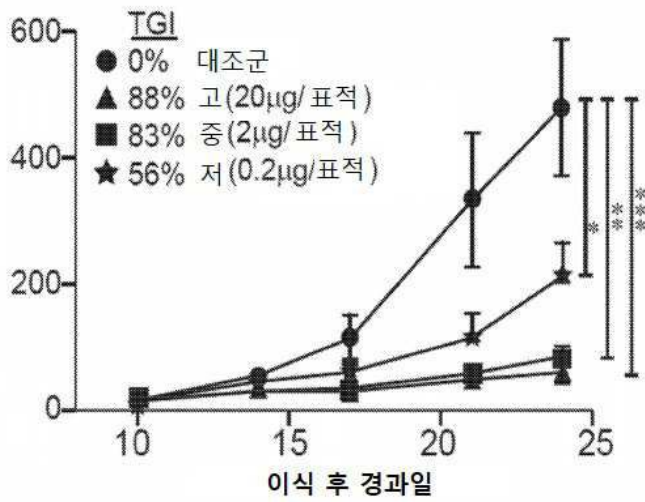
도면13a



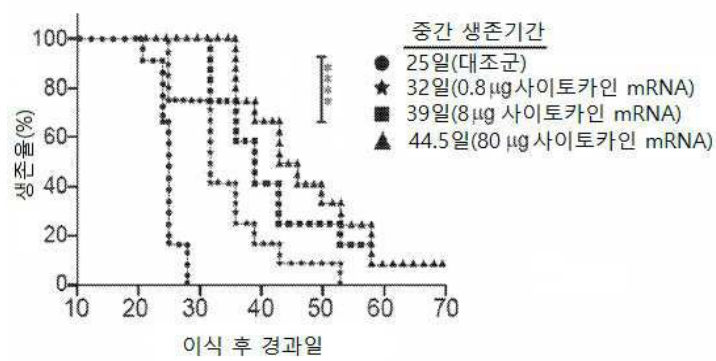
도면13b



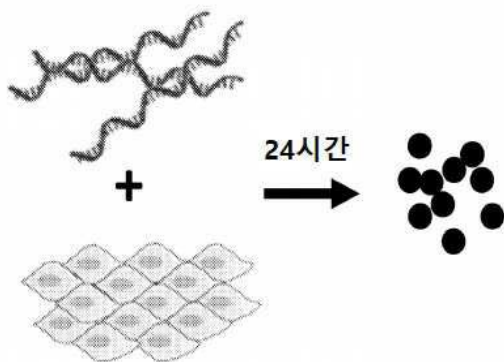
도면13c



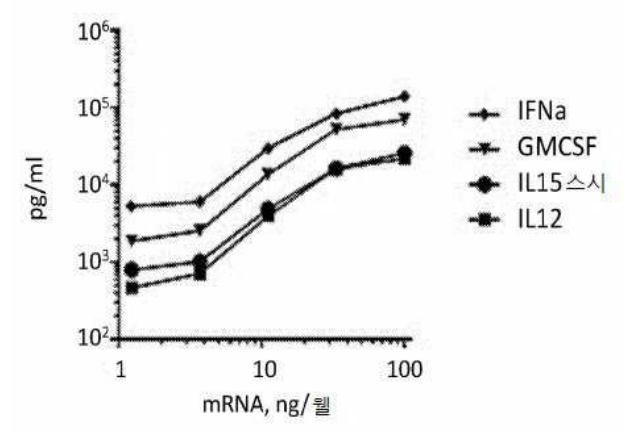
도면13d



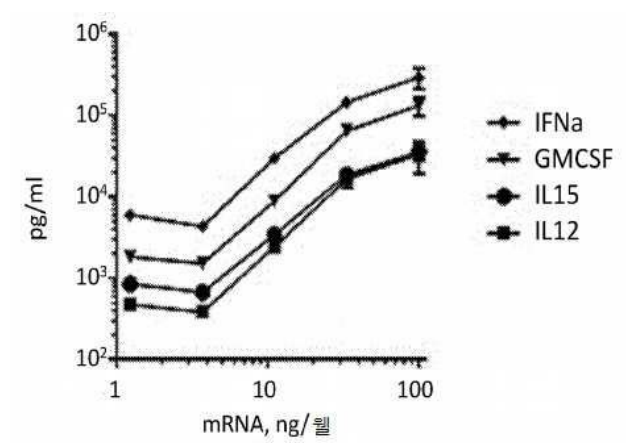
도면14a



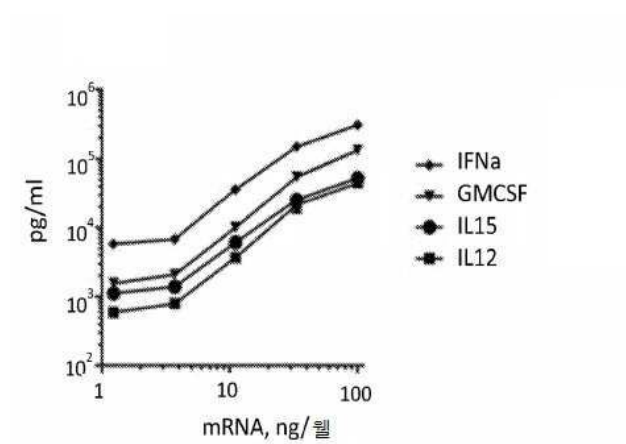
도면14b



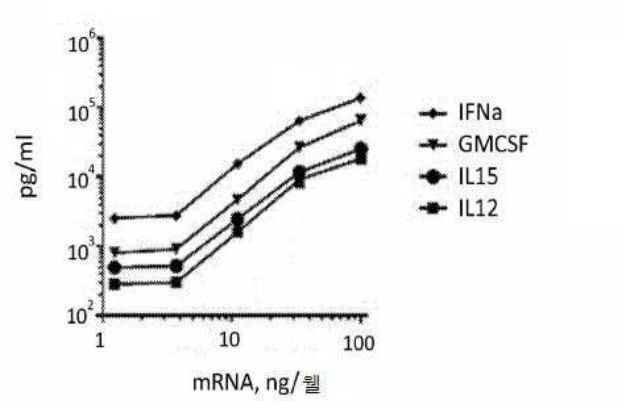
도면14c



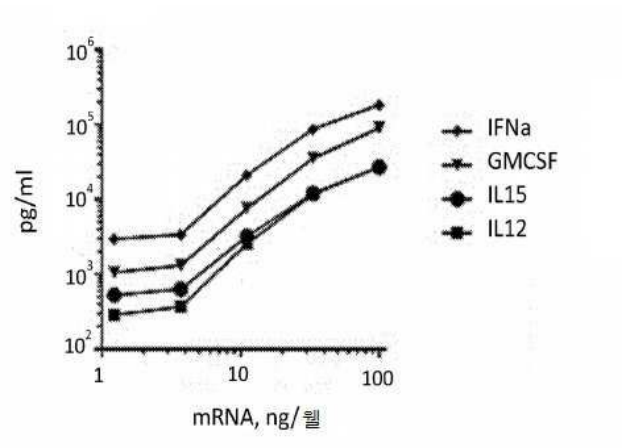
도면14d



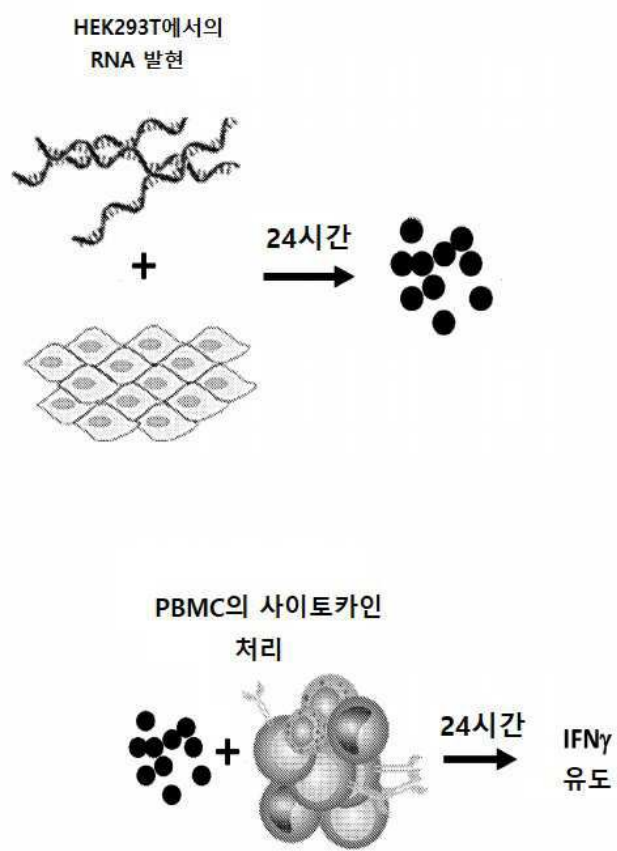
도면14e



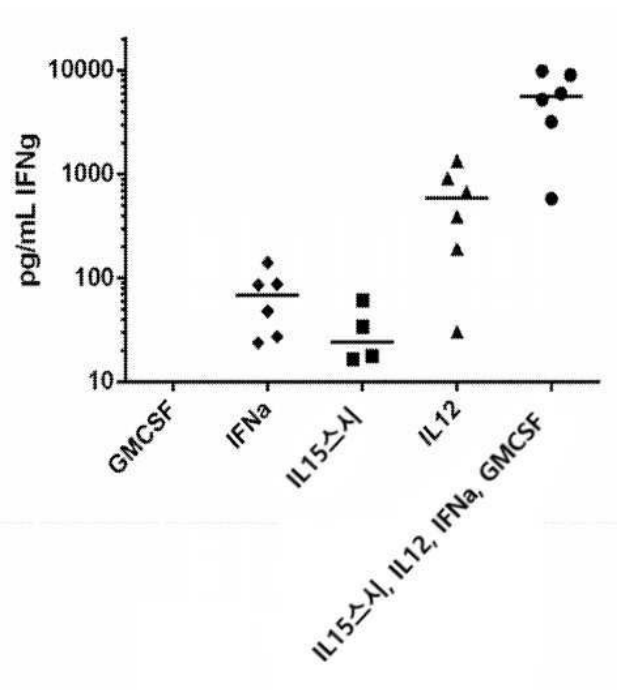
도면14f



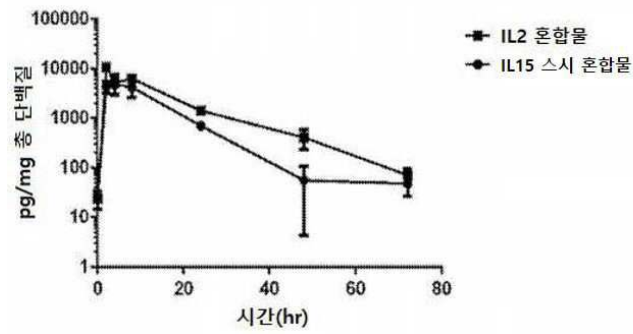
도면15a



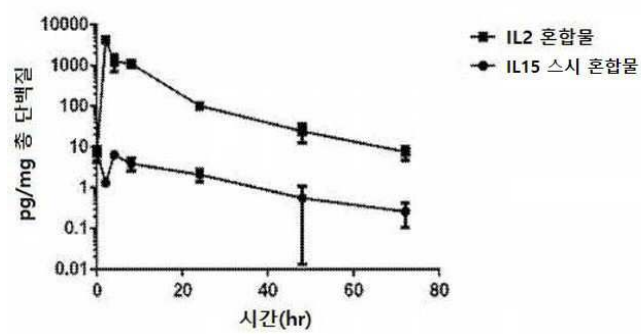
도면15b



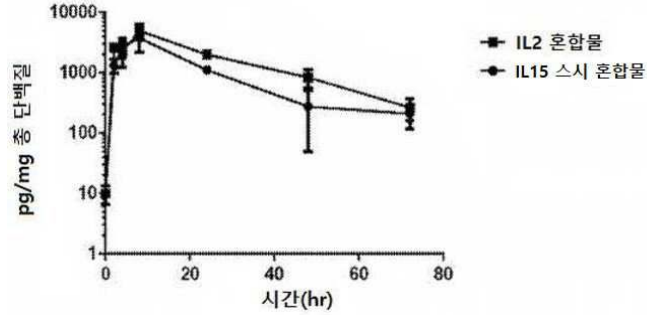
도면16a



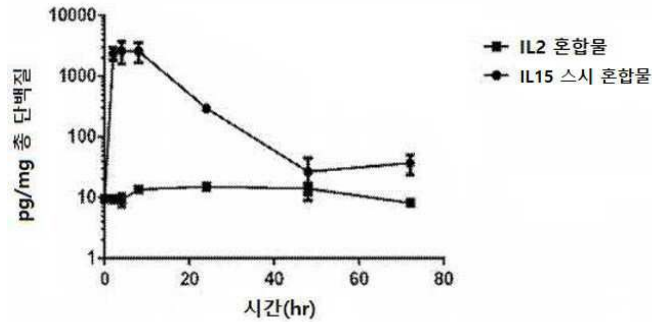
도면16b



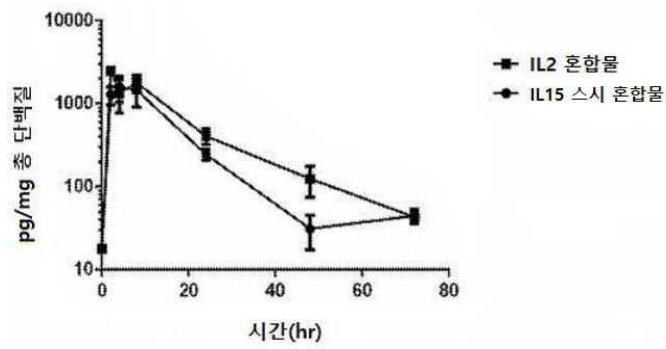
도면16c



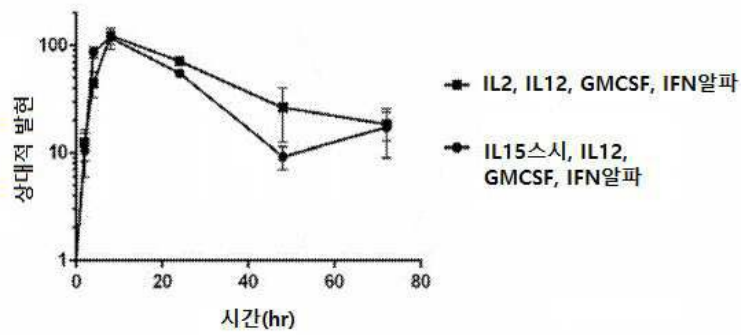
도면16d



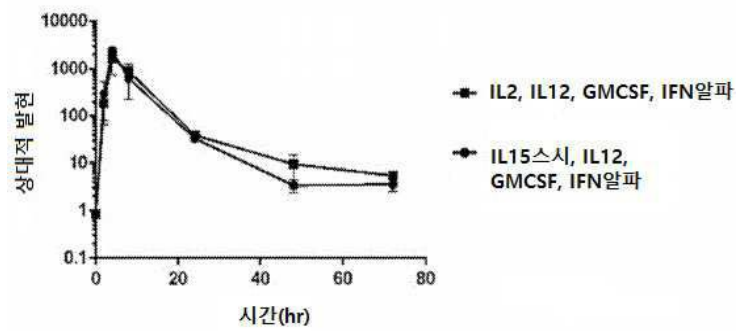
도면16e



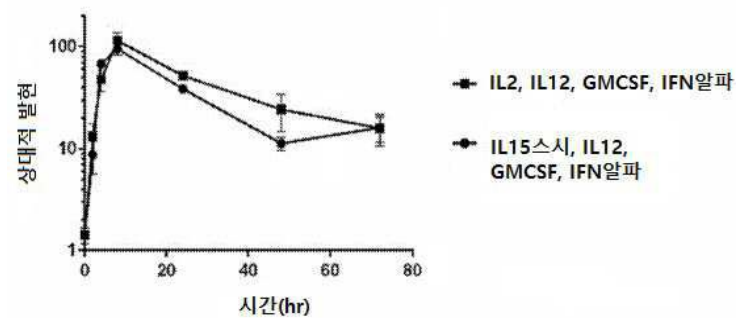
도면17a



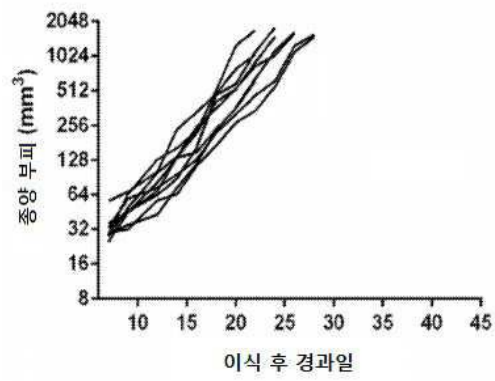
도면17b



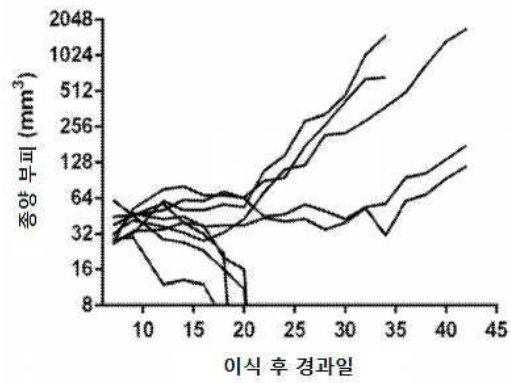
도면17c



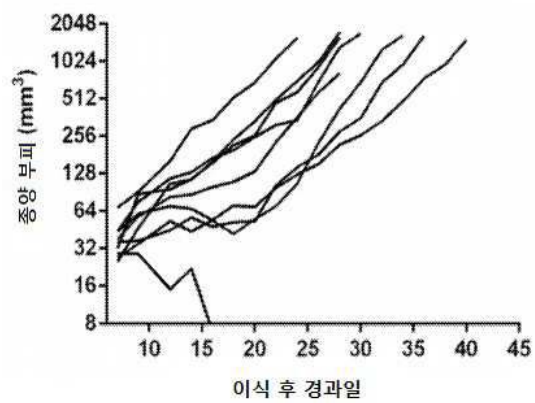
도면18a



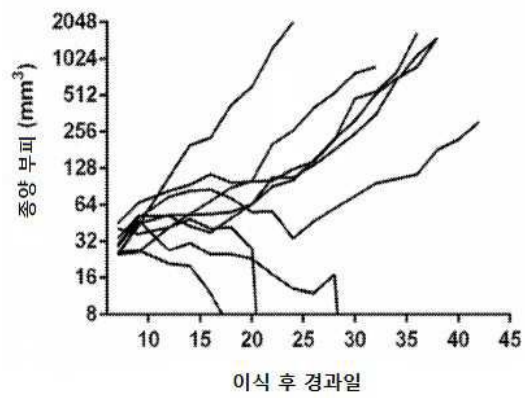
도면18b



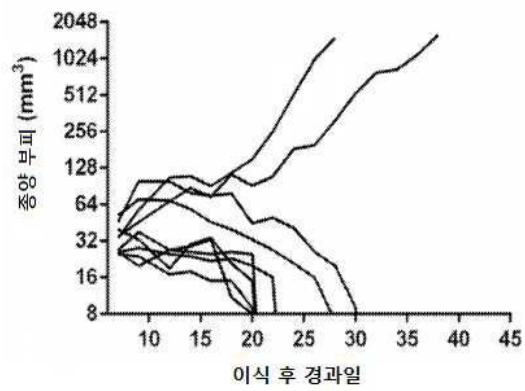
도면18c



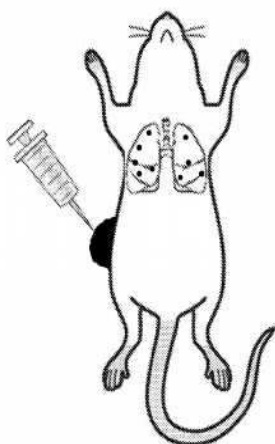
도면18d



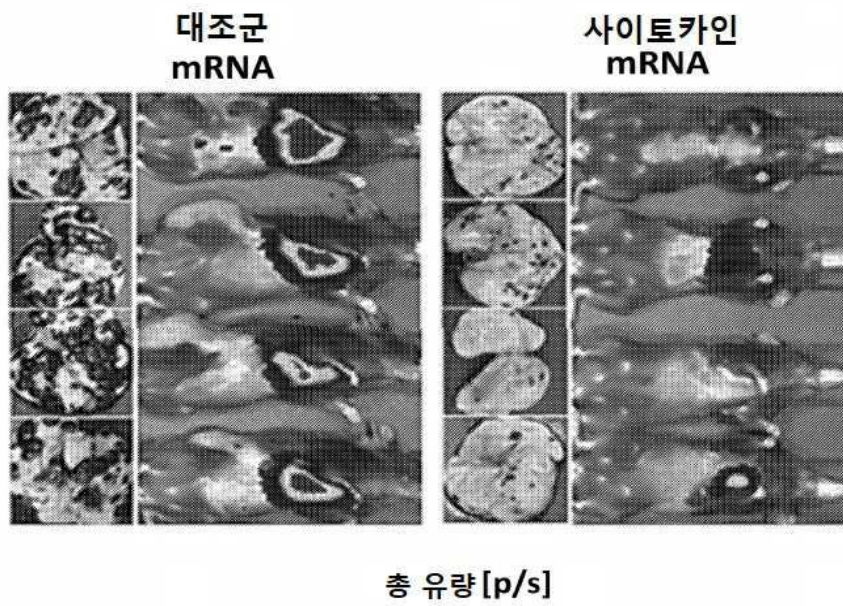
도면18e



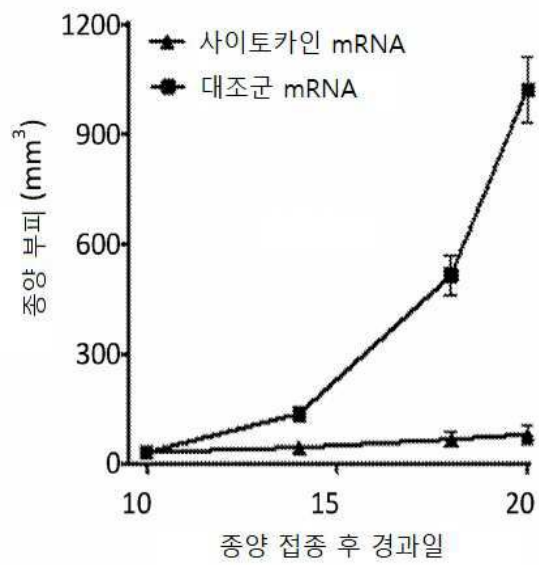
도면19a



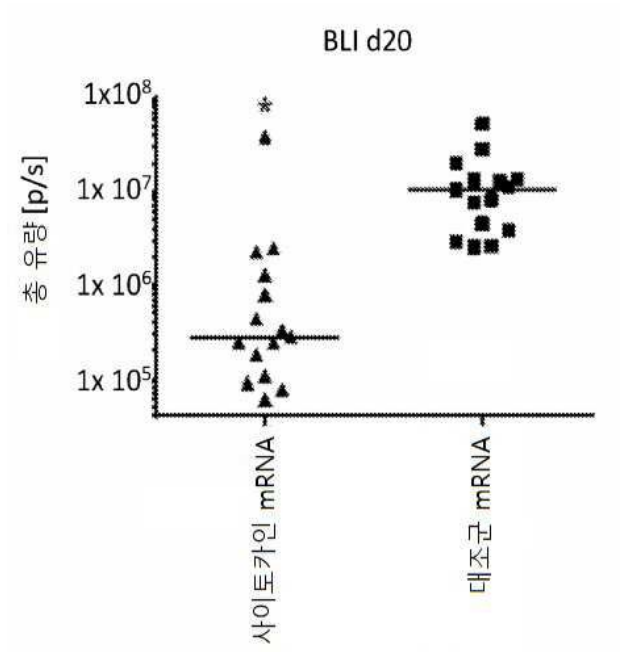
도면19b



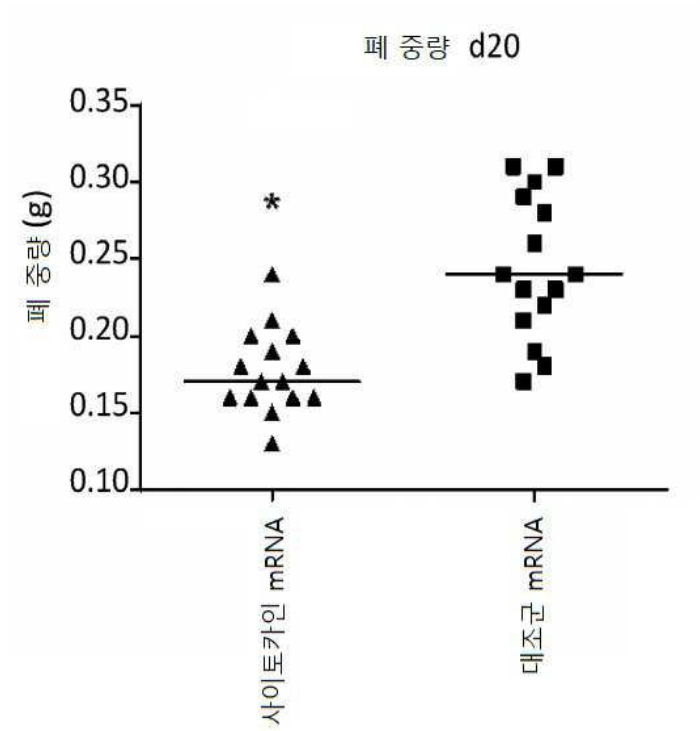
도면19c



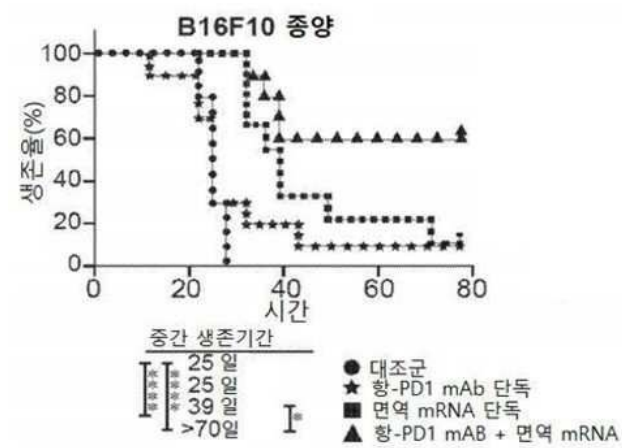
도면19d



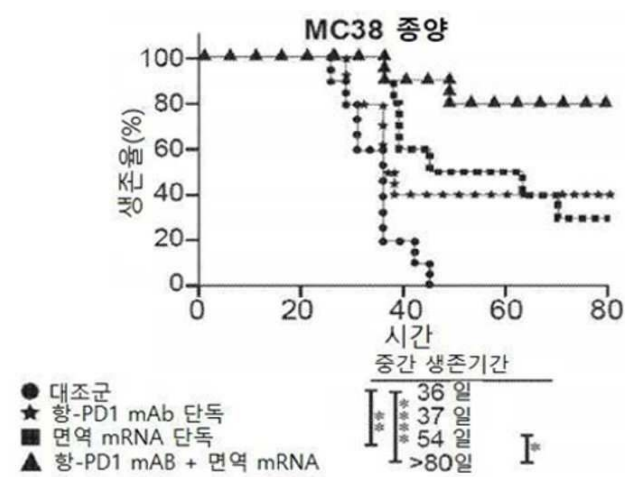
도면19e



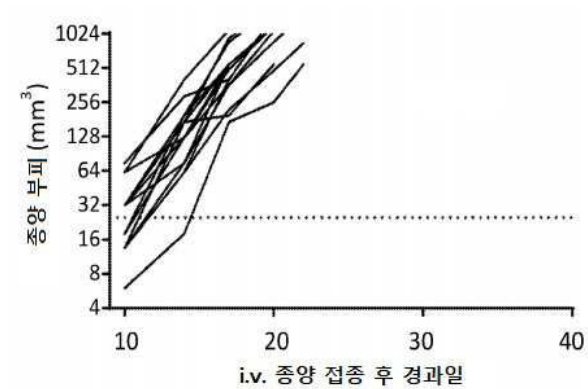
도면20a



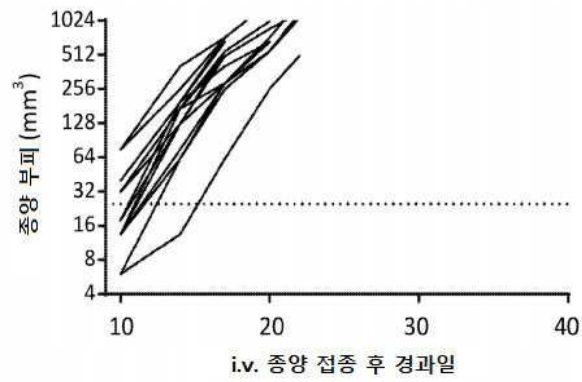
도면20b



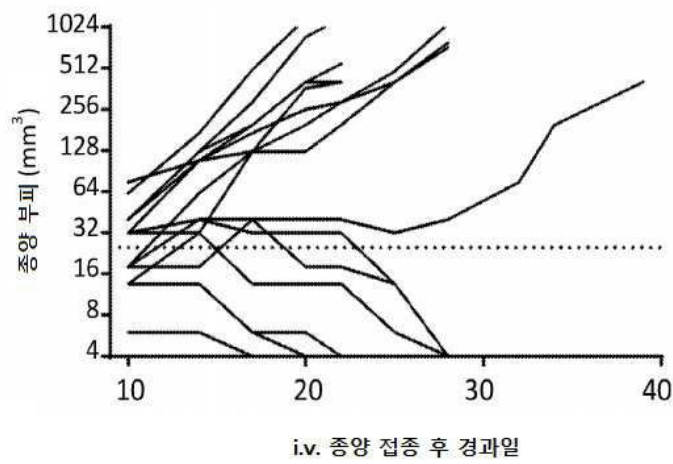
도면20c



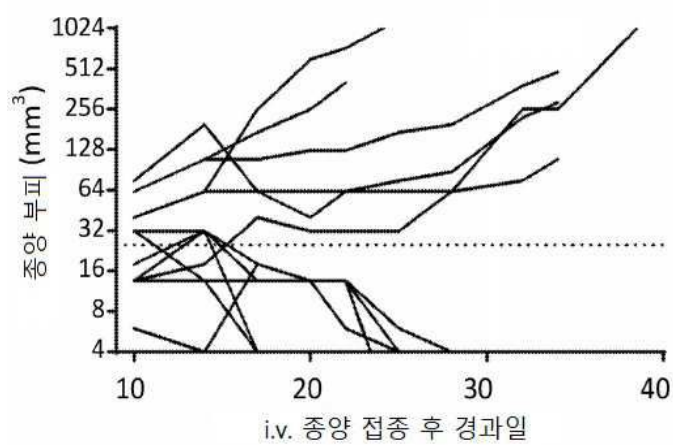
도면20d



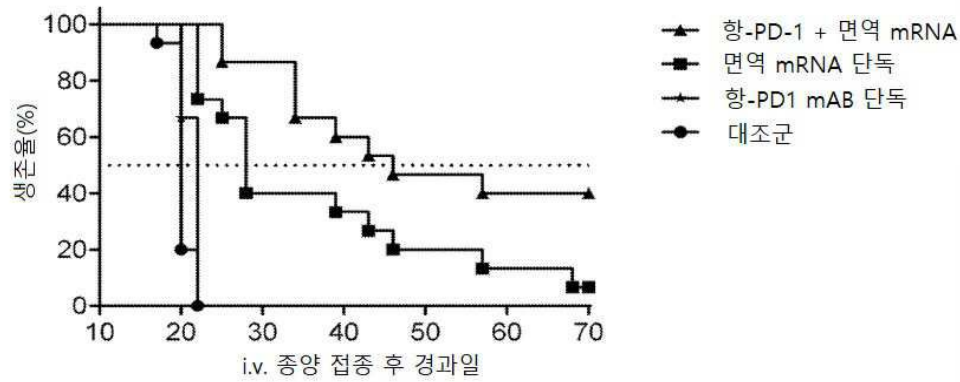
도면20e



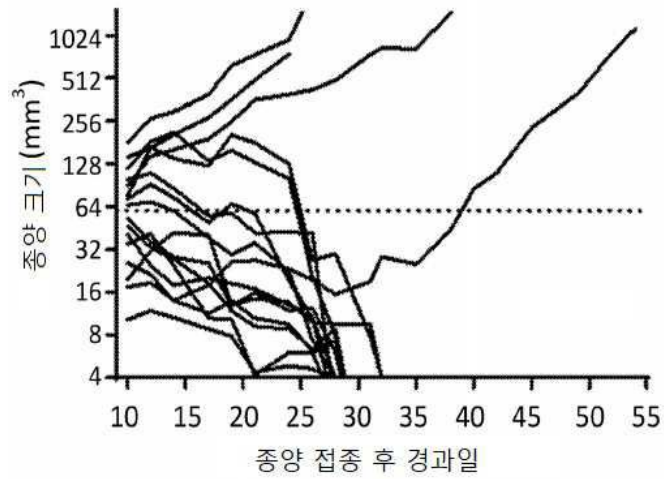
도면20f



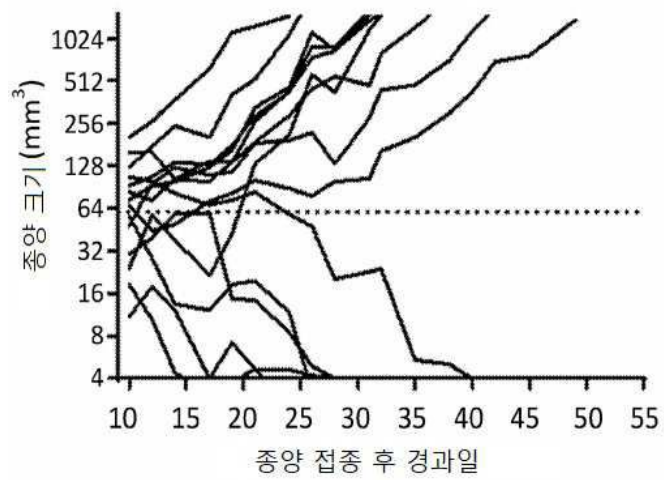
도면20g



