(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2025년01월21일
(11) 등록번호 10-2757155
(24) 등록일자 2025년01월15일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 9/22 (2006.01) *C12N 15/62* (2006.01)
C12N 15/90 (2006.01) *C12N 5/0783* (2010.01)
(52) CPC특허분류
C12N 9/22 (2013.01)
C12N 15/625 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2023-7007633(분할)
(22) 출원일자(국제) 2017년10월02일
심사청구일자 2023년03월20일
(85) 번역문제출일자 2023년03월03일
(65) 공개번호 10-2023-0035467
(43) 공개일자 2023년03월13일
(62) 원출원 특허 10-2020-7026327
원출원일자(국제) 2017년10월02일
심사청구일자 2020년10월06일
(86) 국제출원번호 PCT/US2017/054799
(87) 국제공개번호 WO 2018/064681
국제공개일자 2018년04월05일
(30) 우선권주장
62/402,707 2016년09월30일 미국(US)
(뒷면에 계속)
(56) 선행기술조사문헌
WO2016205554 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
포세이다 테라퓨틱스, 인크.
미국 92121 캘리포니아주 샌디에고 타운 센터 드라이브 9390 스위트 200
(72) 발명자
오즈테르타그 에릭
미국 92121 캘리포니아주 샌디에이고 캠퍼스 포인트 코트 4242 스윗 700
쉐드록 데번
미국 92121 캘리포니아주 샌디에이고 캠퍼스 포인트 코트 4242 스윗 700
(74) 대리인
김진희, 김태홍

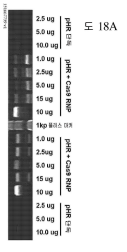
전체 청구항 수 : 총 10 항 심사관 : 이현지

(54) 발명의 명칭 **변형된 줄기세포 기억 T 세포, 이의 제조 방법 및 사용 방법**

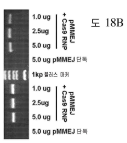
(57) 요 약

본 발명은, 예를 들어 입양 세포 요법으로서, 대상체에게 투여하기 위한 변형된 줄기 기억 T 세포(예를 들어, CAR-T 세포)를 생산하는 방법을 제공한다.

대 표 도 - 도18



도 18A



도 18B

(52) CPC특허분류
C12N 15/907 (2013.01)
C12N 5/0636 (2025.01)
C07K 2319/81 (2013.01)
C12N 2510/00 (2013.01)

(30) 우선권주장
62/502,508 2017년05월05일 미국(US)
62/553,058 2017년08월31일 미국(US)
62/556,309 2017년09월08일 미국(US)

명 세 서

청구범위

청구항 1

서열 번호 40의 아미노산 서열을 포함하는 융합 단백질.

청구항 2

제1항의 융합 단백질을 세포 내로 도입하는 것을 포함하는 변형된 세포를 생성하는 세포외 방법.

청구항 3

제2항에 있어서, 상기 변형된 세포가 T 세포인 세포외 방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 변형된 T 세포가 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM}) 또는 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})인 세포외 방법.

청구항 5

제3항에 있어서, 상기 변형된 T 세포가 동종 이계 세포인 세포외 방법.

청구항 6

제3항에 있어서, 상기 변형된 T 세포가 자가 유래 세포인 세포외 방법.

청구항 7

제1항의 융합 단백질을 포함하는 변형된 T 세포.

청구항 8

제2항의 세포외 방법에 의해 생성된 변형된 T 세포.

청구항 9

제1항의 융합 단백질을 포함하는 변형된 세포 집단을 포함하는 조성물.

청구항 10

제2항의 세포외 방법으로 생성된 변형된 세포 집단을 포함하는 조성물.

발명의 설명

기 술 분 야

[0001] **관련 출원**

[0002] 본 출원은 가출원 2016년 9월 30일 출원된 USSN 62/402,707호, 2017년 5월 5일 출원된 USSN 62/502,508호, 2017년 8월 31일 출원된 USSN 62/553,058호 및 2017년 9월 8일 출원된 USSN 62/556,309호의 이익을 청구하며, 이들 각각의 내용은 본원에 그 전문으로 참고로 포함된다.

[0003] **서열 목록의 포함**

[0004] "POTH-012_001WO_SeqList.txt"로 명명된 텍스트 파일은 2017년 10월 2일에 생성되었으며 크기가 110KB이며 그 내용은 이로써 그 전문으로 참고로 포함된다.

[0005] **발명의 분야**

[0006] 본 발명은 분자 생물학, 보다 구체적으로는 변형된 줄기세포 기억 T 세포의 제조 및 사용 방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0007] 예를 들어, 입양 세포 요법(adoptive cell therapy)으로서 대상체에게 투여하기 위한 변형된 줄기세포 기억 T 세포의 제조 방법에 대해 당 업계에서 오랫동안 요구를 느껴왔지만 충족되