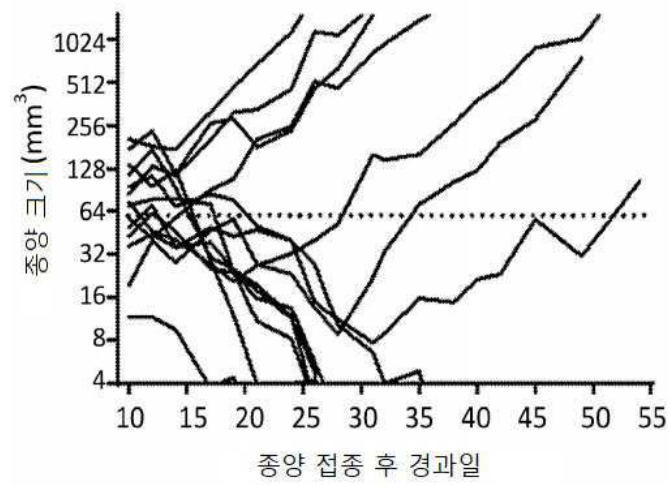
도면21a



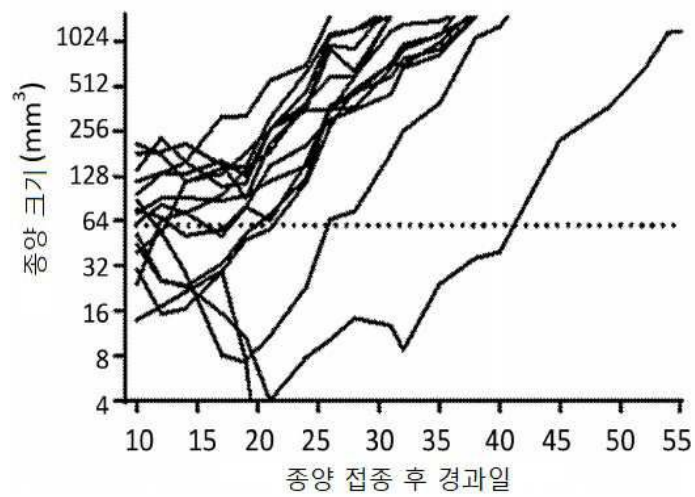
도면21b



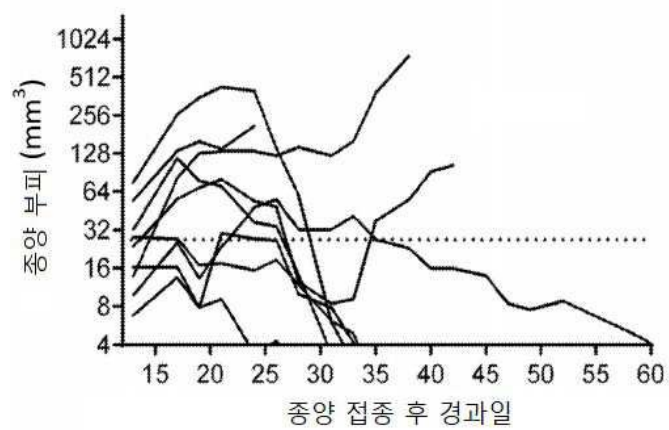
도면21c



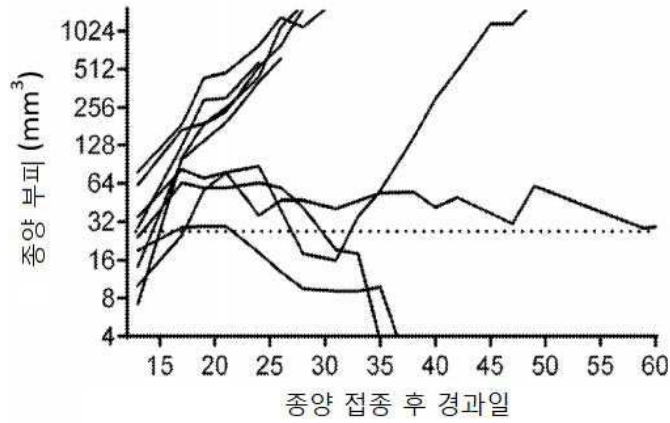
도면21d



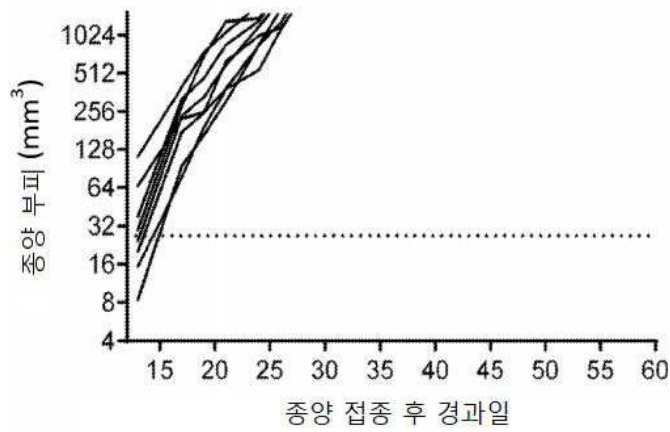
도면21e



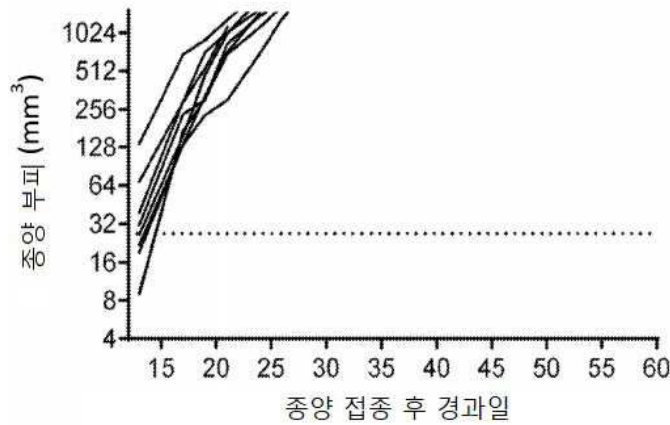
도면21f



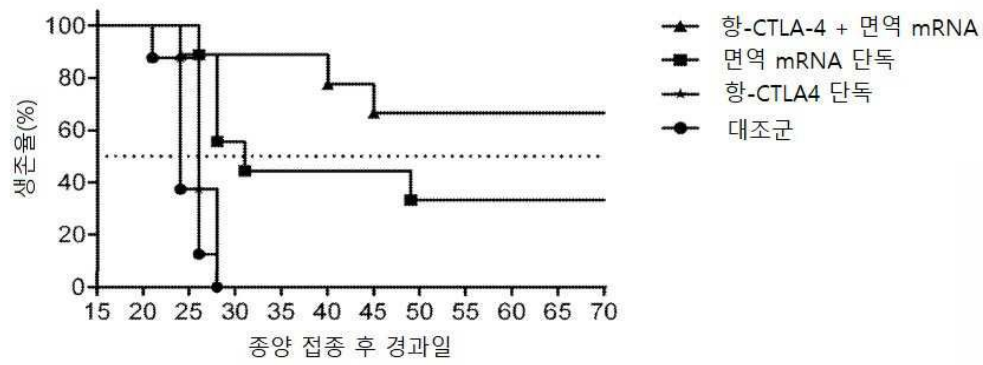
도면21g



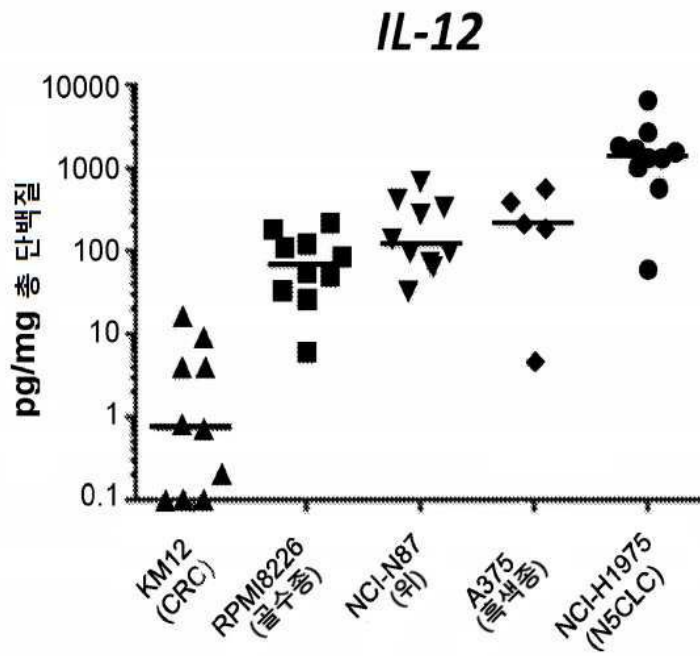
도면21h



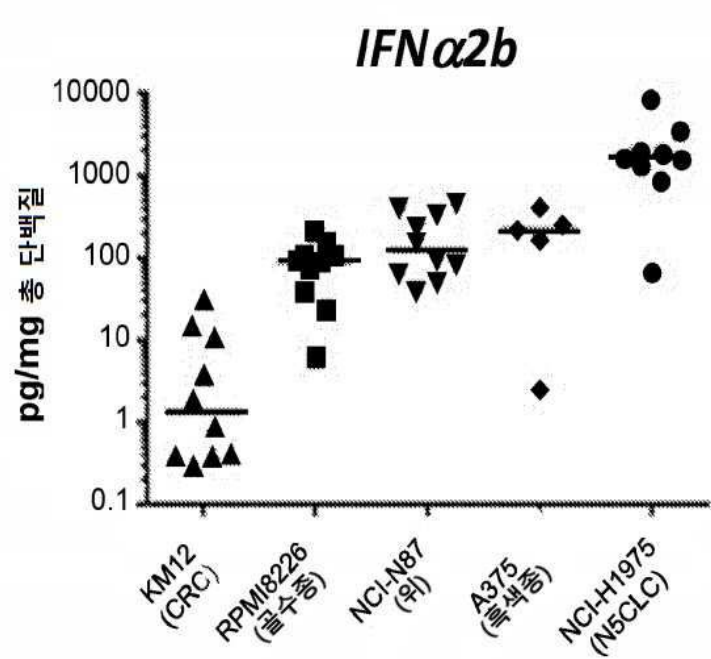
도면21i



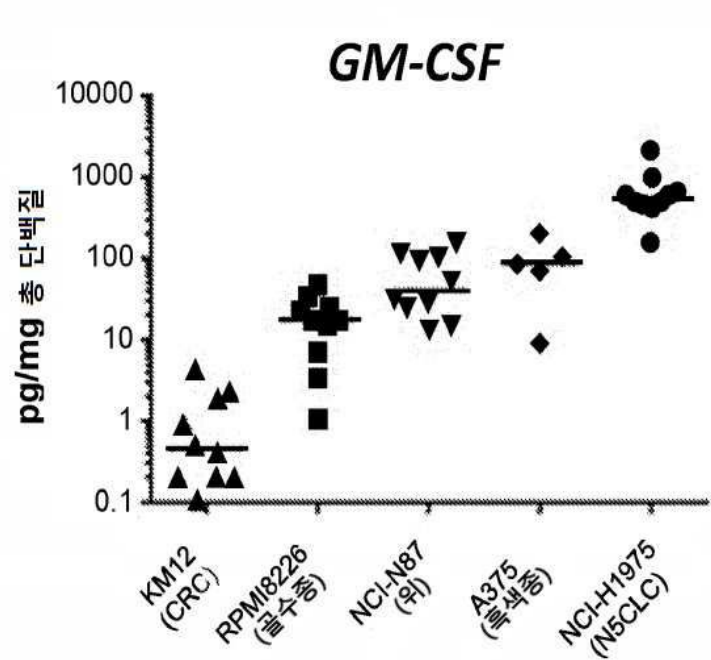
도면22a



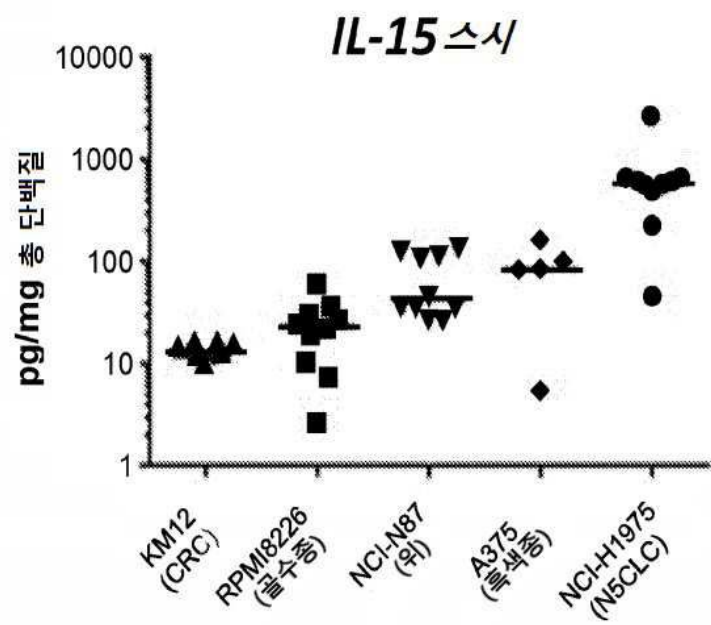
도면22b



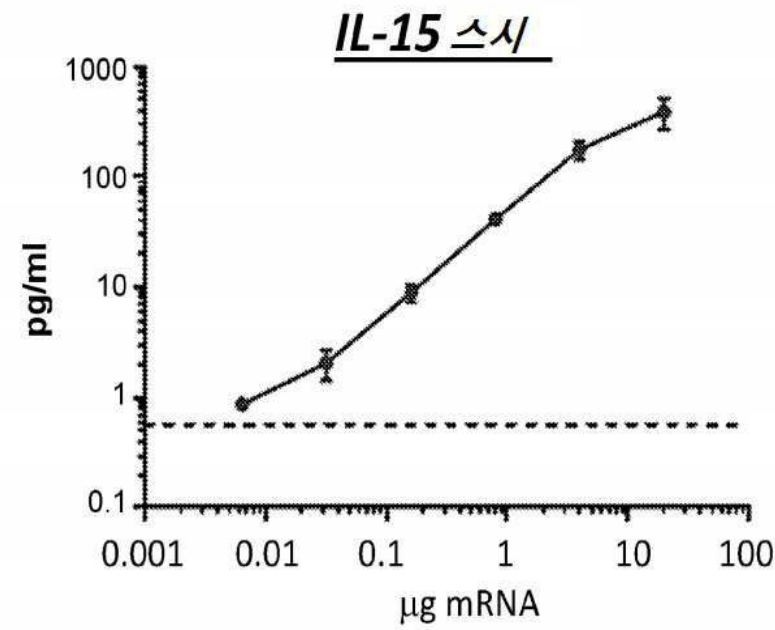
도면22c



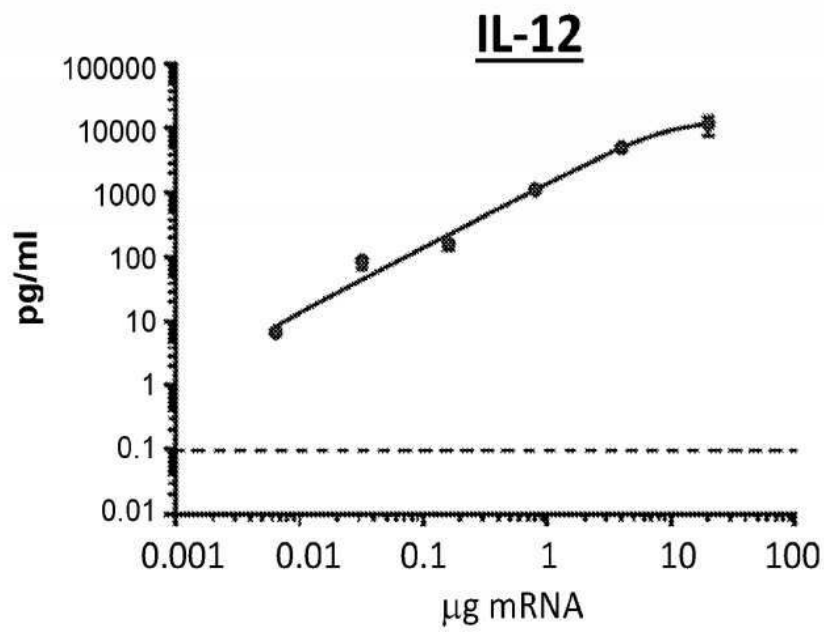
도면22d



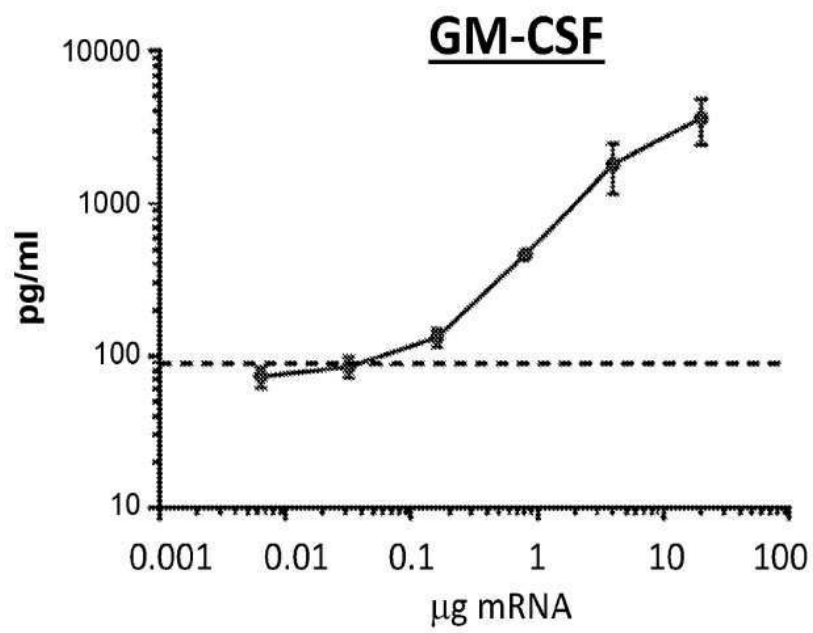
도면23a



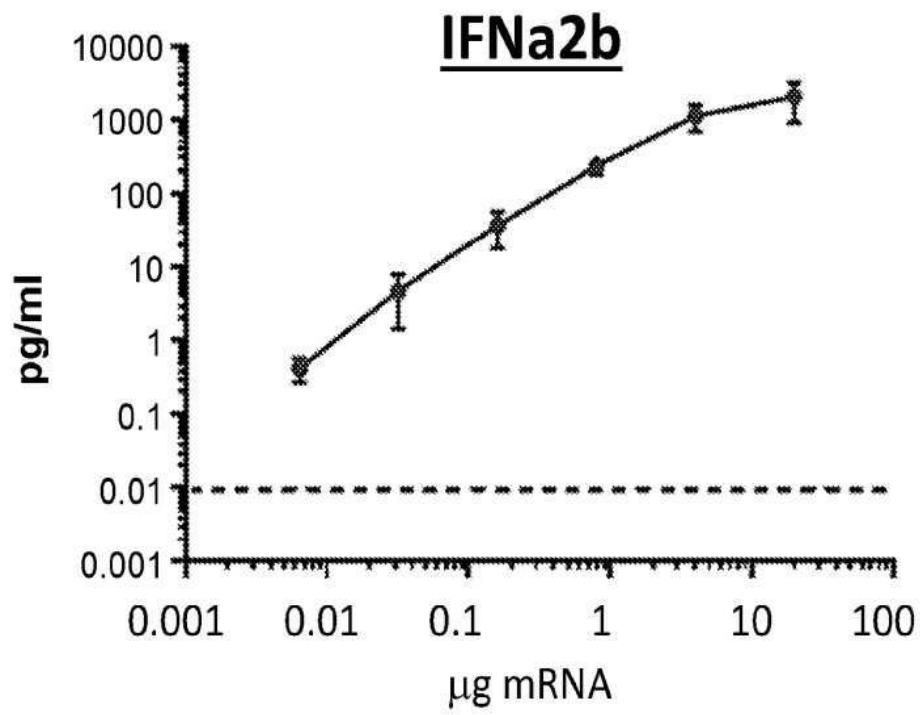
도면23b



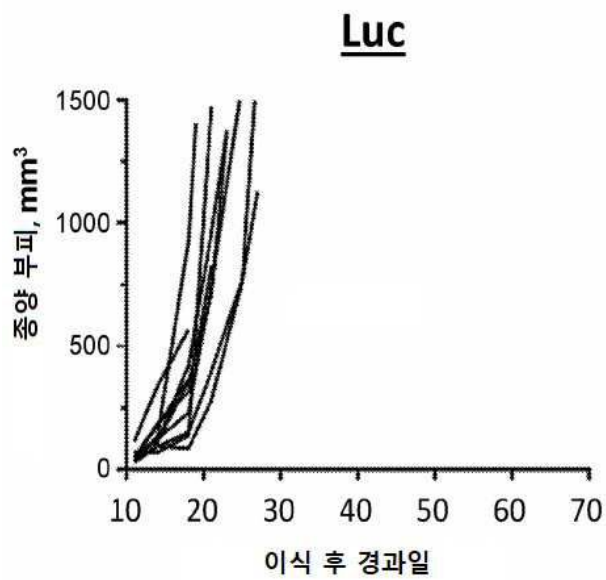
도면23c



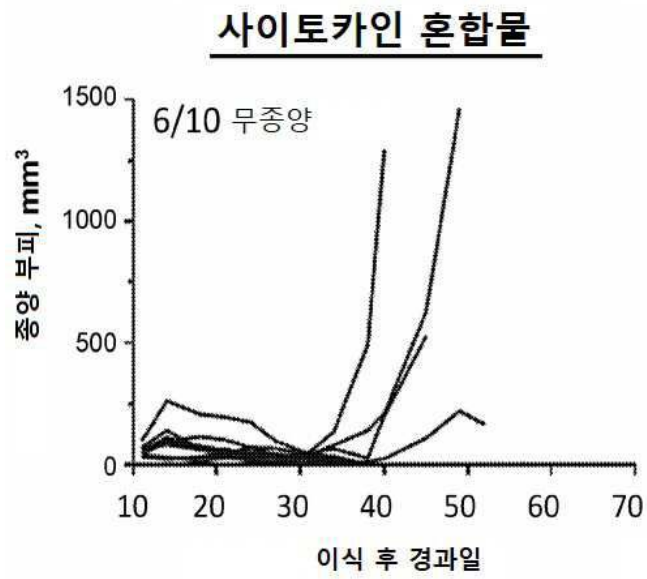
도면23d



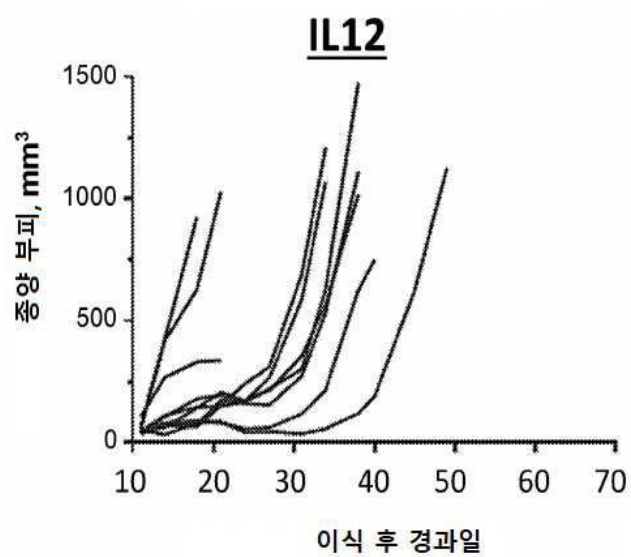
도면24a



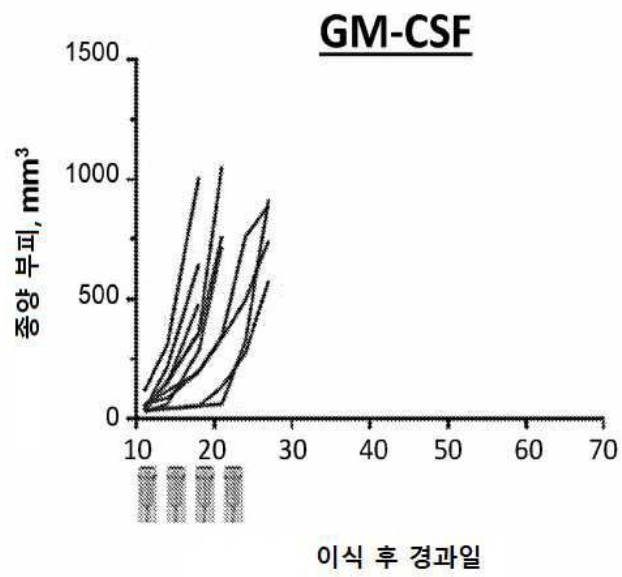
도면24b



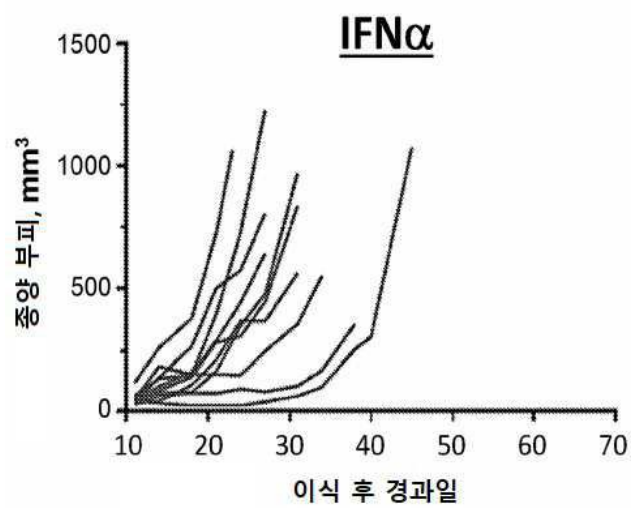
도면24c



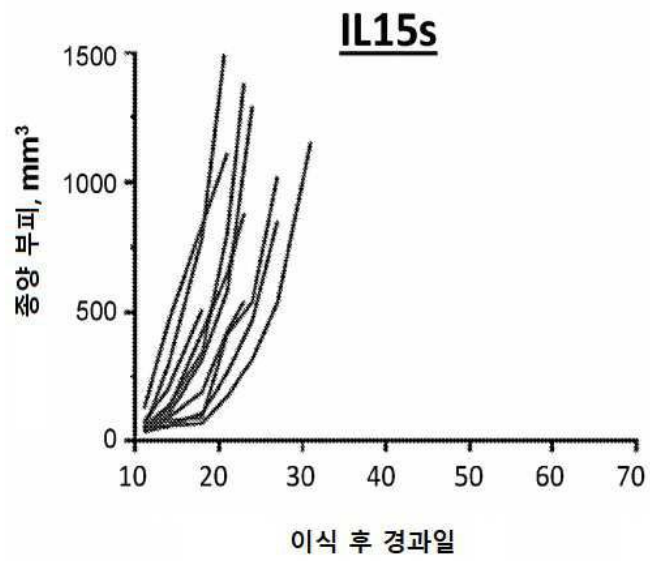
도면24d



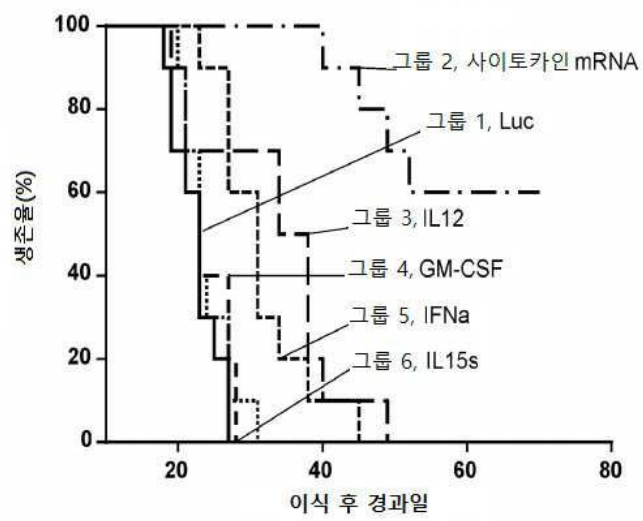
도면24e



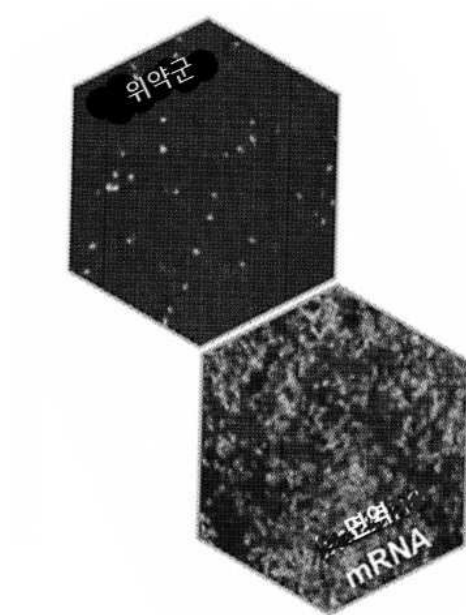
도면24f



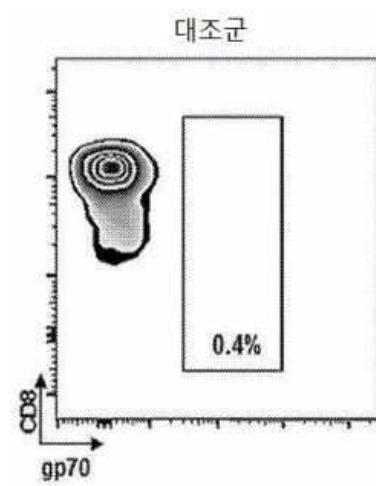
도면24g



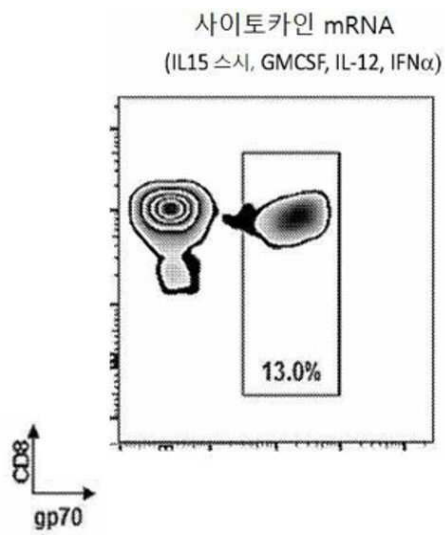
도면25



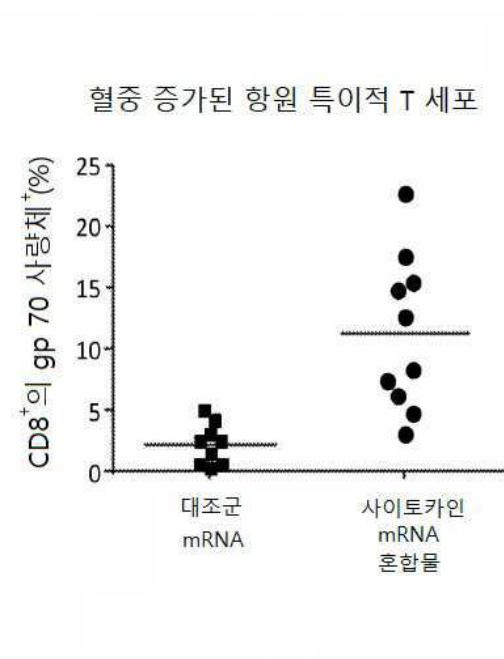
도면26a



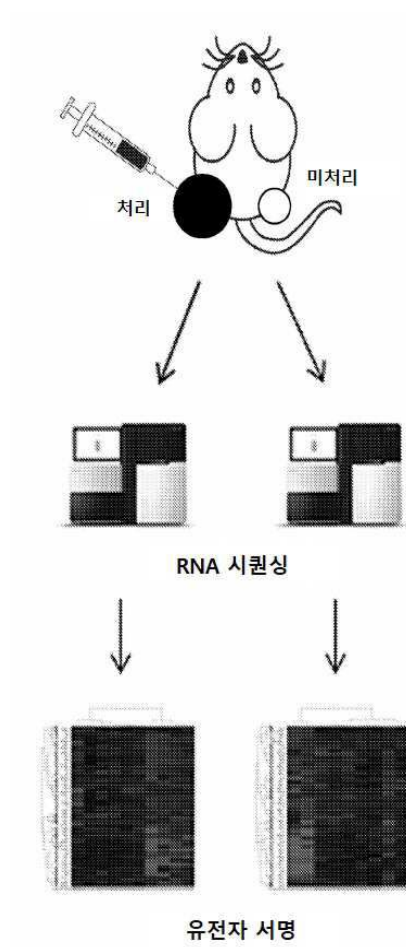
도면26b



도면26c



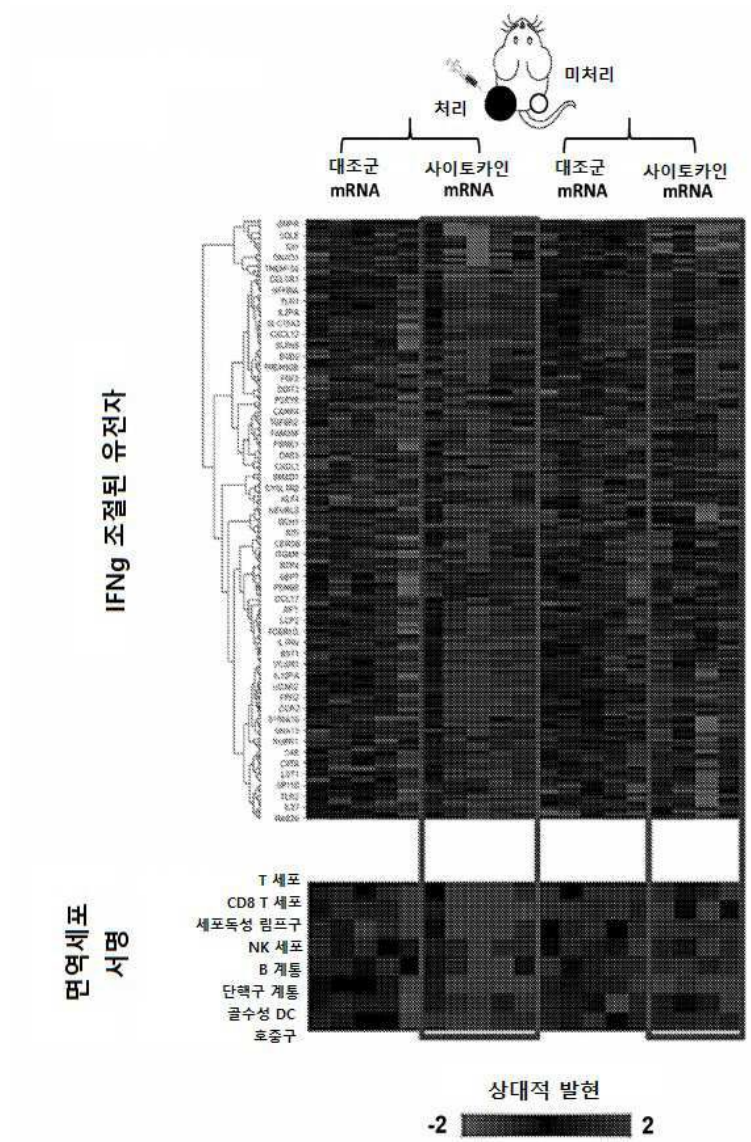
도면27a



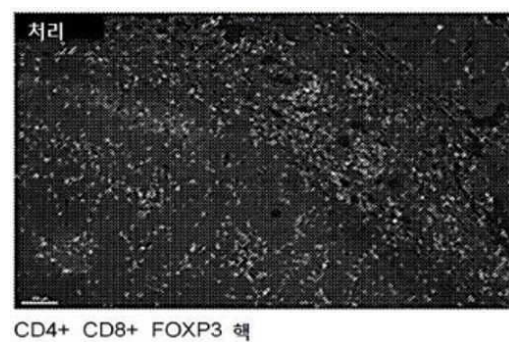
도면27b

지질다양류	
IFNβ	
TNF	
폴리 r1:c-IFNα	
IL18	
NRκB (복합체)	
인터페론 알파	
트레티노인	
포르폴 미라스테이트 아세테이트	
대장균 B5 지질다양류	
IRF7	
STAT1	
IFNα2	
TUR3	
CD40LG	
TUR9	
IL2	
MYD88	
대장균 B8 지질다양류	
TUR4	
RELA	
IRKKB	
IL1	
MURF1	
알모셀라 미네소타 R585 지질다양류	
TUR7	
TICAM1	
IL1A	
IL18	
IRF3	
DNRA	
MYCN	
FORN1	
VCAN	
L-도파	
Bay 11-7082	
SODS1	
GFI1	
SCAP	
N-아세틸-L-시스테인	
알레 파렌드	
U0126	
피롤리딘 디티오카바메이트	
TBR2	
NR2-3	
알파 카데닌	
NRBLG	
MYC	
IL1RN	
TRIM24	
SB203580	
IL10RA	

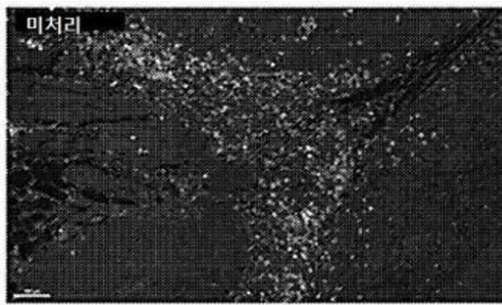
도면27c



도면 28a

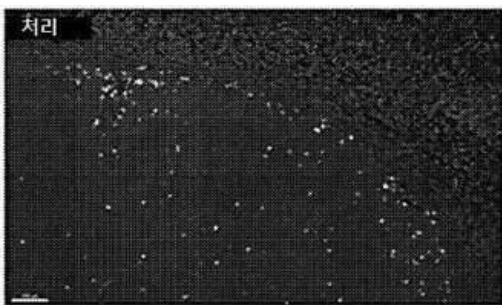


도면28b



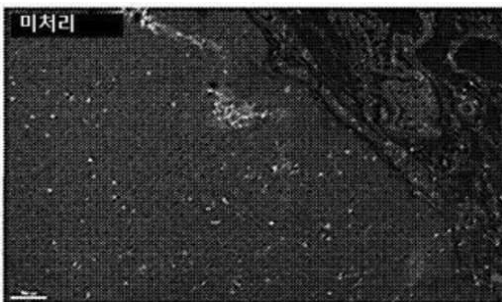
CD4+ CD8+ FOXP3 핵

도면28c



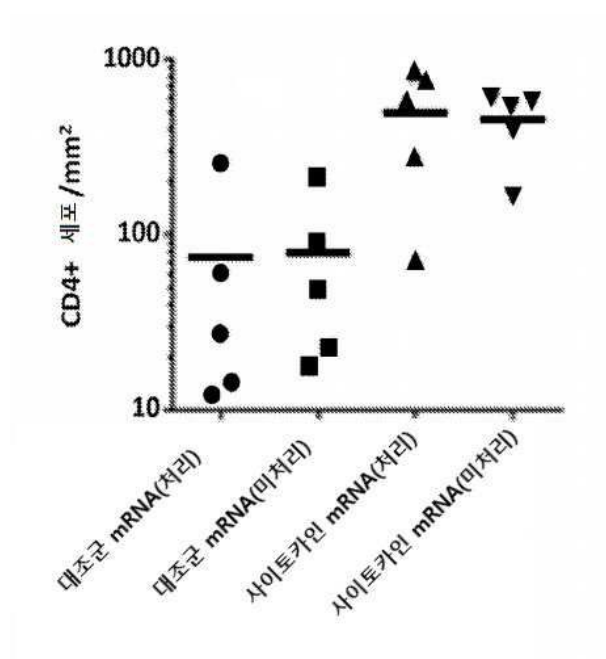
CD4+ CD8+ FOXP3 핵

도면28d

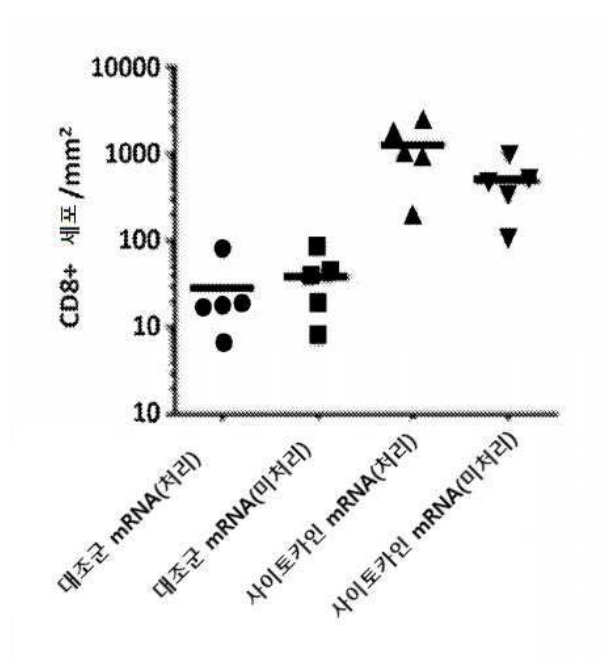


CD4+ CD8+ FOXP3 핵

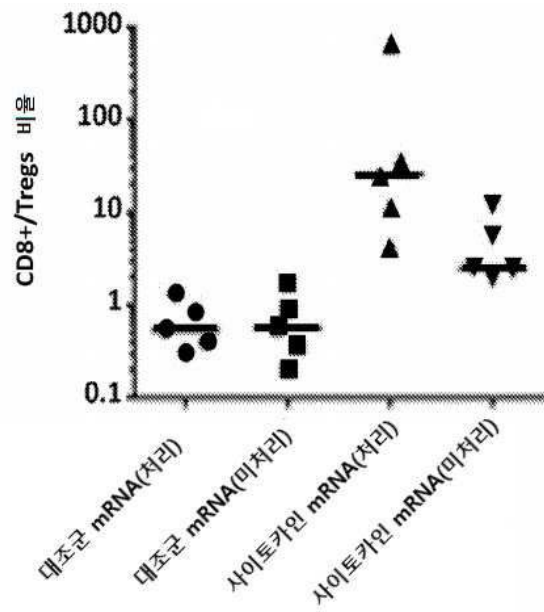
도면28e



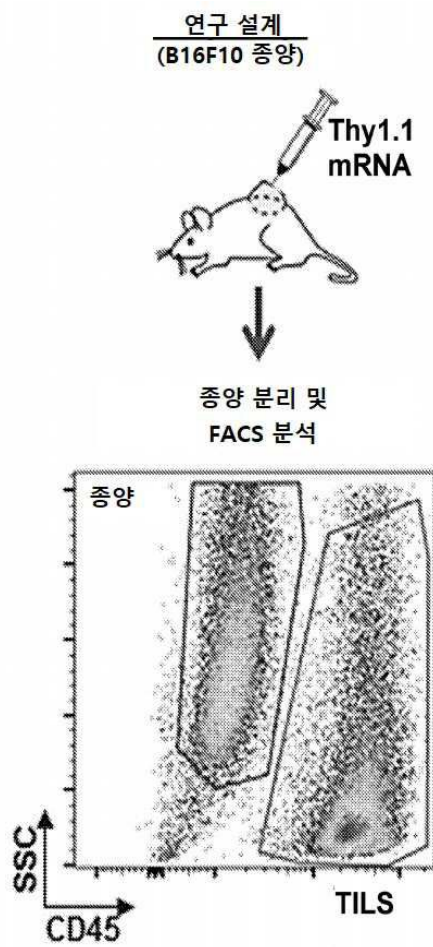
도면28f



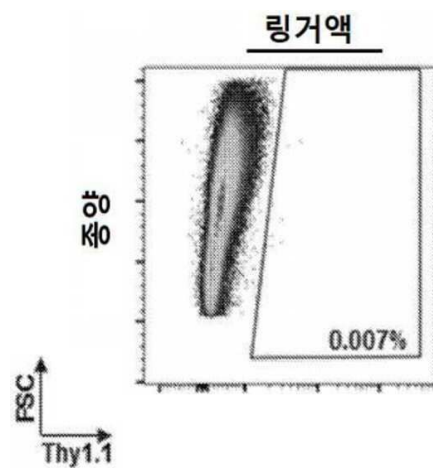
도면28g



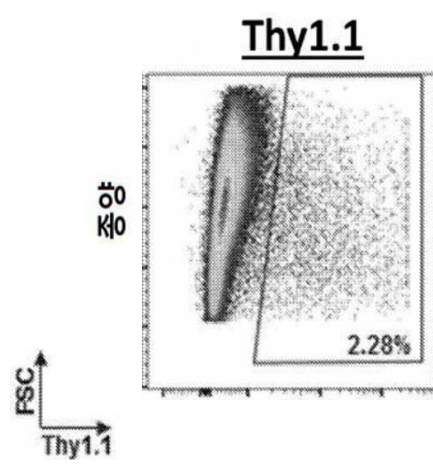
도면29a



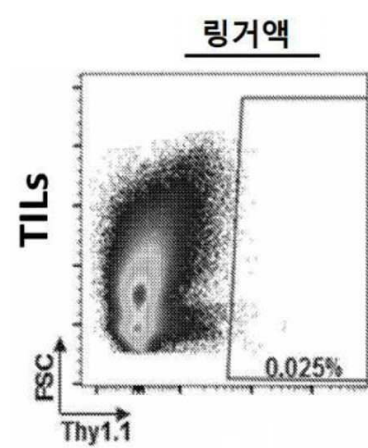
도면29b



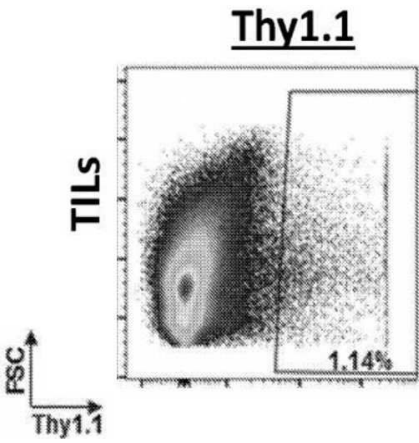
도면29c



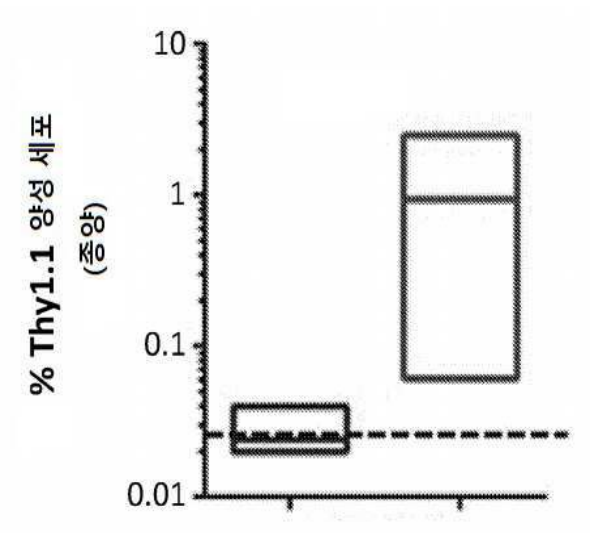
도면29d



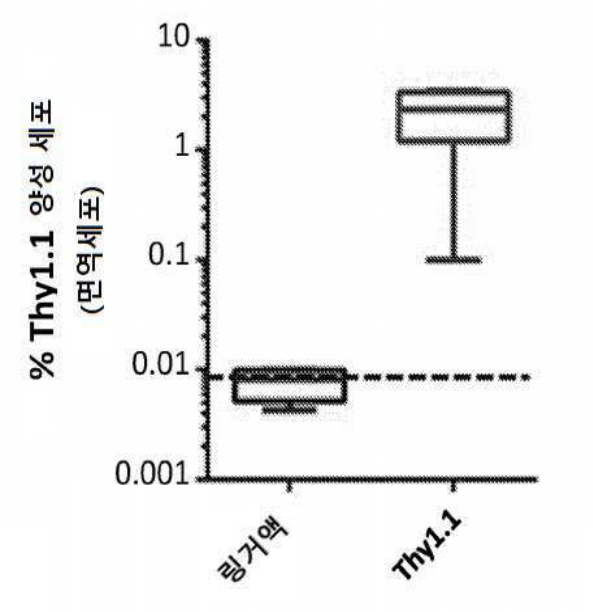
도면29e



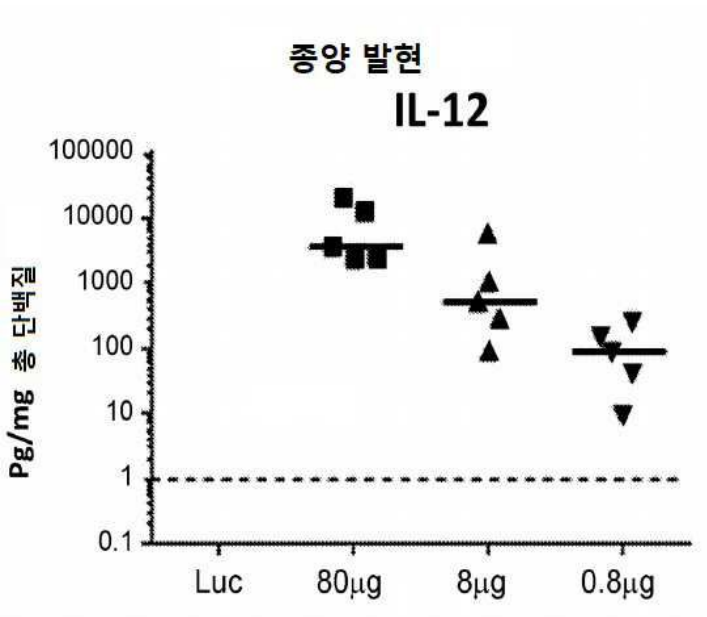
도면29f



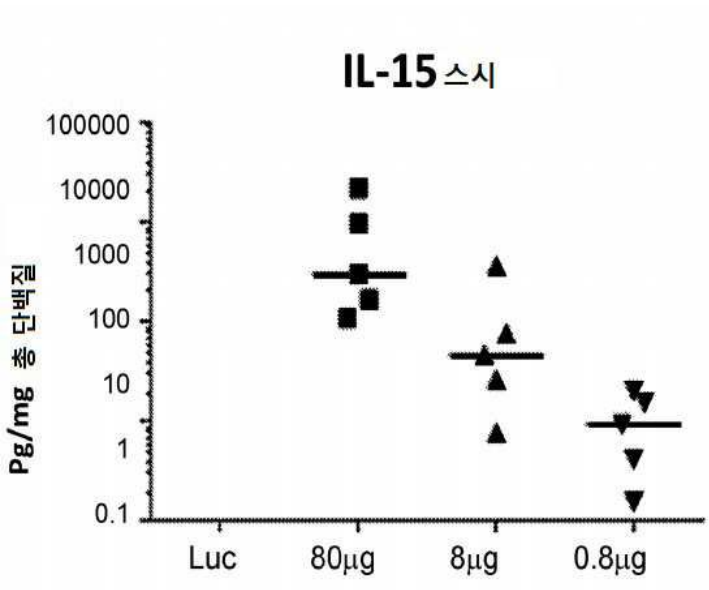
도면29g



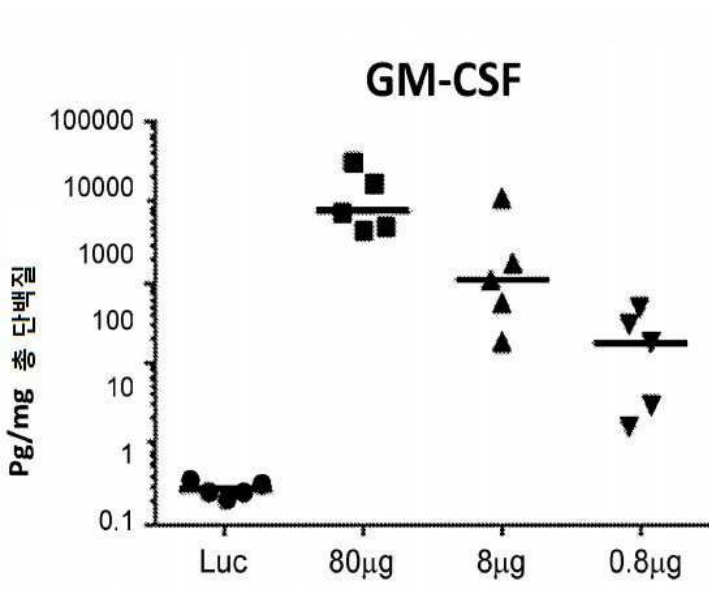
도면30a



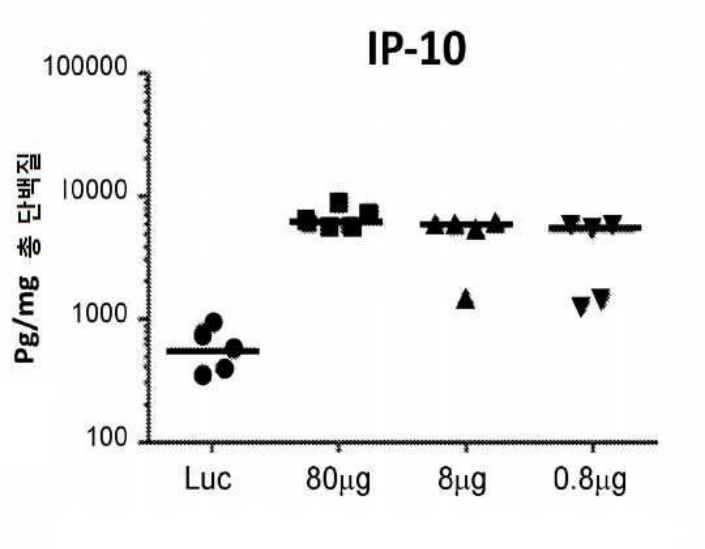
도면30b



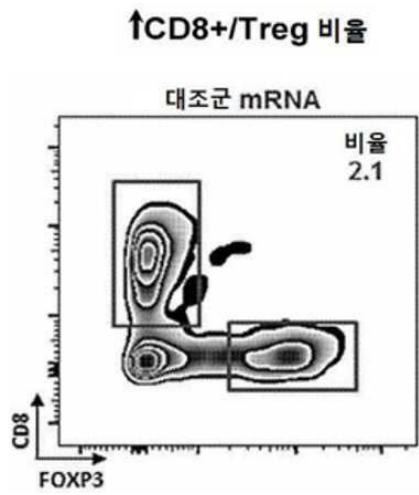
도면30c



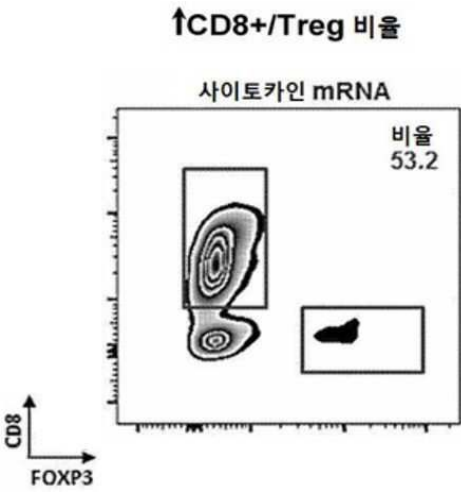
도면30f



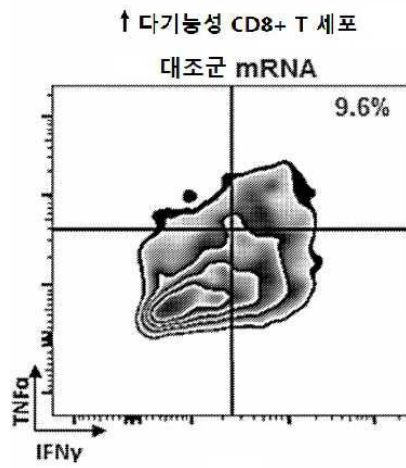
도면31a



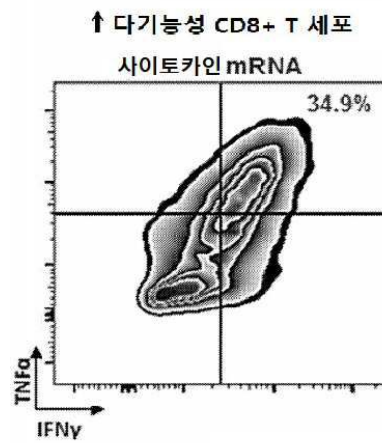
도면31b



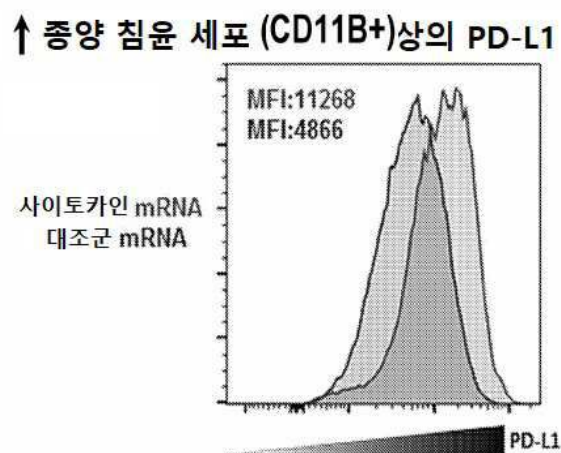
도면31c



도면31d

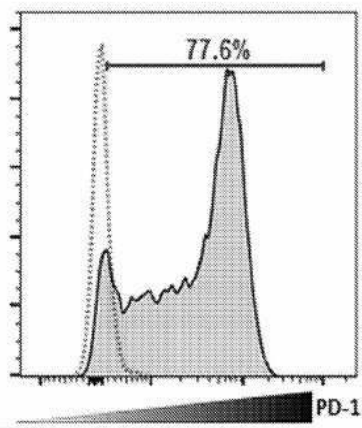


도면31e

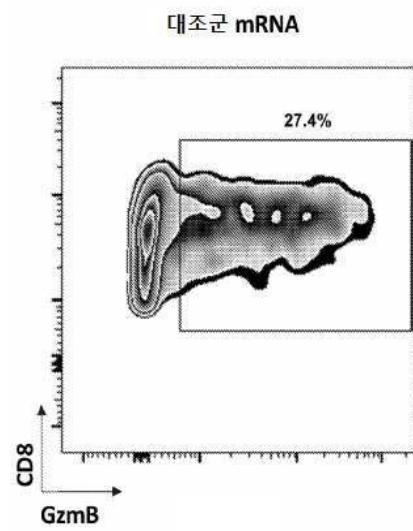


도면31f

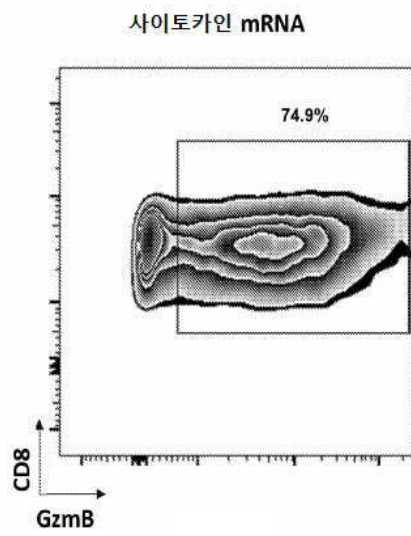
↑ 종양 침윤 CD8+ 상의 PD-1



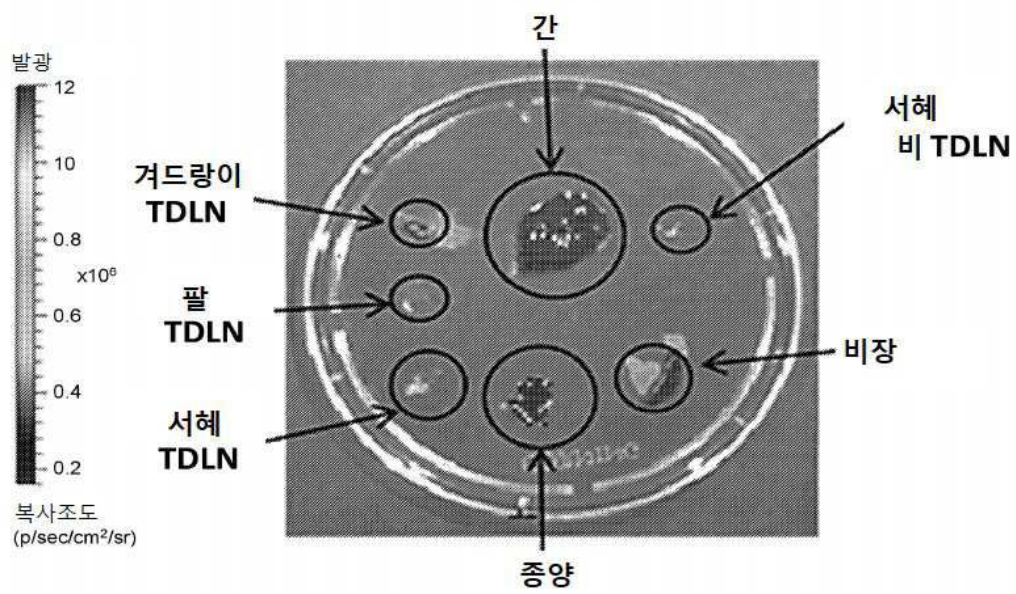
도면31g



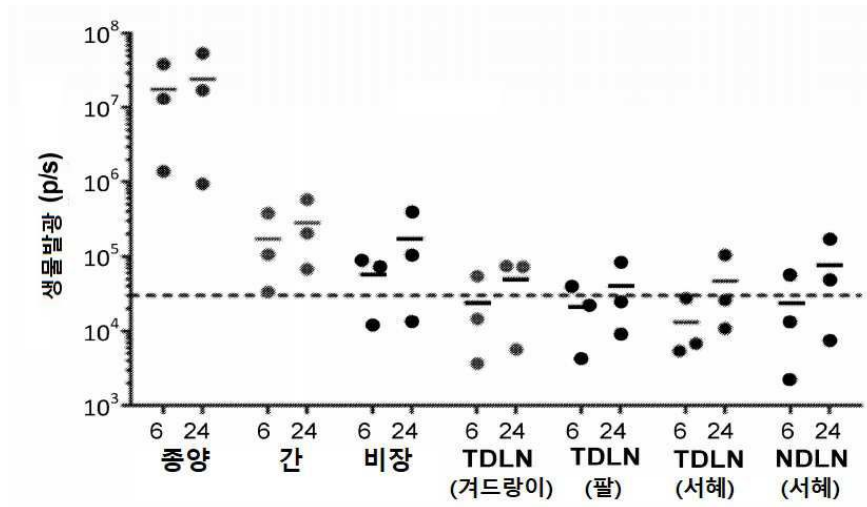
도면31h



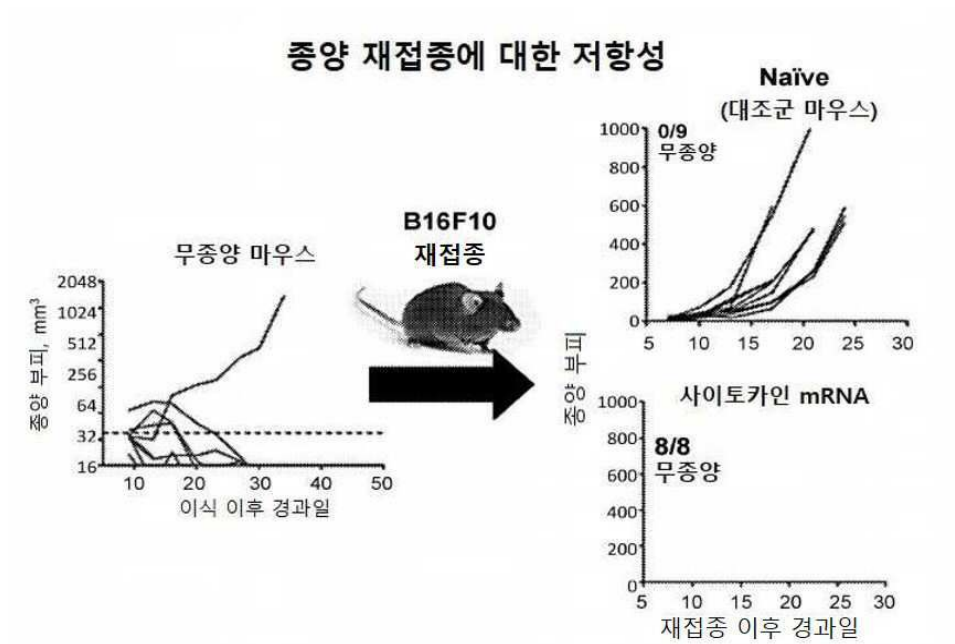
도면32a



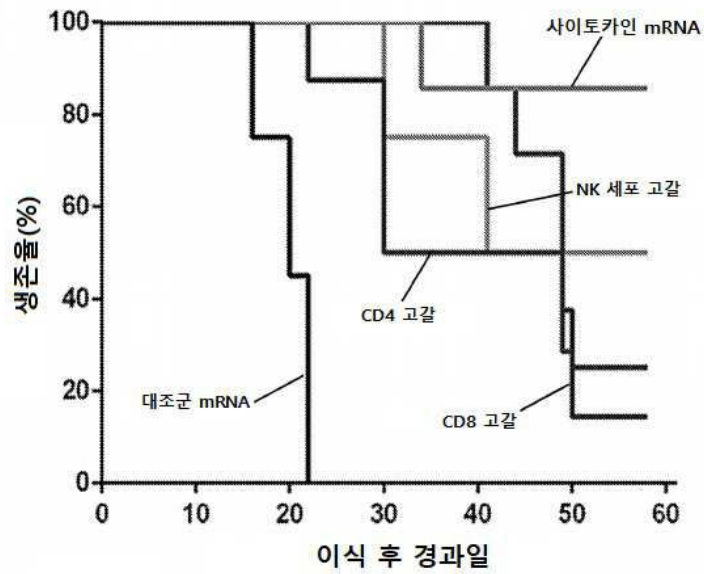
도면32b



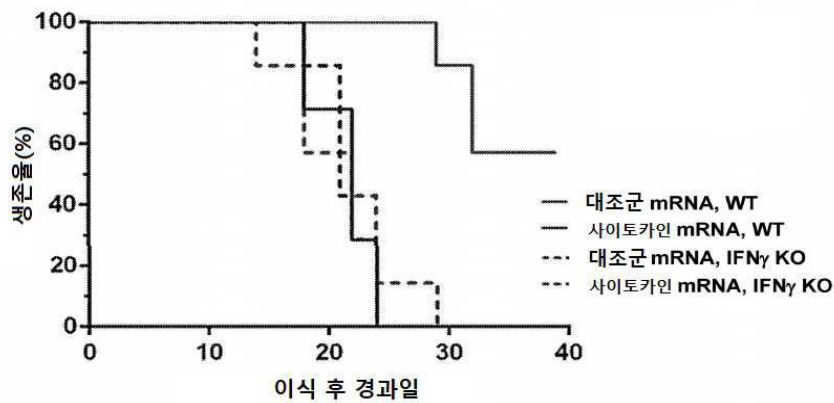
도면33



도면34



도면35



서열 목록

SEQUENCE LISTING

<110> Sanofi

BioNTech RNA Pharmaceuticals GMBH

<120> Therapeutic RNA

<130> 01183-0001-00PCT

<150> US 62/464,981

<151> 2017-02-28

<150> US 62/597,527

<151> 2017-12-12

<150> EP 17306089.8

<151> 2017-08-23

<160> 88

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA 5' UTR

<400> 1

gggcgaacta gtattcttct ggtccccaca gactcagaga gaacccgcca cc 52

<210> 2

<211> 52

<212>

> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA 5' UTR

<400> 2

gggcgaacua guauucuucu ggucccccaca gacucagaga gaacccgcca cc 52

<210> 3

<211> 145

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB 5' UTR

<400> 3

ggaataaact agtctcaaca caacatatac aaaacaaacg aatctcaagc aatcaagcat 60

tctacttcta ttgcagcaat ttaaatacatt tcttttaaag caaaagcaat ttcttgaaaa 120

ttttcaccat ttacgaacga tagcc 145

<210> 4

<211> 145

<212>

> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB 5' UTR

<400> 4

ggaauaaacu agucucaaca caacauauac aaaacaaacg aaucucaagc aaucaagcau 60

ucuacuucua uugcagcaau uuaaaucuu uuuuuuaag caaaagcaau uuucugaaaa 120

uuuucaccau uuacgaacga uagcc 145

<210> 5

<211> 52

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Alternative Mod 5' UTR

<400> 5

agacgaacta gtattcttct ggtccccaca gactcagaga gaacccgcca cc 52

<210> 6

<211> 52

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Alternative Mod 5' UTR

<400> 6

agacgaacua guauucuucu ggucgccaca gacucagaga gaacccgcca cc 52

<210> 7

<211> 427

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA/B 3' UTR

<400> 7

ctcgagctgg tactgcatgc acgcaatgct agctgcccct tteccgtcct gggtaccccg 60

agtctcccc gacctgggt cccaggtatg ctccacctc cacctgcccc actcaccacc 120

tctgctagtt ccagacacct cccaagcacg cagcaatgca gctcaaaacg cttagcctag 180

ccacaccccc acgggaaaca gcagtgatta accttttagca ataaacgaaa gttaaactaa 240

gctatactaa ccccagggtt ggtcaatttc gtgccagcca caccgagacc tgggtccagag 300

tcgctagccg cgtcgctaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagca tatgactaaa 360

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420

aaaaaaaaa 427

<210> 8

<211> 427

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA/B 3' UTR

<400> 8

cucgagcugg uacugcaugc acgcaaugcu agcugccccc uucccguccu ggguaccccc 60

agucuccccc gaccucgggu cccagguaug cuccaccuc caccugcccc acucaccacc 120

ucugcuaguu ccagacaccu cccaagcacg cagcaaugca gcucaaaacg cuuagccuag 180

ccacaccccc acgggaaaca gcagugauua accuuuagca auaaacgaaa guuuuacuaa 240

gcuaauacuaa cccagggguu ggucuuuuc gugccagcca caccgagacc ugguccagag 300

ucgcuagccg cgucgcuaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaagca uaugacuaaa 360

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 420

aaaaaaaaa 427

<210> 9

<211> 153

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 9

Met Tyr Arg Met Gln Leu Leu Ser Cys Ile Ala Leu Ser Leu Ala Leu

1 5 10 15

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

20 25 30

Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile

35 40 45

Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe

50 55 60

Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu

65 70 75 80

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

85 90 95

Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile

100 105 110

Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala

115	120	125	
Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe			
130	135	140	
Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu Thr			
145	150		
<210> 10			
<211> 465			
<212> DNA			
<213> Homo sapiens			
<400> 10			
atgtacagga tgcaactcct gtcttgcatt gcactaagtc ttgcacttgt cacaaacagt			60
gcacctactt caagtcttac aaagaaaaca cagctacaac tggagcattt actgctggat			120
ttacagatga ttttgaatgg aattaataat tacaagaatc ccaaactcac caggatgctc			180
acatttaagt ttacatgcc caagaaggcc acagaactga aacatcttca gtgtctagaa			240
gaagaactca aacctctgga ggaagtgcta aatttagctc aaagcaaaaa ctttacttta			300
agaccaggga acttaatcag caatatcaac gtaatagtgc tggaactaaa gggatctgaa			360
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgag acagcaacca ttgtagaatt tctgaacaga			420
tggattacct ttgtcaaag catcatctca acactgactt gatga			465
<210> 11			
<211> 465			
<212> DNA			
<213> Artificial sequence			
<220><223> Human optimized IL-2			
<400> 11			
atgtacagaa tgcagctgct gtcttgcatt gctctttctc ttgctcttgt gacaaattct			60
gtccaacat ctcttcaac aaagaaaaca cagcttcagc ttgaacacct tcttcttgat			120
cttcagatga ttctgaatgg aatcaacaat tacaataatc caaaactgac aagaatgctg			180
acatttaaat ttacatgcc aaagaaagca acagaactga aacaccttca gtgccttgaa			240
gaagaactga aacctctgga agaagtgtgc aatctggctc agagcaaaaa ttttcacctg			300
agaccaagag atctgatcag caacatcaat gtgattgtgc tggaactgaa aggatctgaa			360
acaacattca tgtgtgaata tgctgatgaa acagcaacaa ttgtggaatt tctgaacaga			420

tggatcacat ttgcccagtc aatcatttca acactgacat gatga 465

<210> 12

<211> 465

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 12

auguacagga ugcaacuccu gucuugcauu gcacuaaguc uugcacuugu cacaacacagu 60
gcaccuacuu caaguucuaac aaagaaaaca cagcuacaac uggagcauuu acugcuggau 120
uuacagauga uuuugaagg aaauaaauaau uacaagaau ccaaacucac caggaugcuc 180
acauuuuagu uuuaucagcc caagaaggcc acagaacuga aacauucuca gugucuagaa 240
gaagaacuca aaccucugga ggaagugcua aauuuagcuc aaagcaaaaa cuuucacuua 300
agacccaggg acuuauucag caauaucaac guaauguuuc uggaacuaaa gggaucugaa 360

acaacauuca ugugugaaua ugcugaugag acagcaacca uuguagaauu ucugaacaga 420
uggauuaccu uuugucaaag caucaucuca acacugacuu gauga 465

<210> 13

<211> 465

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Human optimized IL-2

<400> 13

auguacagaa ugcagcugcu gucuugcauu gcucuucuc uugcucuugu gacaaaauuc 60
gcuccaacau cuucuuaac aaagaaaaca cagcuucagc uugaacaccu ucuucuugau 120
cuucagauga uucugaagg aaucacaau uacaaaaauc caaacugac aagaugcug 180
acauuuuauu uuuaucagcc aaagaaagca acagaacuga aacaccuua gugccuugaa 240

gaagaacuga aaccucugga agaagugcug aaucuggcuc agagcaaaaa uuucaccug 300
agaccaagag aucugaucag caacaucaau gugauuguc uggaacugaa aggaucugaa 360
acaacauuca ugugugaaua ugcugaugaa acagcaacaa uuguggaauu ucugaacaga 420
uggaucacau uuugccaguc aaucuuuua acacugacau gauga 465

<210> 14

<211> 539

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Human IL-12sc

<400> 14

Met Cys His Gln Gln Leu Val Ile Ser Trp Phe Ser Leu Val Phe Leu
1 5 10 15

Ala Ser Pro Leu Val Ala Ile Trp Glu Leu Lys Lys Asp Val Tyr Val
20 25 30

Val Glu Leu Asp Trp Tyr Pro Asp Ala Pro Gly Glu Met Val Val Leu
35 40 45

Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Gly Ile Thr Trp Thr Leu Asp Gln
50 55 60

Ser Ser Glu Val Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile Gln Val Lys
65 70 75 80

Glu Phe Gly Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly Glu Val
85 90 95

Leu Ser His Ser Leu Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp
100 105 110

Ser Thr Asp Ile Leu Lys Asp Gln Lys Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe
115 120 125

Leu Arg Cys Glu Ala Lys Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys Trp Trp
130 135 140

Leu Thr Thr Ile Ser Thr Asp Leu Thr Phe Ser Val Lys Ser Ser Arg
145 150 155 160

Gly Ser Ser Asp Pro Gln Gly Val Thr Cys Gly Ala Ala Thr Leu Ser
165 170 175

Ala Glu Arg Val Arg Gly Asp Asn Lys Glu Tyr Glu Tyr Ser Val Glu
180 185 190

Cys Gln Glu Asp Ser Ala Cys Pro Ala Ala Glu Glu Ser Leu Pro Ile
195 200 205

Glu Val Met Val Asp Ala Val His Lys Leu Lys Tyr Glu Asn Tyr Thr
210 215 220

Ser Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn

225 230 235 240
 Leu Gln Leu Lys Pro Leu Lys Asn Ser Arg Gln Val Glu Val Ser Trp
 245 250 255
 Glu Tyr Pro Asp Thr Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Thr
 260 265 270

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

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

 Thr Val Glu Ala Cys Leu Pro Leu Glu Leu Thr Lys Asn Glu Ser Cys
 405 410 415
 Leu Asn Ser Arg Glu Thr Ser Phe Ile Thr Asn Gly Ser Cys Leu Ala
 420 425 430
 Ser Arg Lys Thr Ser Phe Met Met Ala Leu Cys Leu Ser Ser Ile Tyr
 435 440 445
 Glu Asp Leu Lys Met Tyr Gln Val Glu Phe Lys Thr Met Asn Ala Lys
 450 455 460

 Leu Leu Met Asp Pro Lys Arg Gln Ile Phe Leu Asp Gln Asn Met Leu
 465 470 475 480

Ala Val Ile Asp Glu Leu Met Gln Ala Leu Asn Phe Asn Ser Glu Thr
485 490 495
Val Pro Gln Lys Ser Ser Leu Glu Glu Pro Asp Phe Tyr Lys Thr Lys
500 505 510
Ile Lys Leu Cys Ile Leu Leu His Ala Phe Arg Ile Arg Ala Val Thr
515 520 525

Ile Asp Arg Val Met Ser Tyr Leu Asn Ala Ser
530 535

<210> 15

<211> 1623

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Human non-optimized IL-12sc

<400> 15

atgtgtcacc agcagttggc catctcttgg ttttccctgg ttttctggc atctccctc	60
gtggccatat gggaactgaa gaaagatgtt tatgtcgtag aattggattg gtatccggat	120
gccccggag aaatggtggc cctcacctgt gacacccctg aagaagatgg tatcacctgg	180
accttggacc agagcagtga ggtcttaggc tctggcaaaa cctgacat ccaagtcaaa	240
gagtttggag atgctggcca gtacacctgt cacaaggag gcgaggttct aagccattcg	300
ctctctctgc ttcacaaaaa ggaagatgga atttggcca ctgatatttt aaaggaccag	360
aaagaacca aaaataagac ctttctaaga tgcgaggcca agaattattc tggacgttc	420
acctgtcgtt ggctgacgac aatcagtact gatttgacat tcagtgtcaa aagcagcaga	480
gggtcttctg accccaagg ggtgacgtgc ggagctgcta cactctctgc agagagagtc	540
agaggggaca acaaggagta tgagtactca gtggagtgcc aggaggacag tgcctgcca	600
gtctctgagg agagtctgcc cattgaggtc atggtggatg ccgttcacaa gctcaagtat	660
gaaaactaca ccagcagctt cttcatcagg gacatcatca aacctgacct acccaagaac	720
ttgcagctga agccattaaa gaattctcgg caggtggagg tcagctggga gtacctgac	780
acctggagta ctccacattc ctacttctcc ctgacattct gcgttcaggt ccagggcaag	840
agcaagagag aaaagaaaga tagagtcttc acggacaaga cctcagccac ggtcatctgc	900
cgcaaaaatg ccagcattag cgtgcgggcc caggaccgct actatagctc atcttggagc	960
gaatgggcat ctgtgccctg cagtggctct agcggagggg gaggtctctc tggcggggga	1020

tctagcagaa acctccccgt ggccactcca gaccaggaa tgttcccatg ccttcaccac 1080

tcccaaaacc tgctgagggc cgtcagcaac atgctccaga aggccagaca aactctagaa 1140

ttttaccctt gcacttctga ggaaattgat catgaagata tcacaaaaga taaaaccagc 1200

acagtggagg ccgttttacc attggaatta accaagaatg agagttgcct aaattccaga 1260

gagacctctt tcataactaa tgggagttgc ctggcctcca gaaagacctc ttttatgatg 1320

gccctgtgcc ttagtagtat ttatgaagac ttgaagatgt accaggtgga gttcaagacc 1380

atgaatgcaa agcttctgat ggatcctaag aggcagatct ttctagatca aaacatgctg 1440

gcagttattg atgagctgat gcaggccctg aatttcaaca gtgagactgt gccacaaaaa 1500

tctctccttg aagaaccgga tttttataaa actaaaatca agctctgcat acttcttcat 1560

gctttcagaa ttccggcagt gactattgat agagtgatga gctatctgaa tgcttcctga 1620

tga 1623

<210> 16

<211> 1623

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Human optimized IL-12sc

<400> 16

atgtgtcacc agcagctggt gatctcatgg ttctccctgg tatttctggc atctctctt 60

gtcgcaatct gggaactgaa gaaagacgtg tatgtcgttg agctcgactg gtatccggat 120

gcgcctggcg agatggtggt gctgacctgt gacaccccag aggaggatgg gatcacttgg 180

acccttgatc aatcctccga agtgtctcggg tctggcaaga ctctgaccat acaagtgaag 240

gagtttggcg atgccgggca gtacacttgc cataagggcg gagaagttct gtcccactca 300

ctgctgctgc tgcacaagaa agaggacgga atttgagta ccgatatcct gaaagatcag 360

aaagagccca agaacaaaac cttcttgcgg tgcgaagcca agaactactc agggagattt 420

acttgttggg ggetgacgac gatcagcacc gatctgactt tctccgtgaa atcaagtagg 480

ggatcatctg accctcaagg agtcacatgt ggagcggcta ctctgagcgc tgaacgcgta 540

agaggggaca ataaggagta cgagtatagc gttgagtgcc aagaggatag cgcattgcccc 600

gccgccgaag aatcattgcc cattgaagtg atggtggatg ctgtacacaa gctgaagtat 660

gagaactaca caagctcctt cttcatccgt gacatcatca aaccagatcc tcctaagaac 720

ctccagctta aacctctgaa gaactctaga caggtggaag tgtcttggga gtatcccagc 780

acctggtcta caccacattc ctacttcagt ctacattct gcgttcaggt acagggcaag 840

tcctaaaggga agaagaagga tcgggtcttt acagataaaa caagtgccac cgttatatgc 900
 cggaagaatg cctctatttc tgtgcgtgcg caggacagat actatagcag ctcttgaggt 960
 gaatgggcca gtgtcccatg ttcagggtca tccggtgggtg gcggcagccc cggaggcgggt 1020

 agctccagaa atctccctgt ggctacacct gatccaggca tgtttccctg tttgcacat 1080
 agccaaaacc tcctgagagc agtcagcaac atgtccaga aagctagaca aacactggaa 1140
 ttctacccat gcacctccga ggaaatagat cagcaggata tctaagga caaaacaagc 1200
 actgtcgaag catgccttcc cttggaactg acaagaacg agagttgcct taattcaaga 1260
 gaaacatctt tcattacaaa cggtagctgc ttggcaagca gaaaaacatc ttttatgatg 1320
 gccctttgtc tgagcagtat ttataggat ctcaaatgt accagggtga gtttaagacc 1380
 atgaatgcca agctgctgat ggacccaaag agacagattt tcctcgatca gaatatgctg 1440

 gctgtgattg atgaactgat gcaggccttg aatttcaaca gcgaaaccgt tccccagaaa 1500
 agcagtcctg aagaacctga cttttataag accaagatca aactgtgtat tctcctgcat 1560
 gccttttagaa tcagagcagt cactatagat agagtgtatg cctacctgaa tgcttcctga 1620
 tga 1623

 <210> 17
 <211> 1623
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Human non-optimized IL-12sc
 <400> 17

 augugucacc agcaguuggu caucucuugg uuuucccugg uuuuucuggc aucuccccuc 60
 guggccauau gggaacugaa gaaagauguu uaugucguag aauuggauug guaucggau 120

 gccccuggag aaaugguggu ccucaccugu gacacccug aagaagaugg uaucaccugg 180
 accuuggacc agagcaguga ggucuuaggc ucuggcaaaa ccugaccau ccaagucaaa 240
 gaguuuggag augcuggcca guacaccugu cacaaggag gcgagguucu aagccauucg 300
 cuccugcugc uucacaaaaa ggaagaugga auuuggucca cugauuuuu aaaggaccag 360
 aaagaaccca aaaaauagac cuuucuaaga ugcgaggcca agaauuuuc uggacguuuc 420
 accugcuggu ggugacgac aaucaguacu gauuugacau ucagugucac aagcagcaga 480
 gggucuuucg accccaagg ggugacgugc ggagcugcua cacucucugc agagagaguc 540

 agaggggaca acaaggagua ugaguacuca guggagugcc aggaggacag ugccugccca 600
 gcugcugagg agagucugcc cauugagguc augguggaug ccguucacaa gcucaaguau 660

gaaaacuaca ccagcagcuu cuucaucagg gacaucauca aaccugaccc acccaagaac 720
 uugcagcuga agccauuaaa gaauucucgg cagguggagg ucagcuggga guaccucugac 780
 accuggagua cuccacauuc cuacuucucc cugacauucu gcguucaggu ccagggaag 840
 agcaagagag aaaagaaaga uagagucuuc acggacaaga ccucagccac ggucaucugc 900
 cgcaaaaug ccagcauuag cgugcgggcc caggaccgcu acuaauagcuc aucuuggagc 960

 gaaugggcgau cugugcccug caguggcucu agcggaggagg gaggcucucc uggcggggga 1020
 ucuagcagaa accucuccgu ggccacucca gaccaggaa uguuccaug ccuucaccac 1080
 ucccaaaacc ugcugagggc cgucagcaac augcuccaga aggccagaca aacucuagaa 1140
 uuuuacccuu gcacuucuga ggaaaugau caugaagaua ucacaaaaga uaaaaccagc 1200
 acaguggagg ccuguuuacc auuggaaua accaagaug agaguugccu aaauccaga 1260
 gagaccuuu ucuaacuaa ugggaguugc cuggccucca gaaagaccuc uuuuauaug 1320
 gccugugcc uuaguaguau uuaugaagac uugaagaugu accaggugga guucaagacc 1380

 augaaucaa agcuucugau ggauccuaag aggcagauca uucuagauca aaacaugcug 1440
 gcaguauug augagcugau gcaggcccug aauucaaca gugagacugu gccacaaaaa 1500
 uccuccuug aagaaccgga uuuuuauaaa acuaaaaauca agcucugcau acuuucua 1560
 gcuuucagaa uucgggcagu gacuauugau agagugauga gcuauucugaa ugcuccuga 1620
 uga 1623
 <210> 18
 <211> 1623
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Human optimized IL-12sc
 <400> 18
 augugucacc agcagcuggu gaucucaugg uucucccugg uauuucuggc aucuccuu 60

 gucgcaauca gggaacugaa gaaagacgug uaugucguug agcucgacug guauccggau 120
 gcgccuggcg agaugguggu gcugaccugu gacaccccag aggaggauug gaucacuugg 180
 accuuugauc aauccuccga agugcucggg ucuggcaaga cucugaccau acaagugaaa 240
 gaguuuggcg augccgggca guacacuugc cauaaggcg gagaaguucu guccacuca 300
 cugcugcugc ugcacaagaa agaggacgga auuuggagua ccgauauccu gaaagaucag 360
 aaagagccca agaacaaaac cuucucggg ugcgaagcca agaacuacuc agggagauuu 420
 acuuguuggu ggugacgac gaucagcacc gaucugacuu ucuccugaa aucaaguagg 480

ggaucaucug acccucaagg agucacau guagcgccua cucugagcgc ugaacgcgua 540
 agaggggaca auaaggagua cgaguauagc guugagugcc aagaggauag cgcaugcccc 600
 gccgccgaag aaucuuugcc cauugaagug augguggaug cuguacacaa gcugaaguau 660
 gagaacuaca caagcuccuu cuucauccgu gacaucauca aaccagaucc uccuaagaac 720
 cuccagcuua aaccucugaa gaacucuaga cagguggaag ugucuuggga guaucccgac 780
 accuggucua caccacauuc cuacuucagu cucacauucu gcguucaggu acagggcaag 840
 uccaaaaggg agaagaagga ucgggucuuu acagauaaaa caagugccac cguuauaugc 900

cggaagaauug ccucuauuuc ugugcgugcg caggacagau acuaauagcag cucuuggagu 960
 gaaugggcca guguccaug uucaggguca uccgguggug gcggcagccc cggaggcggu 1020
 agcuccagaa aucucccugu ggcuacaccu gauccaggca uguuucccug uuugcaccau 1080
 agccaaaacc uccugagagc agucagcaac augcuccaga aagcuagaca aacacuggaa 1140
 uucuaccuau gcaccuccga ggaaauagau cacgaggaua ucacuaagga caaaacaagc 1200
 acugucgaag caugccuucc cuuggaacug acaaagaacg agaguugccu uaaaucaaga 1260
 gaaacauuu ucuuuacaaa cgguagcugc uuggcaagca gaaaaacauc uuuuauaug 1320

gccuuuguc ugagcaguau uuaugaggau cuaaaaugu accaggugga guuuuagacc 1380
 augaauacca agcugcugau ggacccaaag agacagauuu uccucgauca gaauaugcug 1440
 gcugugauug augaacugau gcaggccuug aauuuaaca gcgaaaccgu ucccagaaa 1500
 agcagucuug aagaaccuga cuuuuauaag accaagauca aacuguguau ucuccugcau 1560
 gccuuuagaa ucagagcagu cacuauagau agagugaugu ccuaccugaa ugcuccuga 1620
 uga 1623

<210> 19
 <211> 188
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 19
 Met Ala Leu Thr Phe Ala Leu Leu Val Ala Leu Leu Val Leu Ser Cys
 1 5 10 15
 Lys Ser Ser Cys Ser Val Gly Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu
 20 25 30
 Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Arg Ile Ser
 35 40 45
 Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu

caagaaagt t taagaagtaa ggaatgatga 570

<210> 21

<211> 570

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Human optimized IFN-alpha-2b

<400> 21

atggccctga cttttgccct tctcgtggct ttgttggtgc tgagttgcaa atcttcctgt 60

agtgtcggat gtgatctgcc tcaaaccac agtctgggat ctaggagaac actgatgctg 120

ttggcacaga ttaggagaat tagcctcttt tctgcctga aggatagaca tgacttcggc 180

tttccccaag aggagtttgg caatcagttc cagaaagcgg aaacgattcc cgttctgcac 240

gagatgatcc agcagatctt caacctcttt tcaaccaaag acagctcagc agcctgggat 300

gagacactgc tggacaaatt ctacacagaa ctgtatcagc agcttaacga tctggaggca 360

tgcgtgatcc aagggttgg tgtgactgaa actccgctta tgaaggagga ctccattctg 420

gctgtacgga agtacttcca gagaataacc ctctatctga aggagaagaa gtactcacca 480

tgtgcttggg aagtcgtgag agccgaaatc atgagatcct tcagccttag caccaatctc 540

caggaatctc tgagaagcaa agagtgatga 570

<210> 22

<211> 570

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 22

auggccuuga ccuugcuuu acugguggcc cuccuggugc ucagcugcaa gucaagcugc 60

ucugugggcu gugaucugcc ucaaaccac agccugggua gcaggaggac cuugaugcuc 120

cuggcacaga ugaggagaau cucucuuuuc uccugcuuga aggacagaca ugacuuugga 180

uuuccccagg aggaguugg caaccaguuc caaaaggcug aaaccauucc uguccuccau 240

gagaugaucc agcagaucuu caaccuuuuc agcacaagg acucaucugc ugcuuuggau 300

gagaccucc uagacaaau cuacacugaa cucuaccagc agcugaauga ccuggaagcc 360

ugugugauac aggggguggg ggugacagag acuccccuga ugaaggagga cuccaucug 420

gcugugagga aaauacuucc aagaauacu cucuaucuga aagagaagaa auacagccu 480

ugugccuggg agguugucag agcagaaauc augagaucuu uuucuuugc aacaaacuug 540

caagaaaguu uaagaaguaa ggaaugauga 570

<210> 23

<211> 570

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Human optimized IFN- α -2b

<400> 23

auggccccuga cuuuugcccu ucucguggcu uuguuggugc ugaguugcaa aucuuccugu 60

agugucggau gugaucugcc ucaaaccac agucugggau cuaggagaac acugaugcug 120

uuggcacaga ugaggagaau uagccucuuu uccugccuga aggauagaca ugacuucggc 180

uuuccccaag aggaguugg caaucaguuc cagaaagcgg aaacgauucc cguucugcac 240

gagaugaucc agcagaucuu caaccucuuu ucaaccaaag acagcucagc agccugggau 300

gagacacugc uggacaaaau cuacacagaa cuguauacgc agcuuaacga ucuggaggca 360

ugcgugauc aagggguugg ugugacugaa acuccgcuu ugaaggagga cuccauucug 420

gcuguacgga aguacuucca gagaauaacc cucuaucuga aggagaagaa guacucacca 480

ugugcuuggg aagucgugag agccgaauc augagaucuu ucagccuuag caccaaucuc 540

caggaaucuc ugagaagcaa agagugauga 570

<210> 24

<211> 241

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Human IL-15 sushi

<400> 24

Met Ala Pro Arg Arg Ala Arg Gly Cys Arg Thr Leu Gly Leu Pro Ala

1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Leu Leu Arg Pro Pro Ala Thr Arg Gly Ile Thr

20 25 30

Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val Lys Ser

35 40 45

Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly Phe Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp
85 90 95

Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Gly Gly Gly Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Gln Asn
115 120 125

Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu Asp Leu Ile Gln
130 135 140

Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser Asp Val His Pro
145 150 155 160

Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val
165 170 175

Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp Thr Val Glu Asn
180 185 190

Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn Gly Asn Val Thr
195 200 205

Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu Lys Asn Ile Lys
210 215 220

Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met Phe Ile Asn Thr
225 230 235 240

Ser

<210> 25

<211> 729

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Human IL-15 sushi

<400> 25

atggccccgc ggcgggcgcg cggctgccgg accctcggtc tcccggcgct gctactgctg 60
ctgctgctcc ggccgccggc gacgcggggc atcacgtgcc ctcccccat gtccgtggaa 120
cacgcagaca tctgggtcaa gagctacagc ttgtactcca gggagcggta catttgtaac 180

tctggtttca agcgtaaagc cggcacgtcc agcctgacgg agtgcgtgtt gaacaaggcc	240
acgaatgtcg ccactggac aacccccagt ctcaaagca ttagagaccc tgccttggtt	300
caccaaaggc cagcgccacc cgggggagga tctggcggcg gtgggtctgg cgggggatct	360
ggcggaggag gaagcttaca gaactgggtg aatgtaataa gtgatttgaa aaaaattgaa	420
gatcttattc aatctatgca tattgatgct actttatata cggaaagtga tgttcacccc	480
agttgcaaag taacagcaat gaagtgcctt ctcttgaggt tacaagttat ttcacttgag	540
tccggagatg caagtattca tgatacagta gaaaatctga tcacctagc aaacaacagt	600
ttgtcttcta atgggaatgt aacagaatct ggatgcaaag aatgtgagga actggaggaa	660
aaaaatatta aagaattttt gcagagtttt gtacatattg tccaaatgtt catcaacact	720
tcttgatga	729
<210> 26	
<211> 729	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> Human IL-15 sushi	
<400> 26	
auggccccgc ggccggcgcg cggcugccgg acccucgguc ucccggcgcu gcuacugcug	60
cugcugcucc ggccgccggc gacgcggggc aucacugcc cccccccau guccguggaa	120
cacgcagaca ucugggucaa gagcuacagc uuuguacucca gggagcggua cauuuguaac	180
ucugguuuca agcguaaagc cggcacgucc agccugacgg agugcguguu gaacaaggcc	240
acgaauugcg ccacuggac aacccccagu cuaaaugca uuagagaccc ugcccugguu	300
caccaaaggc cagcgccacc cgggggagga ucuggcggcg gugggucugg cgggggaucu	360
ggcggaggag gaagcuuaca gaacugggug aauguaauaa gugauuugaa aaaaauugaa	420
gaucuuauuc aaucuaugca uauugaugcu acuuuauuaa cggaaaguga uguucacccc	480
aguugcaaag uaacagcaau gaagugcuuu cucuuggagu uacaaguauu uucacuugag	540
uccggagaug caaguauuca ugauacagua gaaaaucuga ucauccuagc aaacaacagu	600
uugucuucua augggaaugu aacagaauca ggaucaaaag aaugugagga acuggaggaa	660
aaaaauauua aagaauuuuu gcagaguuuu guacauauug uccaauguu caucaacacu	720
ucuugauga	729
<210> 27	
<211> 144	

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 27

Met Trp Leu Gln Ser Leu Leu Leu Leu Gly Thr Val Ala Cys Ser Ile

1 5 10 15

Ser Ala Pro Ala Arg Ser Pro Ser Pro Ser Thr Gln Pro Trp Glu His

20 25 30

Val Asn Ala Ile Gln Glu Ala Arg Arg Leu Leu Asn Leu Ser Arg Asp

35 40 45

Thr Ala Ala Glu Met Asn Glu Thr Val Glu Val Ile Ser Glu Met Phe

50 55 60

Asp Leu Gln Glu Pro Thr Cys Leu Gln Thr Arg Leu Glu Leu Tyr Lys

65 70 75 80

Gln Gly Leu Arg Gly Ser Leu Thr Lys Leu Lys Gly Pro Leu Thr Met

85 90 95

Met Ala Ser His Tyr Lys Gln His Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Ser

100 105 110

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

115 120 125

Asp Phe Leu Leu Val Ile Pro Phe Asp Cys Trp Glu Pro Val Gln Glu

130 135 140

<210> 28

<211> 438

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 28

atgttgctcc agagcctgct gctcttgggc actgtggcct gctccatctc tgcacccgcc 60

cgctcgccca gccccagcac gcagccctgg gagcatgtga atgcatcca ggaggcccgg 120

cgtctgctga acctgagtag agacactgct gctgagatga atgaacagt agaagtcac 180

tcagaaatgt ttgacctcca ggagccgacc tgcctacaga cccgcctgga gctgtacaag 240

cagggcctgc ggggcagcct caccaagctc aagggccct tgaccatgat ggccagccac 300

tacaagcagc actgcctccc aaccccgaa acttctgtg caaccagat taccacattt 360

gaaagtttca aagagaacct gaaggacttt ctgcttgta tcccccttga ctgctgggag 420

ccagtccagg agtgatga 438

<210> 29

<211> 438

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 29

auguggcucc agagccugcu gcucuugggc acuguggccu gcuccaucuc ugcacccgcc 60

cgcucgccc gcccagcac gcagccugg gagcauguga augccaucca ggaggcccgg 120

cgucugcuga accugaguag agacacugcu gcugagauga augaaacagu agaagucauc 180

ucagaaaugu uugaccucca ggagccgacc ugccuacaga cccgccugga gcuguacaag 240

cagggccugc ggggcagccu caccaagcuc aagggccccu ugaccaugau ggccagccac 300

uacaagcagc acugcccucc aaccccgaa acuuccugug caaccagau uaucacuuu 360

gaaaguuuca aagagaaccu gaaggacuuu cugcuuguca ucccuuuga cugcugggag 420

ccaguccagg agugauga 438

<210> 30

<211> 161

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA IL-2 (human IL-2 in combination with a mouse optimized
secretion sequence)

<400> 30

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

1 5 10 15

Leu Ala Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser Gly Ser Ala Pro Thr Ser

20 25 30

Ser Ser Thr Lys Lys Thr Gln Leu Gln Leu Glu His Leu Leu Leu Asp

35 40 45

Leu Gln Met Ile Leu Asn Gly Ile Asn Asn Tyr Lys Asn Pro Lys Leu

50 55 60

Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu

65 70 75 80

Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
85 90 95

Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
100 105 110

Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu
115 120 125

Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
130 135 140

Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
145 150 155 160

Thr

<210> 31

<211> 959

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA IL-2 (5'UTR-CDS-3'UTR)

<400> 31

gggcgaacta gtattcttct ggtccccaca gactcagaga gaaccgcga ccatgagagt	60
gaccgcccc agaaccctga tcctgctgct gtctggcgcc ctggccctga cagagacatg	120
ggccggaagc ggatccgcac ctacttcaag ttctacaaag aaaacacagc tacaactgga	180
gcatttactt ctggatttac agatgatttt gaatggaatt aataattaca agaatcccaa	240
actcaccagg atgtcacat ttaagtttta catgccaag aaggccacag aactgaaaca	300
tcttcagtgt ctagaagaag aactcaaacc tctggaggaa gtgctaaatt tagctcaaag	360
caaaaacttt cacttaagac ccagggactt aatcagcaat atcaacgtaa tagttctgga	420
actaaaggga tcigaaacaa cattcatgtg tgaatatgct gatgagacag caaccattgt	480
agaatttctg aacagatgga ttaccttttg tcaaagcatc atctcaacac tgacttgact	540
cgagagctcg ctttcttgct gtccaatttc tattaaaggt tcctttgttc cctaagtcca	600
actactaaac tgggggatat tatgaagggc cttgagcatc tggattctgc ctaataaaaa	660
acatttattt tcattgtctgc gtcgagagct cgttttcttg ctgtccaatt tctattaaag	720
gttcctttgt tcctaagtc caactactaa actgggggat attatgaagg gccttgagca	780

tctggattct gcctaataaa aaacatttat ttctattgct gcgtcgagac ctggtccaga 840
gtcgtagca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaag catatgacta aaaaaaaaaa 900
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 959
<210> 32
<211> 959
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> ModA IL-2
<400> 32
gggcgaacua guauucuucu ggucgccaca gacucagaga gaacccgcca ccaugagagu 60
gaccgcccc agaaccuga uccugcugcu gucuggcgcc cuggcccuga cagagacaug 120
ggccggaagc ggaucgcac cuacucaag uucuacaaag aaaacacagc uacaacugga 180
gcauuuacuu cuggauuuac agaugauuuu gaauggaauu aauauuaca agaauccaa 240
acucaccagg augcucacau uuaaguuuaa caugcccaag aaggccacag aacugaaaca 300
ucuucagugu cuagaagaag aacucaaaac ucuggaggaa gugcuauuu uagcucaaag 360
caaaaacuuu cacuaagac ccagggacuu aaucagcau aucaacguua uaguucugga 420
acuaaaggga ucugaaaca cauucaugug ugaauaugcu gaugagacag caaccuugu 480
agaauuucug aacagaugga uuaccuuuug ucaaagcauc aucucaacac ugacuugacu 540
cgagagcucg cuuucuugcu guccaauuuc uauuaaaggu uccuuuguuc ccuaagucca 600
acuacuaaac ugagggaauu uaugaagggc cuugagcauc uggauucugc cuaauaaaaa 660
acauuuuuu ucauugcugc gucgagagcu cgcuuucuug cuguccaauu ucuaauaaag 720
guuccuuugu ucccuaaguc caacuacuaa acugggggau auuaugaagg gccuugagca 780
ucuggauucu gccuaauaaa aaacauuuau uuucuuugcu gcgucgagac cugguccaga 840
gucgcuagca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaag cauugacua aaaaaaaaaa 900
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 959
<210> 33
<211> 161
<212> PRT
<213> Artificial sequence
<220><223> ModB IL-2
<400> 33
Met Gly Ala Met Ala Pro Arg Thr Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala

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

 50 55 60
 Thr Arg Met Leu Thr Phe Lys Phe Tyr Met Pro Lys Lys Ala Thr Glu
 65 70 75 80
 Leu Lys His Leu Gln Cys Leu Glu Glu Glu Leu Lys Pro Leu Glu Glu
 85 90 95
 Val Leu Asn Leu Ala Gln Ser Lys Asn Phe His Leu Arg Pro Arg Asp
 100 105 110
 Leu Ile Ser Asn Ile Asn Val Ile Val Leu Glu Leu Lys Gly Ser Glu

 115 120 125
 Thr Thr Phe Met Cys Glu Tyr Ala Asp Glu Thr Ala Thr Ile Val Glu
 130 135 140
 Phe Leu Asn Arg Trp Ile Thr Phe Cys Gln Ser Ile Ile Ser Thr Leu
 145 150 155 160
 Thr

<210> 34

<211> 1039

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB IL-2 (5'UTR-CDS-3'UTR)

<400> 34

ggaataaact agtctcaaca caacatatac aaaacaaacg aatctcaagc aatcaagcat 60

 tctacttcta ttgcagcaat ttaaatacatt tcttttaaag caaaagcaat tttctgaaaa 120
 ttttcaccat ttacgaacga tagccatggg cgccatggcc cctagaacat tgctcctgct 180
 gctggccgct gccctggccc ctacacagac aagagctgga cctggatccg cacctacttc 240
 aagttctaca aagaaaacac agctacaact ggagcattta cttctggatt tacagatgat 300

tttgaatgga attaataatt acaagaatcc caaactcacc aggatgctca catttaagtt 360
ttacatgccc aagaaggcca cagaactgaa acatcttcag tgtctagaag aagaactcaa 420
acctctggag gaagtgctaa atttagctca aagcaaaaac tttcacttaa gaccagggga 480

cttaatcagc aatatcaacg taatagttct ggaactaaag ggatctgaaa caacattcat 540
gtgtgaatat gctgatgaga cagcaacat ttagaattt ctgaacagat ggattacctt 600
ttgtcaaagc atcatctcaa cactgacttg actcgacgtc ctggtactgc atgcacgcaa 660
tgctagtgc ccctttcccg tctgggtac cccgagtcct ccccgacctc gggtcccagg 720
tatgtccca cctccacctg ccccactcac cacctctgct agttccagac acctcccaag 780
cacgcagcaa tgcagctcaa aacgcttagc ctagccacac ccccgaggga aacagcagtg 840
attaaccttt agcaataaac gaaagtttaa ctaagctata ctaacccag ggttggtcaa 900

tttcgtgccg gccacacctt cgagctagca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaaag 960
catatgacta aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1039

<210> 35
<211> 1039
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> ModB IL-2
<400> 35

ggaauaaacu agucucaaca caacauauac aaaacaaacg aaucucaagc aaucagcau 60
ucuacuucua uugcagcaau uuauuauuu uuuuuuuuag caaaagcaau uuucugaaaa 120
uuuucaccau uuacgaacga uagccauggg cgccauggcc ccuagaacau ugcuccugcu 180

gcuggccgcu gcccuggccc cuacacagac aagagcugga ccuggaucg caccuacuuc 240
aaguucuaa aagaaaacac agcuacaacu ggagcauuua cuucuggauu uacagaugau 300
uuugaauuga auuauauuu acaagaaucc caaacucacc aggaugcuca cauuuaguu 360
uuacaugccc aagaaggcca cagaacugaa acaucuucag ugucuagaag aagaacuaa 420
accucuggag gaagugcuua auuuagcuca aagcaaaaac uuucacuuaa gaccagggga 480
cuuaucagc aaauucaacg uaauaguucu ggaacuaaag ggaucugaaa caacauucau 540
gugugaauau gcugaugaga cagcaaccau uguagaauuu cugaacagau ggauuaccuu 600

uugucuaagc aucaucuaa cacugacuug acucgacguc cugguacugc augcacgcaa 660
ugcuagcugc ccuuuucccg uccuggguac cccgagucuc ccccgaccuc ggguccagg 720

uaugcuccca ccuccaccug cccacucac caccucugcu aguuccagac accucccaag 780
 cagcagcaa ugcagcucaa aacgcuuagc cuagccacac cccacggga aacagcagug 840
 auuaaccuuu agcauaaac gaaaguuaa cuaagcuaua cuaaccccag gguuggucaa 900
 uuucgugcca gccacacccu cgagcuagca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaaag 960
 cauaugacua aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1039

<210> 36

<211> 544

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA murine IL-12

<400> 36

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

1 5 10 15

Leu Ala Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser Gly Ser Met Trp Glu Leu

20 25 30

Glu Lys Asp Val Tyr Val Val Glu Val Asp Trp Thr Pro Asp Ala Pro

35 40 45

Gly Glu Thr Val Asn Leu Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Asp Ile

50 55 60

Thr Trp Thr Ser Asp Gln Arg His Gly Val Ile Gly Ser Gly Lys Thr

65 70 75 80

Leu Thr Ile Thr Val Lys Glu Phe Leu Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys

85 90 95

His Lys Gly Gly Glu Thr Leu Ser His Ser His Leu Leu Leu His Lys

100 105 110

Lys Glu Asn Gly Ile Trp Ser Thr Glu Ile Leu Lys Asn Phe Lys Asn

115 120 125

Lys Thr Phe Leu Lys Cys Glu Ala Pro Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr

130 135 140

Cys Ser Trp Leu Val Gln Arg Asn Met Asp Leu Lys Phe Asn Ile Lys

145 150 155 160

Ser Ser Ser Ser Ser Pro Asp Ser Arg Ala Val Thr Cys Gly Met Ala

165 170 175

Ser Leu Ser Ala Glu Lys Val Thr Leu Asp Gln Arg Asp Tyr Glu Lys

180 185 190

Tyr Ser Val Ser Cys Gln Glu Asp Val Thr Cys Pro Thr Ala Glu Glu

195 200 205

Thr Leu Pro Ile Glu Leu Ala Leu Glu Ala Arg Gln Gln Asn Lys Tyr

210 215 220

Glu Asn Tyr Ser Thr Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp

225 230 235 240

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

245 250 255

Val Ser Trp Glu Tyr Pro Asp Ser Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe

260 265 270

Ser Leu Lys Phe Phe Val Arg Ile Gln Arg Lys Lys Glu Lys Met Lys

275 280 285

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

290 295 300

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

305 310 315 320

Gln Asp Arg Tyr Tyr Asn Ser Ser Cys Ser Lys Trp Ala Cys Val Pro

325 330 335

Cys Arg Val Arg Ser Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Arg

340 345 350

Val Ile Pro Val Ser Gly Pro Ala Arg Cys Leu Ser Gln Ser Arg Asn

355 360 365

Leu Leu Lys Thr Thr Asp Asp Met Val Lys Thr Ala Arg Glu Lys Leu

370 375 380

Lys His Tyr Ser Cys Thr Ala Glu Asp Ile Asp His Glu Asp Ile Thr

385 390 395 400

Arg Asp Gln Thr Ser Thr Leu Lys Thr Cys Leu Pro Leu Glu Leu His

405 410 415
Lys Asn Glu Ser Cys Leu Ala Thr Arg Glu Thr Ser Ser Thr Thr Arg

420 425 430
Gly Ser Cys Leu Pro Pro Gln Lys Thr Ser Leu Met Met Thr Leu Cys

435 440 445
Leu Gly Ser Ile Tyr Glu Asp Leu Lys Met Tyr Gln Thr Glu Phe Gln

450 455 460
Ala Ile Asn Ala Ala Leu Gln Asn His Asn His Gln Gln Ile Ile Leu

465 470 475 480
Asp Lys Gly Met Leu Val Ala Ile Asp Glu Leu Met Gln Ser Leu Asn

485 490 495
His Asn Gly Glu Thr Leu Arg Gln Lys Pro Pro Val Gly Glu Ala Asp

500 505 510
Pro Tyr Arg Val Lys Met Lys Leu Cys Ile Leu Leu His Ala Phe Ser

515 520 525
Thr Arg Val Val Thr Ile Asn Arg Val Met Gly Tyr Leu Ser Ser Ala

530 535 540

<210> 37

<211> 2111

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA murine IL-12 (5'UTR-CDS-3'UTR)

<400> 37

gggcgaacta gtattcttct ggtcccccaca gactcagaga gaaccgcga ccatgagagt 60
gaccgcccc agaacctga tctgtctgt gtctggcgcc ctggccctga cagagacatg 120
ggccggaagc ggatccatgt gggagctgga gaaagacgtt tatgtttag aggtggactg 180
gactcccgat gccctggag aaacagtga cctcacctgt gacacgcctg aagaagatga 240
catcacctgg acctcagacc agagacatgg agtcataggc tctggaaaga cctgaccat 300
cactgtcaaa gagtttctag atgttgcca gtacacctgc cacaaggag gcgagactct 360

gagccactca catctgtctg tccacaagaa ggaaaatgga atttgggtcca ctgaaatatt 420
aaaaaatttc aaaaacaaga ctttctgaa gtgtgaagca ccaaattact ccggacggtt 480

cacgtgctca tggctgggtgc aaagaaacat ggacttgaag ttcaacatca agagcagtag 540
cagttccctt gactctcggg cagtgcacatg ttgaatggcg tctctgtctg cagagaaggt 600
cacactggac caaagggact atgagaagta ttcagtgtcc tgccaggagg atgtcacctg 660
cccaactgcc gaggagaccc tgccattga actggcgttg gaagcacggc agcagaataa 720
atatgagaac tacagcacca gcttcttcat caggacatc atcaaaccag acccgcccaa 780

gaacttgag atgaagcctt tgaagaactc acaggtggag gtcagctggg agtacctga 840
ctcctggagc actccccatt cctacttctc cctcaagttc tttgttcgaa tccagcgcaa 900
gaaagaaaag atgaaggaga cagaggagggt gtgtaaccag aaaggtgcgt tcctcgtaga 960
gaagacatct accgaagtcc aatgcaaagg cgggaatgtc tgcgtgcaag ctcaggatcg 1020
ctattacaat tcctcatgca gcaagtgggc atgtgttccc tgcagagtcc gatcggttcc 1080
tggagtaggg gtacctggag tgggcagggt cataccggtc tctggacctg ccaggtgtct 1140
tagccagtcc cgaaacctgc tgaagaccac agatgacatg gtgaagacgg ccagagaaaa 1200

gctgaaacat tattcttgc ctgctgaaga catcgatcat gaagacatca cacgggacca 1260
aaccagcaca ttgaagacct gtttaccact ggaactacac aagaacgaga gttgcctggc 1320
tactagagag acttcttcca caacaagagg gagctgcctg ccccccacaga agacgtcttt 1380
gatgatgacc ctgtgccttg gtagcatcta tgaggacttg aagatgtacc agacagagtt 1440
ccaggccatc aacgcagcac ttcagaatca caaccatcag cagatcattc tagacaaggg 1500
catgctgggt gccatcgatg agctgatgca gtctctgaat cataatggcg agactctgcg 1560
ccagaaacct cctgtgggag aagcagaccc ttacagagtg aaaatgaagc tctgcatcct 1620

gcttcacgcc ttcagcaccg gcgtcgtgac catcaacagg gtgatgggct atctgtccag 1680
cgctaatag ctcgagagct cgctttcttg ctgtccaatt tctattaaag gttcctttgt 1740
tcctaagtc caactactaa actgggggat attatgaagg gccttgagca tctggattct 1800
gcctaataaa aaacatttat tttcattgct gcgtcgagag ctgcgtttct tgctgtccaa 1860
tttctattaa aggttctttt gttccctaag tccaactact aaactggggg atattatgaa 1920
gggccttgag catctggatt ctgcctaata aaaaacattt attttcattg ctgcgtcgag 1980
acctgggtcca gagtcgctag caaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa agcatatgac 2040

taaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa 2100
aaaaaaaa a 2111

<210> 38
<211> 2111
<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA murine IL-12

<400> 38

gggcgaacua guauucuucu ggucgccaca gacucagaga gaacccgcc ccaugagagu	60
gaccgcccc agaaccuga uccugcugcu gucuggcgcc cuggcccuga cagagacaug	120
ggccggaagc ggauccaugu gggagcugga gaaagacguu uauguuguag agguggacug	180
gacucgccau gcccugggag aaacagugaa ccucaccugu gacacgccug aagaagauga	240
caucaccugg accucagacc agagacaugg agucauaggc ucuggaaaga cccugaccu	300
cacugucaaa gaguuucuag augcuggcca guacaccugc cacaaggag gcgagacucu	360
gagccacuca caucugcugc uccacaagaa ggaaaaugga auuuggucca cugaaauuuu	420
aaaaauuuc aaaaacaaga cuuuccugaa gugugaagca ccaauuacu ccggacgguu	480
cacugucuca uggcugugc aaagaaacau ggacuugaag uuacaauca agagcaguag	540
caguucccu gacucucggg cagugacaug uggaauaggc ucucugucug cagagaaggu	600
cacacuggac caaagggacu augagaagua uucagugucc ugccaggagg augucaccug	660
ccaacugcc gaggagacc ugcccauuga acuggcguug gaagcacggc agcagaauaa	720
auaugagaac uacagcacca gcuucuuc auaggacac aucaaacag acccgccaa	780
gaacuugcag augaagccuu ugaagaacuc acagguggag gucagcuggg aguaccuga	840
cuccuggagc acucccauu ccuacuuc ccucaaguuc uuuguucgaa uccagcgcaa	900
gaaagaaaag augaaggaga cagaggaggg guguaaccag aaaggugcgu uccucguaga	960
gaagacaucu accgaagucc aaugcaaagg cgggauguc ugcgugcaag cucaggaucc	1020
cuauuacaau uccucaugca gcaagugggc auguguucc ugcagagucc gaucgguucc	1080
uggaguaggg guaccuggag ugggcagggu cauaccgguc ucuggaccug ccaggugucu	1140
uagccagucc cgaaccugc ugaagaccac agaugacaug gugaagacgg ccagagaaaa	1200
gcugaaacau uauuccugca cugcugaaga caucgauc auagacauc cacgggacca	1260
aaccagcaca uugaagaccu guuuaccacu ggaacuacac aagaacgaga guugccuggc	1320
uacuagagag acuucuucca caacaagagg gagcugccug ccccccaga agacgucuuu	1380
gaugaugacc cugugccuug guagcaucua ugaggacuug aagauguacc agacagauu	1440
ccaggccauc aacgcagcac uucagaauc caaccaucag cagaucuu uagacaaggg	1500
caugcuggug gccaucgaug agcugaugca gucucugaau cauaauggcg agacucugcg	1560
ccagaaaccu ccugugggag aagcagacc uuacagagug aaaaugaagc ucugcauccu	1620
gcuucacgcc uucagcacc gcgucgugac caucaacagg gugaugggcu aucuguccag	1680

cgccuauuag cucgagagcu cgcuuucuug cuguccaauu ucuauuaaag guuccuuugu 1740
ucccuaguc caacuacuaa acugggggau auuaugaagg gccuugagca ucuggauucu 1800
gccuaaaaa aaacauuuau uuucuuugcu gcgucgagag cucgcuuucu ugcuguccaa 1860
uuucuauuaa agguuccuuu guucccuaag uccaacuacu aaacuggggg auauuaugaa 1920

gggccuugag caucuggauu cugccuaaua aaaaacauuu auuuucauug cugcgucgag 1980
accuggucca gagucgcuag caaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa agcauugac 2040
uaaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa 2100
aaaaaaaaa a 2111

<210> 39

<211> 544

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine IL-12

<400> 39

Met Gly Ala Met Ala Pro Arg Thr Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala

1 5 10 15

Leu Ala Pro Thr Gln Thr Arg Ala Gly Pro Gly Ser Met Trp Glu Leu

20 25 30

Glu Lys Asp Val Tyr Val Val Glu Val Asp Trp Thr Pro Asp Ala Pro

35 40 45

Gly Glu Thr Val Asn Leu Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Asp Ile

50 55 60

Thr Trp Thr Ser Asp Gln Arg His Gly Val Ile Gly Ser Gly Lys Thr

65 70 75 80

Leu Thr Ile Thr Val Lys Glu Phe Leu Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys

85 90 95

His Lys Gly Gly Glu Thr Leu Ser His Ser His Leu Leu Leu His Lys

100 105 110

Lys Glu Asn Gly Ile Trp Ser Thr Glu Ile Leu Lys Asn Phe Lys Asn

115 120 125

Lys Thr Phe Leu Lys Cys Glu Ala Pro Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr

130	135	140	
Cys Ser Trp Leu Val Gln Arg Asn Met Asp Leu Lys Phe Asn Ile Lys			
145	150	155	160
Ser Ser Ser Ser Ser Pro Asp Ser Arg Ala Val Thr Cys Gly Met Ala			
	165	170	175
Ser Leu Ser Ala Glu Lys Val Thr Leu Asp Gln Arg Asp Tyr Glu Lys			
	180	185	190
Tyr Ser Val Ser Cys Gln Glu Asp Val Thr Cys Pro Thr Ala Glu Glu			
195	200	205	
Thr Leu Pro Ile Glu Leu Ala Leu Glu Ala Arg Gln Gln Asn Lys Tyr			
210	215	220	
Glu Asn Tyr Ser Thr Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp			
225	230	235	240
Pro Pro Lys Asn Leu Gln Met Lys Pro Leu Lys Asn Ser Gln Val Glu			
	245	250	255
Val Ser Trp Glu Tyr Pro Asp Ser Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe			
260	265	270	
Ser Leu Lys Phe Phe Val Arg Ile Gln Arg Lys Lys Glu Lys Met Lys			
275	280	285	
Glu Thr Glu Glu Gly Cys Asn Gln Lys Gly Ala Phe Leu Val Glu Lys			
290	295	300	
Thr Ser Thr Glu Val Gln Cys Lys Gly Gly Asn Val Cys Val Gln Ala			
305	310	315	320
Gln Asp Arg Tyr Tyr Asn Ser Ser Cys Ser Lys Trp Ala Cys Val Pro			
	325	330	335
Cys Arg Val Arg Ser Val Pro Gly Val Gly Val Pro Gly Val Gly Arg			
340	345	350	
Val Ile Pro Val Ser Gly Pro Ala Arg Cys Leu Ser Gln Ser Arg Asn			
355	360	365	
Leu Leu Lys Thr Thr Asp Asp Met Val Lys Thr Ala Arg Glu Lys Leu			
370	375	380	

Lys His Tyr Ser Cys Thr Ala Glu Asp Ile Asp His Glu Asp Ile Thr
385 390 395 400

Arg Asp Gln Thr Ser Thr Leu Lys Thr Cys Leu Pro Leu Glu Leu His
405 410 415

Lys Asn Glu Ser Cys Leu Ala Thr Arg Glu Thr Ser Ser Thr Thr Arg
420 425 430

Gly Ser Cys Leu Pro Pro Gln Lys Thr Ser Leu Met Met Thr Leu Cys
435 440 445

Leu Gly Ser Ile Tyr Glu Asp Leu Lys Met Tyr Gln Thr Glu Phe Gln
450 455 460

Ala Ile Asn Ala Ala Leu Gln Asn His Asn His Gln Gln Ile Ile Leu
465 470 475 480

Asp Lys Gly Met Leu Val Ala Ile Asp Glu Leu Met Gln Ser Leu Asn
485 490 495

His Asn Gly Glu Thr Leu Arg Gln Lys Pro Pro Val Gly Glu Ala Asp
500 505 510

Pro Tyr Arg Val Lys Met Lys Leu Cys Ile Leu Leu His Ala Phe Ser
515 520 525

Thr Arg Val Val Thr Ile Asn Arg Val Met Gly Tyr Leu Ser Ser Ala
530 535 540

<210> 40

<211> 2191

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine IL-12 (5'UTR-CDS-3'UTR)

<400> 40

ggaataaact agtctcaaca caacatatac aaaacaaacg aatctcaagc aatcaagcat 60

tctacttcta ttgcagcaat ttaaatacatt tcttttaaag caaaagcaat tttctgaaaa 120

ttttcaccat ttacgaacga tagccatggg cgccatggcc cctagaacat tgctcctgct 180

gctggccgct gccctggccc ctacacagac aagagctgga cctggatcca tgtgggagct 240

ggagaaagac gtttatgttg tagaggtgga ctggactccc gatgccctg gagaaacagt 300

gaacctcacc tgtgacacgc ctgaagaaga tgacatcacc tggacctcag accagagaca 360
 tggagtcata ggctctggaa agacctgac catcactgtc aaagagtttc tagatgctgg 420
 ccagtacacc tgccacaaag gaggcgagac tctgagccac tcacatctgc tgctccacaa 480
 gaaggaaaat ggaatttggc ccactgaaat tttaaaaaat ttcaaaaaca agactttcct 540
 gaagtgtgaa gcaccaaatt actccggacg gttcacgtgc tcatggctgg tgcaaagaaa 600
 catggacttg aagtccaaca tcaagagcag tagcagttcc cctgactctc gggcagtgac 660

atgtggaatg gcgtctctgt ctgcagagaa ggtcacactg gaccaaaggg actatgagaa 720
 gtattcagtg tcttgccagg aggatgtcac ctgcccact gccgaggaga ccttgcccat 780
 tgaactggcg ttggaagcac ggcagcagaa taaatatgag aactacagca ccagcttctt 840
 catcagggac atcatcaaac cagacccgcc caagaacttg cagatgaagc ctttgaagaa 900
 ctacaggtg gaggtcagct gggagtaccc tgactcctgg agcactcccc attctactt 960
 ctccctcaag ttctttgttc gaatccagcg caagaaagaa aagatgaagg agacagagga 1020
 ggggtgtaac cagaaaggcg cgttcctcgt agagaagaca tctaccgaag tccaatgcaa 1080

aggcgggaat gtctgcgtgc aagctcagga tcgctattac aattcctcat gcagcaagtg 1140
 ggcatgtgtt ccttgccagag tccgatcggt tcttgagta ggggtacctg gagtgggcag 1200
 ggtcataccg gtctctggac ctgccaggtg tcttagccag tcccgaacc tgctgaagac 1260
 cacagatgac atggtgaaga cggccagaga aaagctgaaa cattattcct gactgctga 1320
 agacatcgat catgaagaca tcacacggga ccaaacccagc acattgaaga cctgtttacc 1380
 actggaacta cacaagaacg agagttgcct ggctactaga gagacttctt ccacaacaag 1440
 agggagctgc ctgccccac agaagacgtc tttgatgatg accctgtgcc ttggtagcat 1500

ctatgaggac ttgaagatgt accagacaga gttccaggcc atcaacgcag cacttcagaa 1560
 tcacaacat cagcagatca ttctagacaa gggcatgctg gtggccatcg atgagctgat 1620
 gcagtctctg aatcataatg gcgagactct gcgccagaaa cctcctgtgg gagaagcaga 1680
 cccttacaga gtgaaaatga agctctgcat cctgcttcac gccttcagca cccgcgtcgt 1740
 gaccatcaac agggatgatg gctatctgtc cagcgctaa tagctcgacg tcttggtact 1800
 gcatgcacgc aatgctagct gccctttcc cgtcctgggt accccgagtc tccccgacc 1860
 tcgggtccca ggtatgtcc cactccacc tgccccactc accacctctg ctagttccag 1920

acacctccca agcagcgagc aatgcagctc aaaacgctta gcctagccac acccccacgg 1980
 gaaacagcag tgattaacct ttagcaataa acgaaagttt aactaagcta tactaaccac 2040
 agggttggtc aatttcgtgc cagccacacc ctcgagctag caaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2100
 aaaaaaaaaa agcatatgac taaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2160

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 2191

<210> 41

<211> 2191

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine IL-12

<400> 41

ggaauaaacu agucucaaca caacauauac aaaacaaacg aaucucaagc aaucaagcau 60

ucuacuucua uugcagcaau uuaaaucuu uuuuuuaag caaaagcau uuucugaaaa 120

uuuucaccau uuacgaacga uagccauggg cgccauggcc ccuagaacau ugcuccugcu 180

gcuggccgcu gcccuggccc cuacacagac aagagcugga ccuggaucca ugugggagcu 240

ggagaaagac guuuauug uagaggugga cuggacuccc gaugcccug gagaaacagu 300

gaaccucacc ugugacacgc cugaagaaga ugacaucacc uggaccucag accagagaca 360

uggagucuaa ggcucuggaa agaccugac caucacuguc aaagaguuc uagaugcugg 420

ccaguacacc ugccacaaag gaggcgagac ucugagccac ucacaucugc ugcuccacaa 480

gaaggaaaau ggaauuuggu ccacugaaa uuuuuuuuu uucaaaaaa agacuuuccu 540

gaagugugaa gcaccaaau acuccggacg guucacgugc ucauggcugg ugcaaagaaa 600

cauggacuug aaguuaaca ucaagagcag uagcaguucc ccugacucuc gggcagugac 660

auguggaug gcgucucugu cugcagagaa ggucacacug gaccaaagg acuaugagaa 720

guauucagug uccugccagg aggaugucac cugcccaacu gccgaggaga ccugcccau 780

ugaacuggcg uuggaagcac ggcagcagaa uaaauaugag aacucagca ccagcuuuu 840

caucagggac aucaucaaac cagacccgcc caagaacuug cagaugaagc cuuugaagaa 900

cucacaggug gaggucagcu gggaguacc ugacuccugg agcacuccc auuccuacuu 960

cucccucaag uucuuuguuc gaauccagcg caagaaagaa aagaugaagg agacagagga 1020

gggguuaac cagaaaggug cguuccugc agagaagaca ucuaccgaag uccaugcaa 1080

aggcggaau gucugcugc aagcucagga ucgcuaauac aaauccucau gcagcaagug 1140

ggcauguuu ccugcagag uccgaucggu uccuggagua gggguaccug gagugggcag 1200

ggucauaccg gucucuggac cugccaggug ucuuagccag ucccgaacc ugcugaagac 1260

cacagaugac auggugaaga cggccagaga aaagcugaaa cauuauuccu gcacugcuga 1320

agacaucgau caugaagaca ucacacggga ccaaacagc acaugaaga ccuguuuacc 1380

acuggaacua cacaagaacg agaguugccu ggcuacuaga gagacuucuu ccacaacaag 1440

agggagcugc cugccccac agaagacguc uuugaugaug acccugugcc uugguagcau 1500
cuaugaggac uugaagaugu accagacaga guuccaggcc aucaacgcag cacuucagaa 1560
ucacaaccau cagcagauga uucuagacaa gggcaugcug guggccaucg augagcugau 1620
gcagucucug aaucuaaau gcgagacucu gcgccagaaa ccuccugugg gagaagcaga 1680
cccuuacaga gugaaaauga agcucugcau ccugcuucac gccuucagca cccgcgucgu 1740

gaccaucaac agggugaugg gcuauuguc cagcgccuaa uagcugcagc uccugguacu 1800
gcaugcacgc aaugcuagcu gcccuuucc cguccugggu accccgaguc uccccgacc 1860
ucggguccca gguaugcucc caccuccacc ugccccacuc accaccucug cuaguuccag 1920
acaccuccca agcacgcagc aaugcagcuc aaaacgcuaa gccuagccac acccccacgg 1980
gaaacagcag ugauuaaccu uuagcauaa acgaaaguuu aacuaagcua uacuaacccc 2040
agggguugguc aauuucguc cagccacacc cucgagcuag caaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2100
aaaaaaaaa agcauauagc uaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2160

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 2191

<210> 42

<211> 190

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA murine IFN- α -4

<400> 42

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

1 5 10 15

Leu Ala Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser Gly Ser Cys Asp Leu Pro

20 25 30

His Thr Tyr Asn Leu Gly Asn Lys Arg Ala Leu Thr Val Leu Glu Glu

35 40 45

Met Arg Arg Leu Pro Pro Leu Ser Cys Leu Lys Asp Arg Lys Asp Phe

50 55 60

Gly Phe Pro Leu Glu Lys Val Asp Asn Gln Gln Ile Gln Lys Ala Gln

65 70 75 80

Ala Ile Leu Val Leu Arg Asp Leu Thr Gln Gln Ile Leu Asn Leu Phe

85 90 95

Thr Ser Lys Asp Leu Ser Ala Thr Trp Asn Ala Thr Leu Leu Asp Ser

100 105 110
Phe Cys Asn Asp Leu His Gln Gln Leu Asn Asp Leu Lys Ala Cys Val
115 120 125
Met Gln Glu Pro Pro Leu Thr Gln Glu Asp Ser Leu Leu Ala Val Arg
130 135 140
Thr Tyr Phe His Arg Ile Thr Val Tyr Leu Arg Lys Lys Lys His Ser
145 150 155 160
Leu Cys Ala Trp Glu Val Ile Arg Ala Glu Val Trp Arg Ala Leu Ser

165 170 175
Ser Ser Thr Asn Leu Leu Ala Arg Leu Ser Glu Glu Lys Glu
180 185 190

<210> 43

<211> 1049

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA murine IFN-alpha-4 (5'UTR-CDS-3'UTR)

<400> 43

gggcgaacta gtattcttct ggtccccaca gactcagaga gaaccgcga ccatgagagt	60
gaccgcccc agaaccctga tcctgctgct gtctggcgcc ctggccctga cagagacatg	120
ggccggaagc ggatcctgtg acctgcctca cacttataac ctcgggaaca agagggcctt	180
gacagtcttg gaagaaatga gaagactccc cctcttttcc tgctgaagg acaggaagga	240
ttttggattc ccttggaga aggtggataa ccaacagatc cagaaggctc aagccatcct	300
tgtgctaaga gatcttacc agcagatctt gaacctcttc acatcaaaag acttgtctgc	360
tacttggat gcaactctcc tagactcatt ctgcaatgac ctccatcagc agctcaatga	420
tctcaaagcc tgtgtgatgc aggaacctcc tctgaccag gaagactccc tgctggctgt	480
gaggacatac ttccacagga tcaactgtga cctgagaaag aagaacaca gcctctgtgc	540
ctgggagggtg atcagagcag aagtctggag agccctctct tcctcaacca acttgcctgc	600
aagactgagt gaggagaagg agtgataact cgagagctcg ctttcttgct gtccaatttc	660
tattaaaggt tcctttgttc cctaagteca actactaaac tgggggatat tatgaagggc	720
cttgagcatc tggattctgc ctaataaaaa acatttattt tcattgctgc gtcgagagct	780

cgctttcttg ctgtccaatt tctattaaag gttcctttgt tccctaagtc caactactaa 840

actgggggat attatgaagg gccttgagca tctggattct gcctaataaa aaacatttat 900

tttcattgct gcgtcgagac ctgggtccaga gtcgctagca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960

aaaaaaaaag catatgacta aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1049

<210> 44

<211> 1049

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA murine IFN-alpha-4

<400> 44

gggcgaacua guauucuucu gguccccaca gacucagaga gaacccgcca ccaugagagu 60

gaccgcccc agaaccuga uccugcugcu gucuggcgcc cuggcccuga cagagacaug 120

ggccggaagc ggauccugug accugccuca cacuuauaac cucgggaaca agagggccuu 180

gacaguccug gaagaaauga gaagacuccc cccucuucc ugccugaagg acaggaagga 240

uuuuggauuc cccuuggaga agguggauaa ccaacagauc cagaaggcuc aagccaucuu 300

ugugcuaaga gaucuuaccc agcagauuuu gaaccucuuc acaucaaag acugucugc 360

uacuuggaau gcaacucucc uagacucauu cugcaaugac cuccaucagc agcucaauga 420

ucucaaagcc ugugugaugc aggaaccucc ucugaccag gaagacuccc ugucggcugu 480

gaggacauac uuccacagga ucacugugua ccugagaaag aagaaacaca gccucuguc 540

cugggaggug aucagagcag aagucuggag agcccucucu uccucaacca acugcuggc 600

aagacugagu gaggagaagg agugauaacu cgagagcucg cuuucuugcu guccaauuuc 660

uauuaaaggu uccuuuguuc ccuaagucca acuacuaaac uggggggauau uaugaagggc 720

cuugagcauc uggaucugc cuaauaaaaa acuuuuuuu ucuuugcugc gucgagagcu 780

cgcuuucuug cuguccaauu ucuauuaaag guuccuuugu ucccuaaguc caacuacuaa 840

acugggggau auuaugaagg gccuugagca ucuggauucu gccuaaaaa aaacauuuau 900

uuucauugcu gcgucgagac cugguccaga gucgcuagca aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960

aaaaaaaaag cauugacua aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1049

<210> 45

<211> 190

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine IFN-alpha-4

<400> 45

Met Gly Ala Met Ala Pro Arg Thr Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala

1 5 10 15

Leu Ala Pro Thr Gln Thr Arg Ala Gly Pro Gly Ser Cys Asp Leu Pro

20 25 30

His Thr Tyr Asn Leu Gly Asn Lys Arg Ala Leu Thr Val Leu Glu Glu

35 40 45

Met Arg Arg Leu Pro Pro Leu Ser Cys Leu Lys Asp Arg Lys Asp Phe

50 55 60

Gly Phe Pro Leu Glu Lys Val Asp Asn Gln Gln Ile Gln Lys Ala Gln

65 70 75 80

Ala Ile Leu Val Leu Arg Asp Leu Thr Gln Gln Ile Leu Asn Leu Phe

85 90 95

Thr Ser Lys Asp Leu Ser Ala Thr Trp Asn Ala Thr Leu Leu Asp Ser

100 105 110

Phe Cys Asn Asp Leu His Gln Gln Leu Asn Asp Leu Lys Ala Cys Val

115 120 125

Met Gln Glu Pro Pro Leu Thr Gln Glu Asp Ser Leu Leu Ala Val Arg

130 135 140

Thr Tyr Phe His Arg Ile Thr Val Tyr Leu Arg Lys Lys Lys His Ser

145 150 155 160

Leu Cys Ala Trp Glu Val Ile Arg Ala Glu Val Trp Arg Ala Leu Ser

165 170 175

Ser Ser Thr Asn Leu Leu Ala Arg Leu Ser Glu Glu Lys Glu

180 185 190

<210> 46

<211> 1129

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine IFN-alpha-4 (5'UTR-CDS-3'UTR)

<400> 46

ggaataaact agtctcaaca caacatatac aaaacaaacg aatctcaagc aatcaagcat	60
tctacttcta ttgcagcaat ttaaatacatt tcttttaaag caaaagcaat tttctgaaaa	120
ttttcaccat ttacgaacga tagccatggg cgccatggcc cctagaacat tgctcctgct	180
gctggccgct gccctggccc ctacacagac aagagctgga cctggatcct gtgacctgcc	240
tcacacttat aacctcgga acaagagggc cttgacagtc ctggaagaaa tgagaagact	300
ccccctctt tctgacctga aggacaggaa ggattttgga ttcccttgg agaaggtgga	360
taaccaacag atccagaagg ctcaagccat ccttgtgcta agagatctta cccagcagat	420
tttgaacctc ttacatcaa aagacttgct tgctacttgg aatgcaactc tcctagactc	480
attctgcaat gacctccatc agcagctcaa tgatctcaaa gcctgtgtga tgcaggaacc	540
tcctctgacc caggaagact ccctgctggc tgtgaggaca tacttccaca ggatcactgt	600
gtacctgaga aagaagaac acagcctctg tgcttgggag gtgatcagag cagaagtctg	660
gagagccctc tcttctcaa ccaacttgct ggcaagactg agtgaggaga aggagtata	720
actcgacgtc ctggtactgc atgcacgcaa tgctagctgc cctttcccg tctgggtac	780
cccaggtctc ccccgacctc gggctccagg tatgtccca cctccacctg cccactcac	840
cacctctgct agttccagac acctcccaag cagcgacaa tgcagctcaa aacgcttagc	900
ctagccacac ccccgaggga aacagcagtg attaaccttt agcaataaac gaaagttaa	960
ctaagctata ctaacccag ggttggtcaa tttcgtgcca gccacacct cgagctagca	1020
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa catatgacta aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1080
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1129

<210> 47

<211> 1129

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine IFN-alpha-4

<400> 47

ggaauaaacu agucucaaca caacauauac aaaacaaacg aaucucaagc aaucagcau	60
ucuacuucua uugcagcaau uuaaucauu ucuuuuaag caaaagcaau uuucugaaaa	120
uuuucaccau uuacgaacga uagccauggg cgccauggcc ccuagaacau ugcuccugcu	180
gcuggccgcu gcccuggccc cuacacagac aagagcugga ccuggaucuu gugaccugcc	240
ucacacuuau aaccucggga acaagagggc cuugacaguc cuggaagaaa ugagaagacu	300

ccccccucuu uccugccuga aggacaggaa ggauuuugga uuccccuugg agaaggugga 360

uaaccaacag auccagaagg cucaagccau ccuugugcua agagaucuaa cccagcagau 420

uuugaaccuc uucacaucaa aagacuuguc ugcuaucugg aaugcaacuc uccuagacuc 480

auucugcaau gaccuccauc agcagcucaa ugaucuaaa gccuguguga ugcaggaacc 540

uccucugacc caggaagacu cccugcuggc ugugaggaca uacuuccaca ggaucacugu 600

guaccugaga aagaagaaac acagccucug ugccugggag gugaucagag cagaagucug 660

gagagcccuc ucuuccucaa ccaacuugcu ggcaagacug agugaggaga aggagugaua 720

acucgacguc cugguacugc augcacgcaa ugcuagcugc cccuuucccg uccuggguac 780

cccagagucuc ccccgaccuc gggucccagg uaugcucca ccuccaccug cccacucac 840

caccucugcu aguuccagac accucccaag cacgcagcaa ugcagcucaa aacgcuuagc 900

cuagccacac cccacggga aacagcagug auuaaccuuu agcaauaaac gaaaguuuaa 960

cuaagcuaua cuaaccccag gguuggucaa uuucgugcca gccacacccu cgagcuagca 1020

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaag cauaugacua aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1129

<210> 48

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA murine IL-15 sushi

<400> 48

Met Gly Ala Met Ala Pro Arg Thr Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Pro Val Ser Ile Glu His Ala Asp Ile Arg Val Lys Asn Tyr Ser

35 40 45

Val Asn Ser Arg Glu Arg Tyr Val Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ser

85 90 95
 Leu Ala Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly
 100 105 110
 Ser Gly Gly Ser Gly Gly Asn Trp Ile Asp Val Arg Tyr Asp Leu Glu

115 120 125
 Lys Ile Glu Ser Leu Ile Gln Ser Ile His Ile Asp Thr Thr Leu Tyr
 130 135 140
 Thr Asp Ser Asp Phe His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Asn Cys
 145 150 155 160
 Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Leu His Glu Tyr Ser Asn Met Thr
 165 170 175
 Leu Asn Glu Thr Val Arg Asn Val Leu Tyr Leu Ala Asn Ser Thr Leu

180 185 190
 Ser Ser Asn Lys Asn Val Ala Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu
 195 200 205
 Leu Glu Glu Lys Thr Phe Thr Glu Phe Leu Gln Ser Phe Ile Arg Ile
 210 215 220
 Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
 225 230

<210> 49

<211> 1162

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA murine IL-15 sushi (5'UTR-CDS-3'UTR)

<400> 49

gggcgaacta gtattcttct ggtccccaca gactcagaga gaacccgcca ccatgggcgc 60
 catggccctt agaacattgc tctgtctgct ggccgctgcc ctggccccta cacagacaag 120
 agctggacct ggatccacca cgtgtccacc tcccgtatct attgagcatg ctgacatccg 180
 ggtcaagaat tacagtgtga actccaggga gaggtatgtc tgtaactctg gctttaagcg 240
 gaaagctgga acatccacc tgaattgagt tgtgatcaac aagaacacaa atgttgccca 300
 ctggacaact cccagcctca agtgcacatc agaccctcc ctagctggag ggagcggagg 360

ctctggcgga agcggcggggt ctggaggctc cgggggaagc ggcggaaatt ggatcgacgt 420

gcgctacgac ctggaaaaga tcgagagcct gatccagagc atccacatcg acaccaccct 480

gtacaccgac agcgacttcc accccagctg caaagtgacc gctatgaact gettctctgt 540

ggaactgcaa gtgacctgc acgagtacag caacatgacc ctgaacgaga cagtgcggaa 600

cgtgtgttac ctggccaaca gcacctgag cagcaacaag aacgtggccg agagcggtg 660

caaagagtgc gaggaactgg aagaaaagac cttcacgag tttctgcaga gtttcacag 720

gatcgtgcag atgttcatca acacctcttg atgagtcgac gtcctggtac tgcacgcacg 780

caatgctagc tgccctttc cgtctctggg taccccgagt ccccccgac ctcgggtccc 840

aggtatgctc ccacctccac ctgccccact caccacctct gctagtcca gacacctccc 900

aagcacgcag caatgcagct caaacgctt agcctagcca cccccacg ggaacagca 960

gtgattaacc tttagcaata aacgaaagt taactaagct atactaacc cagggttgg 1020

caatttcgtg ccagccacac cctcgagcta gcaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080

aagcatatga ctaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1140

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 1162

<210> 50

<211> 1162

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA murine IL-15 sushi

<400> 50

gggcgaacua guauucuucu ggucgccaca gacucagaga gaaccgcga ccaugggcgc 60

cauggcccuu agaacaugc uccugcugcu ggccgcugcc cuggcccuu cacagacaag 120

agcuggaccu ggauccacca cguguccacc uccgguauu auugagcaug cugacaucg 180

ggucaagaau uacaguguga acuccaggga gagguauguc uguaacucug gcuuaagcg 240

gaaagcugga acauccacc ugaugagug ugugaucaac aagaacaca auguugcca 300

cuggacaacu ccagccuac agugcaucag agaccucc cuagcuggag ggagcggagg 360

cucuggcgga agcggcggu cuggaggcuc cgggggaagc ggcggaaau ggaucgacgu 420

gcgcuacgac cuggaaaaga ucgagagccu gaucagagc auccacaucg acaccaccu 480

guacaccgac agcgacuucc accccagcug caaagugacc gcuauaacu gcuuccugcu 540

ggaacugcaa gugaucugc acgaguacag caacaugacc cugaacgaga cagugcgga 600

cgugcuguac cuggccaaca gaccucgag cagcaacaag aacugggccg agagcgcg 660

caaagagugc gaggaacugg aagaaaagac cuucaccgag uuucugcaga gcuucaucag 720
gaucgugcag auguucacua acaccucuug augagucgac guccugguac ugcaugcacg 780
caaugcuagc ugcccccuuuc ccguccuggg uaccccgagu cucccccgcac cucggguccc 840

agguaugcuc ccaccuccac cugccccacu caccaccucu gcuaguucca gacaccuccc 900
aagcacgcag caaUGCagcu caaaacgcuu agccuagcca cacccccacg ggaaacagca 960
gugauuaacc uuUagcaua aacgaaaguu uacuaagcu auacuaaccc caggguuggu 1020
cauuuucgug ccagccacac ccucgagcua gcaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1080
aagcauauga cuaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1140
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 1162

<210> 51

<211> 232

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine IL-15 sushi

<400> 51

Met Gly Ala Met Ala Pro Arg Thr Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Pro Pro Val Ser Ile Glu His Ala Asp Ile Arg Val Lys Asn Tyr Ser

35 40 45

Val Asn Ser Arg Glu Arg Tyr Val Cys Asn Ser Gly Phe Lys Arg Lys

50 55 60

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

65 70 75 80

Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile Arg Asp Pro Ser

85 90 95

Leu Ala Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly

100 105 110

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Asn Trp Ile Asp Val Arg Tyr Asp Leu Glu

115 120 125

Lys Ile Glu Ser Leu Ile Gln Ser Ile His Ile Asp Thr Thr Leu Tyr
 130 135 140
 Thr Asp Ser Asp Phe His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Asn Cys
 145 150 155 160
 Phe Leu Leu Glu Leu Gln Val Ile Leu His Glu Tyr Ser Asn Met Thr
 165 170 175
 Leu Asn Glu Thr Val Arg Asn Val Leu Tyr Leu Ala Asn Ser Thr Leu

180 185 190
 Ser Ser Asn Lys Asn Val Ala Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu
 195 200 205
 Leu Glu Glu Lys Thr Phe Thr Glu Phe Leu Gln Ser Phe Ile Arg Ile
 210 215 220
 Val Gln Met Phe Ile Asn Thr Ser
 225 230

<210> 52

<211> 1255

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine IL-15 sushi (5'UTR-CDS-3'UTR)

<400> 52

ggaataaact agtctcaaca caacatatac aaaacaaacg aatctcaagc aatcaagcat 60
 tctacttcta ttgcagcaat ttaaatacatt tcttttaaag caaaagcaat tttctgaaaa 120
 ttttcaccat ttacgaacga tagccatggg cgccatggcc cctagaacat tgctcctgct 180
 gctggccgct gccctggccc ctacacagac aagagctgga cctggatcca ccacgtgtcc 240
 acctcccgtg tctattgagc atgctgacat ccgggtcaag aattacagtg tgaactccag 300
 ggagaggtat gtctgtaact ctggctttta gcggaaagct ggaacatcca ccctgattga 360
 gtgtgtgatc aacaagaaca caaatgttgc cacttgaca actcccagcc tcaagtgc 420

cagagacccc tccttagctg gagggagcgg aggctctggc ggaagcggcg ggtctggagg 480
 ctccggggga agcggcgga attggatcga cgtgcgtac gacctggaaa agatcgagag 540
 cctgatccag agcatccaca tcgacaccac cctgtacacc gacagcgaact tccaccccag 600
 ctgcaaagtg accgctatga actgcttcct gctggaactg caagtgatcc tgcacgagta 660
 cagcaacatg accctgaacg agacagtgcg gaacgtgctg tacctggcca acagaccct 720

gagcagcaac aagaacgtgg ccgagagcgg ctgcaaagag tgcgaggaac tggaagaaaa 780
gaccttcacc gagtttctgc agagcttcat caggatcgtg cagatgttca tcaacacctc 840

ttgatgagtc gacgtcctgg tactgcatgc acgcaatgct agctgccctt ttcccgctct 900
gggtaccccg agtctcccc gacctcgggt cccaggtatg ctcccacctc cacctgcccc 960
actcaccacc tctgctagtt ccagacacct cccaagcacg cagcaatgca gctcaaaacg 1020
cttagcctag ccacaccccc acgggaaaca gcagtgatta accttagca ataaacgaaa 1080
gtttaactaa gctatactaa cccaggggtt ggtcaatttc gtgccagcca caccctcgag 1140
ctagcaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaagcata tgactaaaaa aaaaaaaaaa 1200
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 1255

<210> 53

<211> 1255

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine IL-15 sushi

<400> 53

ggaauaaacu agucucaaca caacauauac aaaacaaacg aaucucaagc aaucagcau 60
ucuacuucua uugcagcaau uuaaaucuu uuuuuuaag caaaagcaau uuucugaaaa 120
uuuucaccau uuacgaacga uagccauggg cgccauggcc ccuagaacau ugcuccugcu 180
gcuggccgcu gcccuggccc cuacacagac aagagcugga ccuggaucca ccacgugucc 240
accucccgua ucuauugagc augcugacau ccgggucaag aauuacagug ugaacuccag 300
ggagaggauu gucuguaacu cuggcuuuua gcggaaagcu ggaacaucca ccugauuga 360

gugugugauc aacaagaaca caaanguugc ccacuggaca acucccagcc ucaagugcau 420
cagagacccc ucccuagcug gagggagcgg aggcucuggc ggaagcggcg ggucuggagg 480
cuccggggga agcggcggaa auuggaucga cgugcgcuac gaccuggaaa agaucgagag 540
ccugauccag agcauccaca ugcacaccac ccuguacacc gacagcgacu uccaccccag 600
cugcaaagug accgcuauga acugcuuccu gcuggaacug caagugauc ugcacgagua 660
cagcaaaug acccugaacg agacagugcg gaacgugcug uaccuggcca acagacccu 720
gagcagcaac aagaacugg ccgagagcgg cugcaaagag ugcgaggaac uggaagaaaa 780

gaccuucacc gaguuucugc agagcuucau caggauugc cagauguuca ucaacaccuc 840
uugaugaguc gacguccugg uacugcaugc acgcaaugcu agcugcccu uucccguccu 900
ggguaccccg agucuccccc gaccucgggu cccagguaug cuccaccuc caccugcccc 960

acucaccacc ucugcuaguu ccagacaccu cccaagcacg cagcaaugca gcuaaaaacg 1020
 cuuagccuag ccacaccccc acgggaaaca gcagugauua accuuuagca auaaacgaaa 1080
 guuuuacuaa gcuaauacuaa ccccaggguu ggucuuuuuc gugccagcca caccucgag 1140
 cuagcaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaagcaua ugacuaaaaa aaaaaaaaaa 1200

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 1255

<210> 54

<211> 141

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA murine GM-CSF

<400> 54

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

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

100 105 110
 Gln Val Thr Thr Tyr Ala Asp Phe Ile Asp Ser Leu Lys Thr Phe Leu
 115 120 125
 Thr Asp Ile Pro Phe Glu Cys Lys Lys Pro Gly Gln Lys
 130 135 140

<210> 55

<211> 908

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA murine GM-CSF (5'UTR-CDS-3'UTR)

<400> 55

gggcgaacta gtattcttct ggtccccaca gactcagaga gaacccgcca ccatgtggct 60

gcagaacctg ctgttcctgg gcatcgtggt gtacagcctg agcgccccca ccaggagccc 120

catcaccgtg accaggccct ggaagcacgt ggaggccatc aaggaggccc tgaacctgct 180

ggacgacatg cccgtgacct tgaacgagga ggtggagggt gtgagcaacg agttcagctt 240

caagaagctg acctgcgtgc agaccaggct gaagatcttc gagcagggcc tgaggggcaa 300

cttcaccaag ctgaaggcg ccctgaacat gaccgccagc tactaccaga cctactgccc 360

ccccacccc gagaccgact gcgagacca ggtgaccacc tacgccgact tcatcgacag 420

cctgaagacc ttctgaccg acatccctt cgagtgaag aagcccgcc agaagtgatg 480

actcgagctg gtactgcatg cacgcaatgc tagctgcccc tttccgtcc tgggtacccc 540

gagtctcccc cgacctcggg tcccaggtat gctccacct ccacctgccc cactcaccac 600

ctctgctagt tccagacacc tccaagcac gcagcaatgc agtcaaaac gcttagccta 660

gccacacccc caccggaaac agcagtgtt aacctttagc aataaacgaa agtttaacta 720

agctatacta accccagggt tgggtcaattt cgtgccagcc acaccgagac ctggtccaga 780

gtcgctagcc gcgtcgctaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaagc atatgactaa 840

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900

aaaaaaaaa 908

<210> 56

<211> 908

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA murine GM-CSF

<400> 56

gggcgaacua guauucuucu ggucgccaca gacucagaga gaacccgcca ccauguggcu 60

gcagaaccug cuguuccugg gcaucguggu guacagccug agcgccccca ccaggagccc 120

caucaccgug accaggcccu ggaagcacgu ggaggccauc aaggaggccc ugaaccugcu 180

ggacgacaug cccgugacct ugaacgagga gguggaggug gugagcaacg aguucagcuu 240

caagaagcug accugcgugc agaccaggcu gaagaucuuc gagcagggcc ugaggggcaa 300

cuucaccaag cugaaggcg cccugaacau gaccgccagc uacuaccaga ccuacugccc 360

ccccaccccc gagaccgacu gcgagaccga ggugaccacc uacgccgacu ucaucgacag 420
ccugaagacc uuccugaccg acaucuccuu cgagugcaag aagcccggcc agaagugaug 480
acucgagcug guacugcaug cagcgaugc uagcugcccc uuucccgucc ugguuacccc 540
gagucucucc cgaccucggg ucccagguau gcucccaccu ccaccugccc cacucaccac 600
cucugcuagu uccagacacc uccaagcac gcagcaaugc agcucaaaac gcuuagccua 660
gccacacccc caggggaaac agcagugauu aaccuuuagc aauaaacgaa aguuaacua 720

agcuauacua accccagggg uggucauuu cgugccagcc acaccgagac cugguccaga 780
gucgcuagcc gcgucgcuua aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaagc auaugacuaa 840
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900
aaaaaaaaa 908

<210> 57

<211> 141

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine GM-CSF

<400> 57

Met Trp Leu Gln Asn Leu Leu Phe Leu Gly Ile Val Val Tyr Ser Leu
1 5 10 15

Ser Ala Pro Thr Arg Ser Pro Ile Thr Val Thr Arg Pro Trp Lys His
20 25 30

Val Glu Ala Ile Lys Glu Ala Leu Asn Leu Leu Asp Asp Met Pro Val
35 40 45

Thr Leu Asn Glu Glu Val Glu Val Val Ser Asn Glu Phe Ser Phe Lys
50 55 60

Lys Leu Thr Cys Val Gln Thr Arg Leu Lys Ile Phe Glu Gln Gly Leu
65 70 75 80

Arg Gly Asn Phe Thr Lys Leu Lys Gly Ala Leu Asn Met Thr Ala Ser
85 90 95

Tyr Tyr Gln Thr Tyr Cys Pro Pro Thr Pro Glu Thr Asp Cys Glu Thr
100 105 110

Gln Val Thr Thr Tyr Ala Asp Phe Ile Asp Ser Leu Lys Thr Phe Leu
115 120 125

Thr Asp Ile Pro Phe Glu Cys Lys Lys Pro Gly Gln Lys

130

135

140

<210>

58

<211> 1001

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine GM-CSF (5'UTR-CDS-3'UTR)

<400> 58

ggaataaact agtctcaaca caacatatac aaaacaaacg aatctcaagc aatcaagcat 60
tctacttcta ttgcagcaat ttaaatacatt tcttttaaag caaaagcaat tttctgaaaa 120
ttttcaccat ttacgaacga tagccatgtg gctgcagaac ctgctgttcc tgggcatcgt 180
ggtgtacagc ctgagcgcgc ccaccaggag ccccatcacc gtgaccaggc cctggaagca 240
cgtggaggcc atcaaggagg ccctgaacct gctggacgac atgcccgta ccctgaacga 300
ggaggtggag gtggtgagca acgagttcag cttcaagaag ctgacctgcg tgcagaccag 360

gctgaagatc ttgcagcagg gcctgagggg caacttcacc aagctgaagg gcgccctgaa 420
catgaccgcc agctactacc agacctactg cccccccacc cccgagaccg actgcgagac 480
ccaggtgacc acctacgccg acttcacga cagcctgaag accttctga cgcacatccc 540
cttcgagtgc aagaagcccg gccagaagtg atgactcgag ctggtactgc atgcacgcaa 600
tgctagctgc ccttttcccg tcttgggtac cccgagtctc ccccgacctc gggtcccagg 660
tatgtcctca cctccacctg ccccaactac cacctctgct agttccagac acctcccaag 720
cacgcagcaa tgcagctcaa aacgcttagc ctgcccacac ccccgaggga aacagcagtg 780

attaaccttt agcaataaac gaaagtttaa ctaagctata ctaaccccag ggttggtcaa 840
tttcgtgcca gccacaccga gacctggtcc agagtcgcta gccgcgtcgc taaaaaaaaa 900
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa agcatatgac taaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 1001

<210> 59

<211> 1001

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine GM-CSF

<400> 59

ggaauaaacu agucucaaca caacauauac aaaacaaacg aaucucaagc aaucagcau 60

ucuacuucua uugcagcaau uaaaaucauu uuuuuuaag caaaagcaau uuucugaaaa 120

uuuucaccau uuacgaacga uagccaugug gcugcagaac cugcuguucc ugaggcaucgu 180

gguguacagc cugagcgccc ccaccaggag ccccaucacc gugaccaggc ccuggaagca 240

cguggaggcc aucaaggagg ccugaaccu gcuggacgac augcccguga ccugaacga 300

ggagguggag guggugagca acgaguucag cuucaagaag cugaccugcg ugcagaccag 360

gcugaagauc uucgagcagg gccugagggg caacuucacc aagcugaagg gcgccugaa 420

caugaccgcc agcuacuacc agaccuacug ccccccacc cccgagaccg acugcgagac 480

ccaggugacc accuacgccg acuucaucga cagccugaag accuuccuga ccgacauccc 540

cuucgagugc aagaagcccg gccagaagug augacucgag cugguacugc augcacgcaa 600

ugcuagcugc ccuuucccg uccuggguac cccgagucuc ccccgaccuc gggucccagg 660

uauugcucca ccuccaccug cccacucac caccucugcu aguuccagac accuccaag 720

cacgcagcaa ugcagcucaa aacgcuuagc cuagccacac ccccgaggga aacagcagug 780

auuaaccuuu agcauaaac gaaaguuaa cuaagcuua cuaaccccag gguuggucaa 840

uuucgugcca gccacacga gaccuggucc agagucgcu gccgcgucgc uaaaaaaaaa 900

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa agcauaugac uaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 960

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 1001

<210> 60

<211> 187

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA FLT3L (human FLT3L in combination with a mouse optimized
secretion sequence)

<400> 60

Met Gly Ala Met Ala Pro Arg Thr Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala

1 5 10 15

Leu Ala Pro Thr Gln Thr Arg Ala Gly Pro Gly Ser Thr Gln Asp Cys

20 25 30

Ser Phe Gln His Ser Pro Ile Ser Ser Asp Phe Ala Val Lys Ile Arg

35 40 45

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

50 55 60

Asn Leu Gln Asp Glu Glu Leu Cys Gly Gly Leu Trp Arg Leu Val Leu
 65 70 75 80
 Ala Gln Arg Trp Met Glu Arg Leu Lys Thr Val Ala Gly Ser Lys Met
 85 90 95

Gln Gly Leu Leu Glu Arg Val Asn Thr Glu Ile His Phe Val Thr Lys
 100 105 110
 Cys Ala Phe Gln Pro Pro Pro Ser Cys Leu Arg Phe Val Gln Thr Asn
 115 120 125
 Ile Ser Arg Leu Leu Gln Glu Thr Ser Glu Gln Leu Val Ala Leu Lys
 130 135 140
 Pro Trp Ile Thr Arg Gln Asn Phe Ser Arg Cys Leu Glu Leu Gln Cys
 145 150 155 160

Gln Pro Asp Ser Ser Thr Leu Pro Pro Pro Trp Ser Pro Arg Pro Leu
 165 170 175
 Glu Ala Thr Ala Pro Thr Ala Pro Gln Pro Pro
 180 185

<210> 61

<211> 1027

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA FLT3L (5'UTR-CDS-3'UTR)

<400> 61

gggcgaacta gtattcttct ggtcccccaca gactcagaga gaacccgccca ccatgggcgc	60
catggcccct agaacattgc tcctgctgct ggccgctgcc ctggccccta cacagacaag	120
agctggacct ggatccacc aggactgcag ctccagcac tcccctatct cctccgactt	180
cgccgtgaag atccgggagc tgtccgatta cctgctgcag gactaccctg tgaccgtggc	240
cagcaacctg caggacgaag aactgtgtgg cgccctgtgg cggctggtgc tggcccagcg	300
gtggatggaa cggtgaaaa ccgtggccgg ctccaagatg cagggcctgc tcgagcgggt	360
gaacaccgag atccacttgc tgaccaagtg cgccttcag cctcctcctt cctgcctgcg	420
gttcgtgcag accaacaatc cccggtgct gcaggaaacc tccgagcagc tggtcgcct	480
gaagccttgg atcaccgggc agaacttctc ccggtgtctg gaactccagt gtcagcccga	540

ctctccacc ctgcctctc cctgggtccc caggcctctg gaagccaccg ccctaccgc 600

cccacagcct ccttgatagg tcgacgtcct ggtactgcat gcacgcaatg ctagctgccc 660

ctttcccgtc ctgggtaccc cgagtcctcc cggacctcgg gtcccaggta tgctccacc 720

tccacctgcc ccactacca cctctgctag ttccagacac ctccaagca cgcagcaatg 780

cagctcaaaa cgcttagcct agccacaccc ccacgggaaa cagcagtgat taacctttag 840

caataaacga aagttaact aagctatact aaccccaggg ttggtcaatt tcgtgccagc 900

cacacctcg agctagcaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagca tatgactaaa 960

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1020

aaaaaaa 1027

<210> 62

<211> 1027

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA FLT3L

<400> 62

gggcgaacua guauucuuc ggucgccaca gacucagaga gaaccgccca ccaugggcgc 60

cauggccccc agaacaauugc uccugcugcu ggccgcugcc cuggcccccua cacagacaag 120

agcuggaccu ggauccaccc aggacugcag cuuccagcac ucccuauuc ccuccgacuu 180

cgccgugaag auccgggagc uguccgauua ccugcugcag gacuaccug ugaccguggc 240

cagcaaccug caggacgaag aacugugugg cggccugugg cggcuggugc uggcccagcg 300

guggauggaa cggcugaaaa ccguggccgg cuccaagaug cagggccugc ucgagcgggu 360

gaacaccgag auccacuucg ugaccaagug cgccuuccag ccuccuccuu ccugccugcg 420

guucgugcag accaacaucu cccggcugcu gcaggaaacc uccgagcagc uggucgccc 480

gaagccuugg aucaccggc agaacuucuc cgggugucug gaacuccagu gucagcccga 540

cuccuccacc cugccuccuc ccuggucccc caggccucug gaagccaccg cccuaccgc 600

cccacagccu ccuugauagg ucgacugcu gguacugcau gcacgcaaug cuagcugccc 660

cuuucccguc cuggguaccc cgagucucc cggaccucgg gucccaggua ugcuccacc 720

uccaccugcc ccacucacca ccucugcuag uuccagacac cuccaagca cgcagcaaug 780

cagcucaaaa cgcuuagccu agccacaccc ccacgggaaa cagcagugau uaaccuuuag 840

caauaaacga aaguuaacu aagcuauacu aaccccaggg uuggucauu ucgugccagc 900

cacaccucg agcuagcaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagca uaugacuaaa 960

```

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa      1020
aaaaaaaaa                                     1027
<210> 63
<211> 187
<212> PRT
<213> Artificial sequence

<220><223> ModB FLT3L (human FLT3L in combination with a mouse optimized
          secretion sequence)
<400> 63
Met Gly Ala Met Ala Pro Arg Thr Leu Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala
1           5           10           15
Leu Ala Pro Thr Gln Thr Arg Ala Gly Pro Gly Ser Thr Gln Asp Cys
          20           25           30
Ser Phe Gln His Ser Pro Ile Ser Ser Asp Phe Ala Val Lys Ile Arg
          35           40           45

Glu Leu Ser Asp Tyr Leu Leu Gln Asp Tyr Pro Val Thr Val Ala Ser
          50           55           60
Asn Leu Gln Asp Glu Glu Leu Cys Gly Gly Leu Trp Arg Leu Val Leu
65           70           75           80
Ala Gln Arg Trp Met Glu Arg Leu Lys Thr Val Ala Gly Ser Lys Met
          85           90           95
Gln Gly Leu Leu Glu Arg Val Asn Thr Glu Ile His Phe Val Thr Lys
          100          105          110

Cys Ala Phe Gln Pro Pro Pro Ser Cys Leu Arg Phe Val Gln Thr Asn
          115          120          125
Ile Ser Arg Leu Leu Gln Glu Thr Ser Glu Gln Leu Val Ala Leu Lys
          130          135          140
Pro Trp Ile Thr Arg Gln Asn Phe Ser Arg Cys Leu Glu Leu Gln Cys
145          150          155          160
Gln Pro Asp Ser Ser Thr Leu Pro Pro Pro Trp Ser Pro Arg Pro Leu
          165          170          175

```

Glu Ala Thr Ala Pro Thr Ala Pro Gln Pro Pro

180

185

<210> 64

<211> 1120

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB FLT3L (5'UTR-CDS-3'UTR)

<400> 64

```

ggaataaact agtctcaaca caacatatac aaaacaaacg aatctcaagc aatcaagcat      60
tctacttcta ttgcagcaat ttaaatacatt tcttttaaag caaaagcaat tttctgaaaa      120
ttttcaccat ttacgaacga tagccatggg cgccatggcc cctagaacat tgctcctgct      180
gctggccgct gccctggccc ctacacagac aagagctgga cctggatcca cccaggactg      240

cagcttcag cactcccta tctcctcga ctctgccgtg aagatccggg agctgtccga      300
ttacgtgctg caggactacc ctgtgaccgt ggccagcaac ctgcaggacg aagaactgtg      360
tggcggcctg tggcggctgg tgctggccca gcggtggatg gaacggctga aaaccgtggc      420
cggctccaag atgcagggcc tgctcgagcg ggtgaacacc gagatccact tcgtgaccaa      480
gtgcgccttc cagcctcctc ctctctgctt gcggttcgtg cagaccaaca tctcccggct      540
gctgcaggaa acctccgagc agctggctgc cctgaagcct tggatcacc ggacagaactt      600
ctcccgggtg ctggaactcc agtgcagcc cgactcctcc acctgcctc ctccctggtc      660

ccccaggcct ctggaagcca ccgccctac cgccccacag cctccttgat aggtcgacgt      720
cctggtactg catgcacgca atgtagctg ccctttccc gtcctgggta ccccgagtct      780
ccccgacct cgggtccag gtatgctccc acctccacct gcccactca ccacctctgc      840
tagttccaga cacctccaa gcacgcagca atgcagctca aaacgcttag cctagccaca      900
ccccacggg aaacagcagt gattaacctt tagcaataaa cgaaagtta actaagctat      960
actaaccca gggtttgtca atttcgtgcc agccacaccc tcgagctagc aaaaaaaaaa     1020
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa gcatatgact aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa     1080

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa                               1120

```

<210> 65

<211> 1120

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine FLT3L

<400> 65

ggaauaaacu agucucaaca caacauauac aaaacaaacg aaucucaagc aaucaagcau	60
ucuacuucua uugcagcaau uuaaaucuu uuuuuuaag caaaagcaau uuucugaaaa	120
uuuucaccau uuacgaacga uagccauggg cgccauggcc ccuagaacau ugcuccugcu	180
gcuggccgcu gccucggccc cuacacagac aagagcugga ccuggaacca cccaggacug	240
cagcuuccag cacuccccua ucuccuccga cuucgccgug aagaucggg agcuguccga	300
uuaccugcug caggacuacc cugugaccgu ggccagcaac cugcaggacg aagaacugug	360
uggcgccgcu uggcggcugg ugcuggccca gcgguggaug gaacggcuga aaaccguggc	420
cggcuccaag augcagggcc ugcucgagcg ggugaacacc gagauccacu ucgugaccaa	480
gugcgccuuc cagccuccuc cuuccugccu gcgguucgug cagaccaaca ucuccggcu	540
gcugcaggaa accuccgagc agcuggucgc ccugaagccu uggaucaccc ggcagaacuu	600
cucccgguu cuggaacucc agugucagcc cgacuccucc acccugccuc cucccguguc	660
ccccaggccu cuggaagcca ccgccccuac cggccacag ccuccuugau aggucgacgu	720
ccugguacug caugcacgca augcuagcug cccuuuucc guccugggua ccccgagucu	780
cccccgaccu cggguccag guaugcucc accuccaccu gccccacuca ccaccucgc	840
uaguuccaga caccuccaa gcacgcagca augcagcuca aaacgcuuag ccuagccaca	900
ccccacggg aaacagcagu gauuaaccuu uagcauuaa cgaaaguuu acuaagcuau	960
acuaacccca ggguugguca auuucugucc agccacaccc ucgagcuagc aaaaaaaaa	1020
aaaaaaaaa aaaaaaaaa gcauagacu aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1080
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa	1120

<210> 66

<211> 309

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA murine 41BBL

<400> 66

Met	Asp	Gln	His	Thr	Leu	Asp	Val	Glu	Asp	Thr	Ala	Asp	Ala	Arg	His
1				5				10						15	
Pro	Ala	Gly	Thr	Ser	Cys	Pro	Ser	Asp	Ala	Ala	Leu	Leu	Arg	Asp	Thr
				20				25						30	
Gly	Leu	Leu	Ala	Asp	Ala	Ala	Leu	Leu	Ser	Asp	Thr	Val	Arg	Pro	Thr
				35				40						45	

Asn Ala Ala Leu Pro Thr Asp Ala Ala Tyr Pro Ala Val Asn Val Arg

50 55 60

Asp Arg Glu Ala Ala Trp Pro Pro Ala Leu Asn Phe Cys Ser Arg His

65 70 75 80

Pro Lys Leu Tyr Gly Leu Val Ala Leu Val Leu Leu Leu Leu Ile Ala

85 90 95

Ala Cys Val Pro Ile Phe Thr Arg Thr Glu Pro Arg Pro Ala Leu Thr

100 105 110

Ile Thr Thr Ser Pro Asn Leu Gly Thr Arg Glu Asn Asn Ala Asp Gln

115 120 125

Val Thr Pro Val Ser His Ile Gly Cys Pro Asn Thr Thr Gln Gln Gly

130 135 140

Ser Pro Val Phe Ala Lys Leu Leu Ala Lys Asn Gln Ala Ser Leu Cys

145 150 155 160

Asn Thr Thr Leu Asn Trp His Ser Gln Asp Gly Ala Gly Ser Ser Tyr

165 170 175

Leu Ser Gln Gly Leu Arg Tyr Glu Glu Asp Lys Lys Glu Leu Val Val

180 185 190

Asp Ser Pro Gly Leu Tyr Tyr Val Phe Leu Glu Leu Lys Leu Ser Pro

195 200 205

Thr Phe Thr Asn Thr Gly His Lys Val Gln Gly Trp Val Ser Leu Val

210 215 220

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

225 230 235 240

Val Glu Leu Phe Pro Cys Ser Met Glu Asn Lys Leu Val Asp Arg Ser

245 250 255

Trp Ser Gln Leu Leu Leu Lys Ala Gly His Arg Leu Ser Val Gly

260 265 270

Leu Arg Ala Tyr Leu His Gly Ala Gln Asp Ala Tyr Arg Asp Trp Glu

275 280 285

Leu Ser Tyr Pro Asn Thr Thr Ser Phe Gly Leu Phe Leu Val Lys Pro

290 295 300

Asp Asn Pro Trp Glu

305

<210

> 67

<211> 1393

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA murine 41BBL (5'UTR-CDS-3'UTR)

<400> 67

gggcgaacta gtattcttct ggtccccaca gactcagaga gaacccgcca ccatggacca 60

gcacacactt gatgtggagg ataccgcgga tgccagacat ccagcaggta cttcgtgccc 120

ctcggatgcg gcgctcctca gagataccgg gctcctcgcg gacgtgctgc tcctctcaga 180

tactgtgcgc cccacaaatg ccgcgctccc cacggatgct gcctaccctg cggttaatgt 240

tcgggatcgc gaggccgcgt ggccgcctgc actgaacttc tgttcccgcc acccaaagct 300

ctatggccta gtcgctttgg ttttgctgct tctgatcgcc gcctgtgttc ctatcttcac 360

ccgcaccgag cctcggccag cgctcacaat caccacctcg cccaacctgg gtacccgaga 420

gaataatgca gaccaggta cccctgtttc ccacattggc tgccccaaca ctacacaaca 480

gggctctcct gtgttcgcca agctactggc taaaaaccaa gcatcggtgt gcaatacaac 540

tctgaactgg cacagccaag atggagctgg gagctcatac ctatctcaag gtctgaggta 600

cgaagaagac aaaaaggagt tggtaggtaga cagtcccggg ctctactacg tatttttgga 660

actgaagctc agtccaacat tcacaaacac aggccacaag gtgcagggtt gggtctctct 720

tgttttgcaa gcaaagcctc aggtagatga ctttgacaac ttggccctga cagtggaact 780

gttcccttgc tccatggaga acaagttagt ggaccgttcc tggagtcaac tgttgctcct 840

gaaggtctgc caccgcctca gtgtgggtct gagggcttat ctgcatggag cccaggatgc 900

atacagagac tgggagctgt cttatcccaa caccaccage tttggactct ttctttgtaa 960

accgacaac ccatgggaat gatagggatc cgatctggta ctgcatgcac gcaatgctag 1020

ctgccctttt cccgtctcgg gtaccccgag tctccccga cctcgggtcc caggatgct 1080

cccactcca cctgccccac tcaccacctc tgetagtcc agacacctcc caagcacgca 1140

gcaatgcagc tcaaacgct tagcctagcc acacccccac gggaaacagc agtgattaac 1200

ctttagcaat aaacgaaagt ttaactaagc tatactaacc ccagggttgg tcaatttcgt 1260

gccagccaca ccctcgagct agcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaagcatatg 1320

actaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1380
aaaaaaaaaa aaa	1393
<210> 68	
<211> 1393	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> ModA murine 41BBL	
<400> 68	
gggcgaacua guauucuucu gguccccaca gacucagaga gaacccgccca ccauggacca	60
gcacacacuu gauguggagg auaccgcgga ugccagacau ccagcaggua cuucgugccc	120
cucggaucgc gcgcuccuca gagauaccgg gcuccucgcg gacgcugcgc uccucucaga	180
uacugugcgc cccacaaaug ccgcgucucc cacggauucu gccuaccucg cgguaaauugu	240
ucgggaucgc gaggccgcgu ggccgccugc acugaacuuc uguucccgcc acccaaagcu	300
cuauggccua gucgcuuugg uuuugcugcu ucugaucgcc gccuguguuc cuaucuuac	360
ccgcaccgag ccucggccag cgcucacaau caccaccucg cccaaccugg guaccggaga	420
gaauaaugca gaccaggua cccuguuuc ccacauuggc ugccccaaca cuacacaaca	480
gggcucuccu guguucgcca agcuacuggc uaaaaaccaa gcaucguugu gcauacaac	540
ucugaacugg cacagccaag auggagcugg gagcucauac cuaucuaag gucugaggua	600
cgaagaagac aaaaaggagu uggugguaga cagucccgga cucuacuacg uauuuuugga	660
acugaagcuc aguccaaca uacaaaacac aggccacaag gugcaggguu ggguucucuc	720
uguuuugcaa gaaagccuc agguagauga cuuugacaac uggcccuga caguggaacu	780
guucccuugc uccauggaga acaaguugu ggaccguucc uggagucacu uguugcuccu	840
gaaggcuggc caccgccuca gugugggucu gagggcuuau cugcauggag cccaggaugc	900
auacagagac ugggagcugu cuuaucacaa caccaccagc uuuggacucu uucuugugaa	960
acccgacaac ccaugggaau gauagggauc cgaucuggua cugcaugcac gcaaugcuag	1020
cugcccccuu cccguccugg guaccccgag ucucucccga ccucgggucc cagguaugcu	1080
cccaccucca ccugcccac ucaccaccuc ugcuauguucc agacaccucc caagcacgca	1140
gcaaugcagc ucaaaacgcu uagccuagcc acaccccccac gggaaacagc agugauuaac	1200
cuuagcaau aaacgaaagu uuaacuaagc uauacuaacc ccaggguugg ucaauuucgu	1260
gccagccaca ccucgagcu agcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaagcauug	1320
acuaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	1380

aaaaaaaaaa aaa

1393

<210> 69

<211> 309

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine 41BBL

<400> 69

Met Asp Gln His Thr Leu Asp Val Glu Asp Thr Ala Asp Ala Arg His

1 5 10 15

Pro Ala Gly Thr Ser Cys Pro Ser Asp Ala Ala Leu Leu Arg Asp Thr

20 25 30

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

35 40 45

Asn Ala Ala Leu Pro Thr Asp Ala Ala Tyr Pro Ala Val Asn Val Arg

50 55 60

Asp Arg Glu Ala Ala Trp Pro Pro Ala Leu Asn Phe Cys Ser Arg His

65 70 75 80

Pro Lys Leu Tyr Gly Leu Val Ala Leu Val Leu Leu Leu Ile Ala

85 90 95

Ala Cys Val Pro Ile Phe Thr Arg Thr Glu Pro Arg Pro Ala Leu Thr

100 105 110

Ile Thr Thr Ser Pro Asn Leu Gly Thr Arg Glu Asn Asn Ala Asp Gln

115 120 125

Val Thr Pro Val Ser His Ile Gly Cys Pro Asn Thr Thr Gln Gln Gly

130 135 140

Ser Pro Val Phe Ala Lys Leu Leu Ala Lys Asn Gln Ala Ser Leu Cys

145 150 155 160

Asn Thr Thr Leu Asn Trp His Ser Gln Asp Gly Ala Gly Ser Ser Tyr

165 170 175

Leu Ser Gln Gly Leu Arg Tyr Glu Glu Asp Lys Lys Glu Leu Val Val

180 185 190

Asp Ser Pro Gly Leu Tyr Tyr Val Phe Leu Glu Leu Lys Leu Ser Pro

195 200 205
Thr Phe Thr Asn Thr Gly His Lys Val Gln Gly Trp Val Ser Leu Val
210 215 220
Leu Gln Ala Lys Pro Gln Val Asp Asp Phe Asp Asn Leu Ala Leu Thr
225 230 235 240
Val Glu Leu Phe Pro Cys Ser Met Glu Asn Lys Leu Val Asp Arg Ser
245 250 255
Trp Ser Gln Leu Leu Leu Lys Ala Gly His Arg Leu Ser Val Gly
260 265 270
Leu Arg Ala Tyr Leu His Gly Ala Gln Asp Ala Tyr Arg Asp Trp Glu
275 280 285
Leu Ser Tyr Pro Asn Thr Thr Ser Phe Gly Leu Phe Leu Val Lys Pro

290 295 300
Asp Asn Pro Trp Glu

305

<210> 70

<211> 1486

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine 41BBL (5'UTR-CDS-3'UTR)

<400> 70

ggaataaaact agtctcaaca caacatatac aaaacaaacg aatctcaagc aatcaagcat 60
tctacttcta ttgcagcaat ttaaatacatt tcttttaaag caaaagcaat tttctgaaaa 120
ttttcaccat ttacgaacga tagccatgga ccagcacaca cttgatgtgg aggataccgc 180
ggatgccaga catccagcag gtacttcgtg cccctcggat gcggcgctcc tcagagatac 240

cgggctcttc gcggacgctg cgctcctctc agatactgtg cgccccacaa atgccgcgct 300
ccccacggat gctgcctacc ctgcgggttaa tgttcgggat cgcgaggccg cgtggccgcc 360
tgactgaac ttctgttccc gccacccaaa gctctatggc ctatgcgctt tggttttgct 420
gcttctgata gccgcctgtg ttctatctt caccgcacc gagcctcggc cagcgctcac 480
aatcaccacc tcgccaac tgggtaccg agagaataat gcagaccagg tcaccctgt 540
ttccacatt gggtgcccc aactacaca acagggtctt cctgtgttcg ccaagctact 600

ggctaaaaac caagcatcgt tgtgcaatac aactctgaac tggcacagcc aagatggagc 660

tgggagctca tacctatctc aaggctctgag gtacgaagaa gacaaaaagg agttggtggt 720

agacagtccc gggctctact acgtatitit ggaactgaag ctacgtccaa cattcacaaa 780

cacaggccac aagggtgcagg gctgggtctc tcttgitttg caagcaaagc ctacaggtaga 840

tgactttgac aacttggccc tgacagtgga actgttcctt tgctccatgg agaacaagtt 900

agtggaccgt tcttgagtc aactgttgc cctgaaggct ggccaccgcc tcagtgtggg 960

tctgagggt tcttgcattg gagcccagga tgcatacaga gactgggagc tgtcttatcc 1020

caacaccacc agctttggac tctttcttgt gaaacccgac aacctatggg aatgataggg 1080

atccgatctg gtactgcatg cacgcaatgc tagctgcccc tttcccgctc tgggtacccc 1140

gagtctcccc cgacctcggg tcccaggtat gctccacact ccacctgccc cactcaccac 1200

ctctgctagt tccagacacc tcccaagcac gcagcaatgc agtcaaaac gcttagccta 1260

gccacacccc cacgggaaac agcagtgtat aacctttagc aataaacgaa agtttaacta 1320

agctatacta accccagggt tgggtcaattt cgtgccagcc acaccctcga gctagcaaaa 1380

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagcat atgactaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1440

aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 1486

<210> 71

<211> 1486

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine 41BBL

<400> 71

ggaauaaacu agucuaaca caacauauac aaaacaaacg aaucuaagc aaucagcau 60

ucuaucucua uugcagcaau uuaaucauu uuuuuuaag caaaagcaau uuucugaaaa 120

uuuucaccau uuacgaacga uagccaugga ccagcacaca cuugaugugg aggauaccgc 180

ggaugccaga cauccagcag guacuucgug cccucggau gcggcgccucc ucagagauac 240

cgggcuccuc gcggacgcug cgcuccucuc agauacugug cgccccaca augccgcgcu 300

ccccacggau gcugccuacc cugcgguuua uguucgggau cgcgaggccg cgugccgcc 360

ugcacugaac uucuguuccc gccacccaaa gcucuauggc cuagucgcuu ugguuuugcu 420

gcuucugauc gccgccugug uuccuauuu caccgcacc gagccucggc cagcgcucac 480

aaucaccacc ucgccaacc ugguuaccgc agagaauau gcagaccagg ucacccugcu 540

uucccauu ggugcccca acacuacaca acagggcucu ccuguguucg ccaagcuacu 600

ggcuaaaaac caagcaucgu ugugcaauac aacucugaac uggcacagcc aagauggagc 660
 ugggagcuca uaccuauuc aaggucugag guacgaagaa gacaaaaagg aguugguggu 720
 agacaguccc gggcucuacu acguauuuuu ggaacugaag cucaguccaa cauucacaaa 780

cacaggccac aaggugcagg gcugggucuc ucuuguuuug caagcaaagc cucagguaga 840
 ugacuuugac aacuuggccc ugacagugga acuguucccu ugcuccaugg agaacaaguu 900
 aguggaccgu uccuggaguc aacuguugcu ccugaaggcu ggccaccgcc ucaguguggg 960
 ucugagggcu uaucugcaug gagcccagga ugcauacaga gacugggagc ugucuuauc 1020
 caacaccacc agcuuuggac ucuuuuugu gaaacccgac aaccauggg aaugauaggg 1080
 auccgaucug guacugcaug cacgcaaugc uagcugcccc uuucccgucc ugguuacccc 1140
 gagucucucc cgaccucggg ucccagguau gcucccaccu ccaccugccc cacucaccac 1200

cucugcuagu uccagacacc uccaagcac gcagcaaugc agcuaaaaac gcuuagccua 1260
 gccacacccc cagggaac agcagugauu aaccuuuagc auaaacgaa aguuuacua 1320
 agcuauacua accccagggg uggucauuuu cgugccagcc acaccucga gcuagcaaaa 1380
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaagcau augacuaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1440
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 1486

<210> 72

<211> 935

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ModA murine CD27L-CD40L

<400> 72

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

1	5	10	15
Leu Ala Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser Gly Ser His Pro Glu Pro			
20	25	30	
His Thr Ala Glu Leu Gln Leu Asn Leu Thr Val Pro Arg Lys Asp Pro			
35	40	45	
Thr Leu Arg Trp Gly Ala Gly Pro Ala Leu Gly Arg Ser Phe Thr His			
50	55	60	
Gly Pro Glu Leu Glu Glu Gly His Leu Arg Ile His Gln Asp Gly Leu			

65	70	75	80
----	----	----	----

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

325 330 335
 Leu Asn Leu Thr Val Pro Arg Lys Asp Pro Thr Leu Arg Trp Gly Ala
 340 345 350
 Gly Pro Ala Leu Gly Arg Ser Phe Thr His Gly Pro Glu Leu Glu Glu
 355 360 365
 Gly His Leu Arg Ile His Gln Asp Gly Leu Tyr Arg Leu His Ile Gln
 370 375 380
 Val Thr Leu Ala Asn Cys Ser Ser Pro Gly Ser Thr Leu Gln His Arg

 385 390 395 400
 Ala Thr Leu Ala Val Gly Ile Cys Ser Pro Ala Ala His Gly Ile Ser
 405 410 415
 Leu Leu Arg Gly Arg Phe Gly Gln Asp Cys Thr Val Ala Leu Gln Arg
 420 425 430
 Leu Thr Tyr Leu Val His Gly Asp Val Leu Cys Thr Asn Leu Thr Leu
 435 440 445
 Pro Leu Leu Pro Ser Arg Asn Ala Asp Glu Thr Phe Phe Gly Val Gln

 450 455 460
 Trp Ile Cys Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 465 470 475 480
 Gly Gly Ser Gly Asp Glu Asp Pro Gln Ile Ala Ala His Val Val Ser
 485 490 495
 Glu Ala Asn Ser Asn Ala Ala Ser Val Leu Gln Trp Ala Lys Lys Gly
 500 505 510
 Tyr Tyr Thr Met Lys Ser Asn Leu Val Met Leu Glu Asn Gly Lys Gln

 515 520 525
 Leu Thr Val Lys Arg Glu Gly Leu Tyr Tyr Val Tyr Thr Gln Val Thr
 530 535 540
 Phe Cys Ser Asn Arg Glu Pro Ser Ser Gln Arg Pro Phe Ile Val Gly
 545 550 555 560
 Leu Trp Leu Lys Pro Ser Ser Gly Ser Glu Arg Ile Leu Leu Lys Ala
 565 570 575

Ala Asn Thr His Ser Ser Ser Gln Leu Cys Glu Gln Gln Ser Val His

580 585 590
Leu Gly Gly Val Phe Glu Leu Gln Ala Gly Ala Ser Val Phe Val Asn

595 600 605
Val Thr Glu Ala Ser Gln Val Ile His Arg Val Gly Phe Ser Ser Phe

610 615 620
Gly Leu Leu Lys Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Glu Asp

625 630 635 640
Pro Gln Ile Ala Ala His Val Val Ser Glu Ala Asn Ser Asn Ala Ala

645 650 655
Ser Val Leu Gln Trp Ala Lys Lys Gly Tyr Tyr Thr Met Lys Ser Asn

660 665 670
Leu Val Met Leu Glu Asn Gly Lys Gln Leu Thr Val Lys Arg Glu Gly

675 680 685
Leu Tyr Tyr Val Tyr Thr Gln Val Thr Phe Cys Ser Asn Arg Glu Pro

690 695 700
Ser Ser Gln Arg Pro Phe Ile Val Gly Leu Trp Leu Lys Pro Ser Ser

705 710 715 720
Gly Ser Glu Arg Ile Leu Leu Lys Ala Ala Asn Thr His Ser Ser Ser

725 730 735
Gln Leu Cys Glu Gln Gln Ser Val His Leu Gly Gly Val Phe Glu Leu

740 745 750
Gln Ala Gly Ala Ser Val Phe Val Asn Val Thr Glu Ala Ser Gln Val

755 760 765
Ile His Arg Val Gly Phe Ser Ser Phe Gly Leu Leu Lys Leu Gly Gly

770 775 780
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Glu Asp Pro Gln Ile Ala Ala His Val

785 790 795 800
Val Ser Glu Ala Asn Ser Asn Ala Ala Ser Val Leu Gln Trp Ala Lys

805 810 815
Lys Gly Tyr Tyr Thr Met Lys Ser Asn Leu Val Met Leu Glu Asn Gly

820					825					830									
Lys	Gln	Leu	Thr	Val	Lys	Arg	Glu	Gly	Leu	Tyr	Tyr	Val	Tyr	Thr	Gln				
835					840					845									
Val	Thr	Phe	Cys	Ser	Asn	Arg	Glu	Pro	Ser	Ser	Gln	Arg	Pro	Phe	Ile				
850					855					860									
Val	Gly	Leu	Trp	Leu	Lys	Pro	Ser	Ser	Gly	Ser	Glu	Arg	Ile	Leu	Leu				
865					870					875					880				
Lys	Ala	Ala	Asn	Thr	His	Ser	Ser	Ser	Gln	Leu	Cys	Glu	Gln	Gln	Ser				
885					890					895									
Val	His	Leu	Gly	Gly	Val	Phe	Glu	Leu	Gln	Ala	Gly	Ala	Ser	Val	Phe				
900					905					910									
Val	Asn	Val	Thr	Glu	Ala	Ser	Gln	Val	Ile	His	Arg	Val	Gly	Phe	Ser				
915					920					925									
Ser	Phe	Gly	Leu	Leu	Lys	Leu													
930					935														
<210> 73																			
<211> 3281																			
<212> DNA																			
<213> Artificial sequence																			
<220><223> ModA murine CD27L-CD40L (5'UTR-CDS-3'UTR)																			
<400> 73																			
gggcgaacta gtattcttct ggtccccaca gactcagaga gaaccgcga ccatgagagt 60																			
gaccgcccc agaaccctga tcctgtctgt gtctggcgcc ctggccctga cagagacatg 120																			
ggccggaagc ggateccacc ccgagcccca caccgccgaa ctgcagctga acctgaccgt 180																			
gccagaaag gacccaccc tgagatgggg agctggccct gctctgggca gatcctttac 240																			
acacggcccc gagctggaag aaggccacct gagaatccac caggacggcc tgtacagact 300																			
gcacatcaa gtgacctgg ccaactgcag cagccctggc tctacctgc agcacagagc 360																			
cacactggcc gtgggcatct gtagecctgc tgetcacgga atcagcctgc tgagaggcag 420																			
attcgccag gactgtaccg tggccctgca gaggtgacc tatctggtgc atggcgacgt 480																			
gctgtgcacc aacctgacac tgcctctgt gcccagcaga aacgccgacg aaacattctt 540																			
tggagtgcag tggatttgtc ctggcggagg gtccggggga ggacaccag aacctatac 600																			

agctgaactg cagctgaacc tgaccgtgcc cagaaaggac cccaccctga gatggggagc 660
 tggccctgct ctgggcagat cctttacaca cggccccgag ctggaagaag gccacctgag 720
 aatccaccag gacggcctgt acagactgca catccaagt accctggcca actgcagcag 780
 ccctggctct accctgcagc acagagccac actggccgtg ggcatctgta gccctgctgc 840
 tcacggaatc agcctgtga gaggcagatt cggccaggac tgtaccgtgg ccctgcagag 900
 gctgacctat ctggtgcatg gcgacgtgct gtgcaccaac ctgacactgc ctctgctgcc 960

 cagcagaaac gccgacgaaa cattctttgg agtgcagtgg atttgcctg ggggaggctc 1020
 cggaggcgga caccctgaac ctcatagc tgaactgcag ctgaacctga ccgtgccag 1080
 aaaggacccc accctgagat ggggagctgg ccctgctctg ggcatcct ttacacacgg 1140
 ccccagctg gaagaaggcc acctgagaat ccaccaggac ggctgtaca gactgcacat 1200
 ccaagtgacc ctggccaact gcagcagccc tggctctacc ctgcagcaca gagccacact 1260
 ggccgtgggc atctgtagcc ctgctgctca cggaatcagc ctgctgagag gcagattcgg 1320
 ccaggactgt accgtggccc tgcagaggct gacctatctg gtgcatggcg acgtgctgtg 1380

 caccaacctg aactgcctc tgctgcccag cagaaacgcc gacgagacct tcttcggcgt 1440
 ccagtggatc tgccccggag gcggtggtag tggaggtagc gggtccgtg gaggtggaag 1500
 cggcgacgag gacccccaga tcgccccca cgtggtgtct gagccaaca gcaacgccgc 1560
 ctctgtgctg cagtgggcca agaaaggcta ctacacatg aagtccaacc tcgtgatgct 1620
 ggaaaacggc aagcagctga ccgtgaagcg cgagggcctg tactatgtgt acaccaagt 1680
 gacattctgc agcaaccgag agcccagcag ccagaggcct tttatcgtgg gcctgtggct 1740
 gaagcctagc agcggcagcg agagaatcct gctgaaggcc gccaacaccc acagcagctc 1800

 tcagctgtgc gacgagcagt ctgtgcacct gggaggcgtg ttcgagctgc aagctggcgc 1860
 ttccgtgttc gtgaactga ccgaggccag ccaagtgatc cacagagtgg gcttcagcag 1920
 ctttgactg ctcaactgg gcggagggtc cggcgaggc ggagatgaag atcctcagat 1980
 tgctgcccac gtggtgtctg aggccaacag caacgccgc tctgtgctgc agtgggcca 2040
 gaaaggctac tacacatga agtccaacct cgtgatgctg gaaaacggca agcagctgac 2100
 cgtgaagcg gagggcctgt actatgtga cacccaagt acattctga gcaaccgca 2160
 gcccagcagc cagaggcctt ttatcgtggg cctgtggctg aagcctagca gcggcagca 2220

 gagaatcctg ctgaaggccg ccaacacca cagcagctct cagctgtgcg agcagcagtc 2280
 tgtgcacctg ggaggcgtgt tcgagctgca agctggcgt tccgtgttcg tgaactgac 2340
 cgaggccagc caagtgatc acagagtggg cttcagcagc tttggactgc tcaactggg 2400
 aggcggctcc ggaggcggag gagatgaaga tcctcagatt gctgcccagc tgggtgtcga 2460

ggccaacagc aacgccgcct ctgtgctgca gtgggccaag aaaggctact acaccatgaa 2520
gtccaacctc gtgatgctgg aaaacggcaa gcagctgacc gtgaagcgcg agggcctgta 2580
ctatgtgtac acccaagtga cattctgcag caaccgcgag cccagcagcc agaggccttt 2640

tatcgtgggc ctgtggctga agcctagcag cggcagcgag agaatcctgc tgaaggccgc 2700
caacacccac agcagctctc agctgtgcga gcagcagtct gtgcacctgg gaggcgtgtt 2760
cgagctgcaa gctggcgctt ccgtgttcgt gaacgtgacc gaggccagcc aagtgatcca 2820
cagagtgggc ttctcctcct tcggcctcct gaagctgtga ctcgagagct cgctttcttg 2880
ctgtccaatt tctattaaag gtctctttgt tccctaagtc caactactaa actgggggat 2940
attatgaagg gccttgagca tctggattct gcctaataaa aaacatttat tticattgct 3000
gcgtcgagag ctgcctttct tgctgtccaa ttctattaa aggttccttt gttccctaag 3060

tccaactact aaactggggg atattatgaa gggccttgag catctggatt ctgcctaata 3120
aaaaacattt attttcattg ctgcgtcgag acctgggtcca ggtcgtctag caaaaaaaaa 3180
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa agcatatgac taaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3240
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 3281

<210> 74
<211> 3281
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> ModA murine CD27L-CD40L
<400> 74

gggcgaacua guauucuucu ggucgccaca gacucagaga gaaccgcga ccaugagagu 60
gaccgcccc agaaccuga uccugcugcu gucuggcgcc cuggcccuga cagagacaug 120

ggccggaagc ggaucaccac ccgagcccca caccgccga cugcagcuga accugaccgu 180
gcccagaaaag gacccaccc ugagaugggg agcuggcccu gcucugggca gaucuuuac 240
acacggcccc gaggcugaag aaggccaccu gagaauccac caggacggcc uguacagacu 300
gcacauccaa gugaccucgg ccaacugcag cagcccuggc ucuaccugc agcacagagc 360
cacacuggcc gugggcaucu guagcccugc ugcucacgga aucagccugc ugagaggcag 420
auucggccag gacuguaccg uggcccugca gaggcugacc uaucuggugc auggcgacgu 480
gcugugcacc aaccugacac ugccucugcu gccagcaga aacgccgacg aaacauucu 540

uggagugcag uggauuuguc cuggcgaggg guccggggga ggacaccag aaccucauac 600
agcugaacug cagcugaacc ugaccugcc cagaaaggac cccaccuga gauggggagc 660

uggcccugcu cugggcagau ccuuuacaca cggccccgag cuggaagaag gccaccugag 720
 aauccaccag gacggccugu acagacugca cauccaagug acccuggcca acugcagcag 780
 cccuggcucu acccugcagc acagagccac acuggccgug ggcaucugua gccucgucg 840
 ucacggauc agccugcuga gaggcagauu cggccaggac uguaccgugg cccugcagag 900
 gcugaccuau cuggugcaug ggcagugcu ggcaccaac cugacacugc cucugcugcc 960

 cagcagaaac gccgacgaaa cauucuuugg agugcagugg auuuguccug ggggaggcuc 1020
 cggaggcgga caccucgaac cucauacagc ugaacugcag cugaaccuga ccuggccag 1080
 aaaggacccc acccugagau ggggagcugg cccugcucug ggcagaucuu uuacacacgg 1140
 ccccagcug gaagaaggcc accugagaau ccaccaggac ggccuguaca gacugcacau 1200
 ccaagugacc cuggccaacu gcagcagccc uggcucuacc cugcagcaca gagccacacu 1260
 ggccgugggc aucuguagcc cugcugcuca cggaauacgc cugcugagag gcagauucgg 1320
 ccaggacugu accugggccc ugcagaggcu gaccuauucug gugcauggcg acgugcugug 1380

 caccaaccug acacugccuc ugcugcccag cagaaacgcc gacgagaccu ucuucggcgu 1440
 ccaguggauc ugccccggag gcggugguag uggagguggc ggguccggug gagguggaag 1500
 cggcgacgag gacccccaga ugcgcccca cguggugucu gaggccaaca gcaacccgc 1560
 cucugugcug cagugggcca agaaaggcua cuacaccaug aaguccaacc ucgugaugcu 1620
 ggaaaacggc aagcagcuga ccgugaagcg cgagggccug uacuaugugu acaccaagu 1680
 gacauucugc agcaaccgc agcccagcag ccagaggccu uuuaucgugg gccuguggcu 1740
 gaagccuagc agcggcagcg agagaauccu gcugaaggcc gccaacaccc acagcagcuc 1800

 ucagcugugc gagcagcagu cugugcaccu gggaggcgug uucgagcugc aagcuggcgc 1860
 uuccguguuc gugaacguga ccgaggccag ccaagugauc cacagagugg gcuucagcag 1920
 cuuuggacug cuaaaucgg gcggaggguc cggcggaggc ggagaugaag auccucagau 1980
 ugcugcccac guggugucug aggccaacag caacgccgcc ucugugcugc agugggcaa 2040
 gaaaggcuac uacaccauga aguccaaccu cgugaugcug gaaaacggca agcagcugac 2100
 cgugaagcgc gagggccugu acuaugugua cacccaagug acauucugca gcaaccgcga 2160
 gcccagcagc cagaggccuu uuauucgugg ccuguggcug aagccuagca gcggcagcga 2220

 gagaauccug cugaaggccg ccaacacca cagcagcucu cagcugugcg agcagcaguc 2280
 ugugcaccug ggaggcgugu ucgagcugca agcuggcgcu uccguguucg ugaacugac 2340
 cgaggccagc caagugauc acagaguggg cuucagcagc uuuggacugc ucaaacuggg 2400
 aggcggcucc ggaggcgag gagaugaaga uccucagauu gcugcccacg uggugucuga 2460
 ggccaacagc aacgccgcu cugugcugca gugggccaag aaaggcuacu acaccaugaa 2520

guccaaccuc gugaugcugg aaaacggcaa gcagcugacc gugaagcgcg agggccugua 2580
cuauguguac acccaaguga cauucugcag caaccgcgag cccagcagcc agaggccuuu 2640

uauuggggc cugggcguga agccuagcag cggcagcgag agaaucugc ugaaggccgc 2700
caacaccac agcagcucuc agcugugcga gcagcagucu gugcaccugg gaggcguguu 2760
cgagcugcaa gcuggcgcuu ccguguucgu gaacgugacc gaggccagcc aagugaucca 2820
cagagugggc uucuccuccu ucggccuccu gaagcuguga cucgagagcu cgcuuucuuu 2880
cuguccaaau ucuaauaaag guuccuuugu ucccuaaguc caacuacuaa acugggggau 2940
auuaugaagg gccuugagca ucuggauucu gccuaauaaa aaacauuuau uuucuuugcu 3000
gcgucgagag cucgcuuucu ugcuguccaa uuucuaauaa agguuccuuu guucccuaag 3060

uccaacuacu aaacuggggg auauuaugaa gggccuugag caucuggauu cugccuaaua 3120
aaaaacauuu auuuucauug cugcugcag accuggucca gagucguag caaaaaaaaa 3180
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa agcauugac uaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3240
aaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 3281

<210> 75

<211> 935

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> ModB murine CD27L-CD40L

<400> 75

Met Gly Ala Met Ala Pro Arg Thr Leu Leu Leu Leu Ala Ala Ala

1 5 10 15

Leu Ala Pro Thr Gln Thr Arg Ala Gly Pro Gly Ser His Pro Glu Pro

20 25 30

His Thr Ala Glu Leu Gln Leu Asn Leu Thr Val Pro Arg Lys Asp Pro

35 40 45

Thr Leu Arg Trp Gly Ala Gly Pro Ala Leu Gly Arg Ser Phe Thr His

50 55 60

Gly Pro Glu Leu Glu Glu Gly His Leu Arg Ile His Gln Asp Gly Leu

65 70 75 80

Tyr Arg Leu His Ile Gln Val Thr Leu Ala Asn Cys Ser Ser Pro Gly

85 90 95

Ser Thr Leu Gln His Arg Ala Thr Leu Ala Val Gly Ile Cys Ser Pro
100 105 110

Ala Ala His Gly Ile Ser Leu Leu Arg Gly Arg Phe Gly Gln Asp Cys
115 120 125

Thr Val Ala Leu Gln Arg Leu Thr Tyr Leu Val His Gly Asp Val Leu
130 135 140

Cys Thr Asn Leu Thr Leu Pro Leu Leu Pro Ser Arg Asn Ala Asp Glu
145 150 155 160

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

Gly His Pro Glu Pro His Thr Ala Glu Leu Gln Leu Asn Leu Thr Val
180 185 190

Pro Arg Lys Asp Pro Thr Leu Arg Trp Gly Ala Gly Pro Ala Leu Gly
195 200 205

Arg Ser Phe Thr His Gly Pro Glu Leu Glu Glu Gly His Leu Arg Ile
210 215 220

His Gln Asp Gly Leu Tyr Arg Leu His Ile Gln Val Thr Leu Ala Asn
225 230 235 240

Cys Ser Ser Pro Gly Ser Thr Leu Gln His Arg Ala Thr Leu Ala Val
245 250 255

Gly Ile Cys Ser Pro Ala Ala His Gly Ile Ser Leu Leu Arg Gly Arg
260 265 270

Phe Gly Gln Asp Cys Thr Val Ala Leu Gln Arg Leu Thr Tyr Leu Val
275 280 285

His Gly Asp Val Leu Cys Thr Asn Leu Thr Leu Pro Leu Leu Pro Ser
290 295 300

Arg Asn Ala Asp Glu Thr Phe Phe Gly Val Gln Trp Ile Cys Pro Gly
305 310 315 320

Gly Gly Ser Gly Gly Gly His Pro Glu Pro His Thr Ala Glu Leu Gln
325 330 335

Leu Asn Leu Thr Val Pro Arg Lys Asp Pro Thr Leu Arg Trp Gly Ala

340 345 350
 Gly Pro Ala Leu Gly Arg Ser Phe Thr His Gly Pro Glu Leu Glu Glu
 355 360 365
 Gly His Leu Arg Ile His Gln Asp Gly Leu Tyr Arg Leu His Ile Gln
 370 375 380
 Val Thr Leu Ala Asn Cys Ser Ser Pro Gly Ser Thr Leu Gln His Arg
 385 390 395 400

 Ala Thr Leu Ala Val Gly Ile Cys Ser Pro Ala Ala His Gly Ile Ser
 405 410 415
 Leu Leu Arg Gly Arg Phe Gly Gln Asp Cys Thr Val Ala Leu Gln Arg
 420 425 430
 Leu Thr Tyr Leu Val His Gly Asp Val Leu Cys Thr Asn Leu Thr Leu
 435 440 445
 Pro Leu Leu Pro Ser Arg Asn Ala Asp Glu Thr Phe Phe Gly Val Gln
 450 455 460

 Trp Ile Cys Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 465 470 475 480
 Gly Gly Ser Gly Asp Glu Asp Pro Gln Ile Ala Ala His Val Val Ser
 485 490 495
 Glu Ala Asn Ser Asn Ala Ala Ser Val Leu Gln Trp Ala Lys Lys Gly
 500 505 510
 Tyr Tyr Thr Met Lys Ser Asn Leu Val Met Leu Glu Asn Gly Lys Gln
 515 520 525

 Leu Thr Val Lys Arg Glu Gly Leu Tyr Tyr Val Tyr Thr Gln Val Thr
 530 535 540
 Phe Cys Ser Asn Arg Glu Pro Ser Ser Gln Arg Pro Phe Ile Val Gly
 545 550 555 560
 Leu Trp Leu Lys Pro Ser Ser Gly Ser Glu Arg Ile Leu Leu Lys Ala
 565 570 575
 Ala Asn Thr His Ser Ser Ser Gln Leu Cys Glu Gln Gln Ser Val His
 580 585 590

Leu Gly Gly Val Phe Glu Leu Gln Ala Gly Ala Ser Val Phe Val Asn
 595 600 605
 Val Thr Glu Ala Ser Gln Val Ile His Arg Val Gly Phe Ser Ser Phe
 610 615 620
 Gly Leu Leu Lys Leu Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Glu Asp
 625 630 635 640
 Pro Gln Ile Ala Ala His Val Val Ser Glu Ala Asn Ser Asn Ala Ala
 645 650 655

 Ser Val Leu Gln Trp Ala Lys Lys Gly Tyr Tyr Thr Met Lys Ser Asn
 660 665 670
 Leu Val Met Leu Glu Asn Gly Lys Gln Leu Thr Val Lys Arg Glu Gly
 675 680 685
 Leu Tyr Tyr Val Tyr Thr Gln Val Thr Phe Cys Ser Asn Arg Glu Pro
 690 695 700
 Ser Ser Gln Arg Pro Phe Ile Val Gly Leu Trp Leu Lys Pro Ser Ser
 705 710 715 720

 Gly Ser Glu Arg Ile Leu Leu Lys Ala Ala Asn Thr His Ser Ser Ser
 725 730 735
 Gln Leu Cys Glu Gln Gln Ser Val His Leu Gly Gly Val Phe Glu Leu
 740 745 750
 Gln Ala Gly Ala Ser Val Phe Val Asn Val Thr Glu Ala Ser Gln Val
 755 760 765
 Ile His Arg Val Gly Phe Ser Ser Phe Gly Leu Leu Lys Leu Gly Gly
 770 775 780

 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Asp Glu Asp Pro Gln Ile Ala Ala His Val
 785 790 795 800
 Val Ser Glu Ala Asn Ser Asn Ala Ala Ser Val Leu Gln Trp Ala Lys
 805 810 815
 Lys Gly Tyr Tyr Thr Met Lys Ser Asn Leu Val Met Leu Glu Asn Gly
 820 825 830
 Lys Gln Leu Thr Val Lys Arg Glu Gly Leu Tyr Tyr Val Tyr Thr Gln

835	840	845	
Val Thr Phe Cys Ser Asn Arg Glu Pro Ser Ser Gln Arg Pro Phe Ile			
850	855	860	
Val Gly Leu Trp Leu Lys Pro Ser Ser Gly Ser Glu Arg Ile Leu Leu			
865	870	875	880
Lys Ala Ala Asn Thr His Ser Ser Ser Gln Leu Cys Glu Gln Gln Ser			
885	890	895	
Val His Leu Gly Gly Val Phe Glu Leu Gln Ala Gly Ala Ser Val Phe			
900	905	910	
Val Asn Val Thr Glu Ala Ser Gln Val Ile His Arg Val Gly Phe Ser			
915	920	925	
Ser Phe Gly Leu Leu Lys Leu			
930	935		
<210> 76			
<211> 3361			
<212> DNA			
<213> Artificial sequence			
<220><223> ModB murine CD27L-CD40L (5'UTR-CDS-3'UTR)			
<400> 76			
ggaataaact agtctcaaca caacatatac aaaacaaacg aatctcaagc aatcaagcat	60		
tctacttcta ttgcagcaat ttaaatcatt tcttttaaag caaaagcaat tttctgaaaa	120		
ttttcaccat ttacgaacga tagccatggg cgccatggcc cctagaacat tgctcctgct	180		
gctggccgct gccctggccc ctacacagac aagagctgga cctggatccc accccgagcc	240		
ccacaccgcc gaactgcagc tgaacctgac cgtgcccaga aaggaccca ccctgagatg	300		
gggagctggc cctgctctgg gcagatcctt tacacacggc cccgagctgg aagaaggcca	360		
cctgagaatc caccaggacg gcctgtacag actgcacatc caagtgacct tggccaactg	420		
cagcagccct ggctctacct tgcagcacag agccacactg gccgtgggca tctgtagccc	480		
tgctgtcac ggaatcagcc tgctgagagg cagattcggc caggactgta ccgtggccct	540		
gcagaggctg acctatctgg tgcatggcga cgtgctgtgc accaacctga cactgcctct	600		
gctgcccagc agaaacgccg acgaaacatt cttggagtg cagtggattt gtcctggcgg	660		
agggtccggg ggaggacacc cagaacctca tacagtgaa ctgcagctga acctgaccgt	720		

gccagaaag gacccaccc tgagatgggg agctggccct gctctgggca gatcctttac 780
 acacggcccc gagctggaag aaggccacct gagaatccac caggacggcc tgtacagact 840
 gcacatccaa gtgacctgg ccaactgcag cagccctggc tctacctgc agcacagagc 900
 cacactggcc gtgggcatct gtagccctgc tgtcacgga atcagcctgc tgagaggcag 960
 attcgccag gactgtaccg tggccctgca gaggtgacc tatctggtgc atggcgacgt 1020

 gctgtgcacc aacctgacac tgcctctgct gccagcaga aacgccgacg aaacattctt 1080
 tggagtgcag tggatttgc ctgggggagg ctccggaggc ggacaccctg aacctcatac 1140
 agctgaactg cagctgaacc tgacctgcc cagaaaggac cccaccctga gatggggagc 1200
 tggccctgct ctgggcagat cctttacaca cgccccgag ctggaagaag gccacctgag 1260
 aatccaccag gacggcctgt acagactgca catccaagt accctggcca actgcagcag 1320
 ccctggctct accctgcagc acagagccac actggccgtg ggcatctgta gccctgctgc 1380
 tcacggaatc agcctgctga gaggcagatt cgccaggac tgtaccgtgg ccctgcagag 1440

 gctgacctat ctggtgatg gcgacgtgct gtgcaccaac ctgacactgc ctctgctgcc 1500
 cagcagaaac gccgacgaga cttttctgg cgtccagtgg atctgccccg gaggcggtgg 1560
 tagtggaggt ggcggttccg gtggaggtgg aagcggcgac gaggaccccc agatcgccgc 1620
 ccacgtggtg tctgaggcca acagcaacgc cgcctctgtg ctgcagtggg ccaagaaagg 1680
 ctactacacc atgaagtcca acctcgtgat gctggaaaac ggcaagcagc tgacctgaa 1740
 gcgcgagggc ctgtactatg tgtacacca agtgacattc tgcagcaacc gcgagcccag 1800
 cagccagagg cttttatcg tgggcctgtg gctgaagcct agcagcgga gcgagagaat 1860

 cctgtgaag gccccaaca cccacagcag ctctcagctg tgcgagcagc agtctgtgca 1920
 cctgggaggc gtgttcgagc tgcaagctgg cgcttccgtg ttcgtgaacg tgaccgagc 1980
 cagccaagt atccacagag tgggttcag cagctttgga ctgctcaaac tggcgaggag 2040
 gtccggcgga ggcgagatg aagatcctca gattgctgcc cacgtggtgt ctgaggccaa 2100
 cagcaacgcc gcctctgtgc tgcagtgggc caagaaaggc tactacacca tgaagtcaa 2160
 cctcgtgatg ctggaaaacg gcaagcagct gaccgtgaag cgcgagggcc tgtactatgt 2220
 gtacaccaa gtgacattct gcagcaaccg cgagcccagc agccagaggc cttttatcgt 2280

 gggcctgtgg ctgaagccta gcagcggcag cgagagaatc ctgctgaagg ccgccaacac 2340
 ccacagcagc tctcagctgt gcgagcagca gtctgtgcac ctgggaggcg tgttcgagct 2400
 gcaagctggc gcttccgtgt tcgtgaacgt gaccgaggcc agccaagtga tccacagagt 2460
 gggcttcagc agctttggac tgctcaaaact gggaggcggc tccggaggcg gaggagatga 2520
 agatcctcag attgctgccc acgtggtgtc ttaggccaac agcaacgccg cctctgtgct 2580

gcagtgggcc aagaaaggct actacacat gaagtccaac ctctgatgc tggaaaacgg 2640
caagcagctg accgtgaagc gcgagggcct gtactatgtg tacaccaag tgacattctg 2700

cagcaaccgc gagcccagca gccagaggcc ttttatcgtg ggctgtggc tgaagcctag 2760
cagcggcagc gagagaatcc tgctgaaggc cgccaacacc cacagcagct ctgagctgtg 2820
cgagcagcag tctgtgcacc tgggaggcgt gttcgagctg caagctggcg cttccgtgtt 2880
cgtgaacgtg accgaggcca gccaaagtat ccacagagtg ggcttctcct cttcggcct 2940
cctgaagctg tgactcgacg tcctggtact gcatgcacgc aatgctagct gcccctttcc 3000
cgtctgggtg accccgagtc tccccgacc tcgggtccca ggtatgctcc cacctccacc 3060
tgccccactc accacctctg ctagtccag acacctccca agcacgcagc aatgcagctc 3120

aaaacgctta gcctagccac acccccacgg gaaacagcag tgattaacct ttagcaataa 3180
acgaaagttt aactaagcta tactaacccc agggttggtc aatttcgtgc cagccacacc 3240
ctcgagctag caaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa agcatatgac taaaaaaaaa 3300
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3360
a 3361

<210> 77
<211> 3361
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> ModB murine CD27L-CD40L
<400> 77

ggaauaaacu agucucaaca caacauauac aaaacaaacg aaucucaagc aaucagcau 60

ucuacuucua uugcagcaau uuaaucauu uuuuuuaag caaaagcaau uuucugaaaa 120
uuuucaccau uuacgaacga uagccauggg cgccauggcc ccuagaacau ugcuccugcu 180
gcuggccgcu gccucggccc cuacacagac aagagcugga ccuggaucce accccgagcc 240
ccacaccgcc gaacugcagc ugaaccugac cgugcccaga aaggacccca ccugagaug 300
gggagcuggc ccugcucugg gcagaucuu uacacacggc cccgagcugg aagaaggcca 360
ccugagaau caccaggacg gccuguacag acugcacauc caagugaccc ugccaacug 420
cagcagcccu ggcucuacce ugcagcacag agccacacug gccgugggca ucuguagccc 480

ugcugcucac ggaauacgcc ugcugagagg cagauucggc caggacugua ccguggcccu 540
gcagaggcug accuauucgg ugcauggcga cgugcugugc accaaccuga cacugccucu 600
gcugcccagc agaaacgccg acgaaacauu cuuuggagug caguggauuu guccuggcgg 660

aggguccggg ggaggacacc cagaaccuca uacagcugaa cugcagcuga accugaccgu 720
 gcccgaaag gacccaccc ugagaugggg agcuggcccu gcucugggca gaucuuuac 780
 acacggcccc gagcuggaag aaggccaccu gagaauccac caggacggcc uguacagacu 840
 gcacauccaa gugaccucgg ccaacugcag cagcccuggc ucuaccucg agcacagagc 900

 cacacuggcc gugggcaucu guagcccugc ugcucacgga aucagccugc ugagaggcag 960
 auucggccag gacuguaccg uggcccugca gaggcugacc uaucuggugc auggcgacgu 1020
 gcugugcacc aaccugacac ugccucugcu gcccagcaga aacccgacg aaacauucuu 1080
 uggagugcag uggauuuguc cugggggagg cuccggaggc ggacaccucg aaccucauac 1140
 agcugaacug cagcugaacc ugaccugcc cagaaaggac cccaccucga gauggggagc 1200
 uggcccugcu cugggcagau ccuuuacaca cggccccgag cuggaagaag gccaccugag 1260
 aauccaccag gacggccugu acagacugca cauccaagug acccuggcca acugcagcag 1320

 ccuggcucu acccugcagc acagagccac acuggccgug ggcaucugua gccucugc 1380
 ucacggauc agccugcuga gaggcagauu cggccaggac uguaccugg cccugcagag 1440
 gcugaccuau cuggugcaug ggcagugcu ggcaccaac cugacacugc cucugcugcc 1500
 cagcagaaac gccgacgaga ccuucucgg cguccagugg aucugccccg gaggcggugg 1560
 uaguggaggu ggcgggucg guggaggugg aagcggcgac gaggaccccc agaucgccg 1620
 ccacguggug ucugaggcca acagcaacgc cggccugug cugcaguggg ccaagaaagg 1680
 cuacuacacc augaagucca accucugau gcuggaaaac ggcaagcagc ugaccugaa 1740

 gcgcgagggc cuguacuauu uguacacca agugacauuc ugcagcaacc gcgagcccag 1800
 cagccagagg ccuuuauucg ugggcccugug gcugaagccu agcagcggca gcgagagaau 1860
 ccugcugaag gccccaaca cccacagcag cucucagcug ugcgagcagc agucugugca 1920
 ccugggaggc guuucgagc ugcaagcugg cgcuccgug uucgugaacg ugaccgaggc 1980
 cagccaagug auccacagag ugggcuucag cagcuuugga cugcucaaac ugggcggagg 2040
 guccggcgga ggcggagaug aagauccuca gauugcugcc cacguggugu cugaggccaa 2100
 cagcaacgcc gccucugugc ugcagugggc caagaaaggc uacuacacca ugaaguccaa 2160

 ccucugaug cuggaaaacg gcaagcagcu gaccgugaag cgcgagggcc uguacuauu 2220
 guacaccaa gugacauuc gcaagaccg cgagccagc agccagaggc cuuuuauucg 2280
 gggccugugg cugaagccua gcagcggcag cgagagaau cugcugaagg ccgccaacac 2340
 ccacagcagc ucucagcugu ggcagcagca gucugugcac cugggaggcg uguucgagcu 2400
 gcaagcuggc gcuuccugu ucgugaacgu gaccgaggcc agccaaguga uccacagagu 2460
 gggcuucagc agcuuaggac ugcucuaacu gggaggcggc uccggaggcg gaggagauga 2520

agauccucag auugcugccc acgugguguc ugaggccaac agcaacgccg ccucugugcu 2580

gcagugggcc aagaaaggcu acuaacacau gaaguccaac cucgugaugc uggaaaacgg 2640

caagcagcug accgugaagc gcgagggccu guacuaugug uacaccaag ugacauucug 2700

cagcaaccgc gagcccagca gccagaggcc uuuuauugug ggccuguggc ugaagccuag 2760

cagcggcagc gagagaaucc ugcugaaggc cgccaacacc cacagcagcu cucagcugug 2820

cgagcagcag ucugugcacc ugggaggcggu guucgagcug caagcuggcg cuuccguguu 2880

cgugaacgug accgaggcca gccaaugau ccacagagug ggcuucuccu ccuucggccu 2940

ccugaagcug ugacucgacg uccugguacu gcaugcacgc aaugcuagcu gccccuuucc 3000

cguccugggu accccgaguc uccccgacc ucggguccca gguaugcucc caccuccacc 3060

ugccccacuc accaccucug cuaguuccag acaccucca agcacgcagc aaugcagcuc 3120

aaaacgcuua gccuagccac acccccacgg gaaacagcag ugauuaaccu uuagcaauaa 3180

acgaaaguuu aacuaagcua uacuaacccc agggugguc aaauucgugc cagccacacc 3240

cucgagcuag caaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa agcauugac uaaaaaaaaa 3300

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3360

a 3361

<210> 78

<211> 110

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Poly-A

<400> 78

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa gcauugacu aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 60

aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 110

<210> 79

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-PD1 Mab heavy chain

<400> 79

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

1

5

10

15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe

20 25 30

Gly Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Gly Gly Arg Asp Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Lys Trp Gly Asn Ile Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu

115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys

130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser

145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser

165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser

180 185 190

Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn

195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro

210 215 220

Pro Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe

225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val

245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe

260 265 270
 Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro

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

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

 405 410 415
 Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 420 425 430
 Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440
 <210> 80
 <211> 214
 <212> PRT
 <213> Artificial sequence
 <220><223> Anti-PD1 Mab light chain
 <400> 80
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

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

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Thr Pro Phe
 85 90 95
 Thr Phe Gly Pro Gly Thr Val Val Asp Phe Arg Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140

Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 81

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HCDR1

<400> 81

Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe Gly

1 5

<210> 82

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HCDR2

<400> 82

Ile Ser Gly Gly Gly Arg Asp Thr

1 5

<210> 83

<211> 10

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> HCDR3

<400> 83

Val Lys Trp Gly Asn Ile Tyr Phe Asp Tyr

1 5 10

<210> 84

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> LCDR1

<400> 84

Leu Ser Ile Asn Thr Phe

1 5

<210> 85

<211> 3

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> LCDR2

<400> 85

Ala Ala Ser

1

<210> 86

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> LCDR3

<400> 86

Gln Gln Ser Ser Asn Thr Pro Phe Thr

1 5

<210> 87

<211> 117

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-PD1 Mab VH

<400> 87

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

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Asn Phe

20 25 30

Gly Met Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val

35 40 45

Ser Gly Ile Ser Gly Gly Gly Arg Asp Thr Tyr Phe Ala Asp Ser Val

50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Gly Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys

85 90 95

Val Lys Trp Gly Asn Ile Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100 105 110

Val Thr Val Ser Ser

115

<210>

> 88

<211> 107

<212> PRT

<213> Artificial sequence

<220><223> Anti-PD1 Mab VL

<400> 88

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

1 5 10 15

Asp Ser Ile Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Leu Ser Ile Asn Thr Phe

20 25 30

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

35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu His Gly Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly

50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Arg Thr Leu Gln Pro

65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Ser Asn Thr Pro Phe

85 90 95

Thr Phe Gly Pro Gly Thr Val Val Asp Phe Arg

100 105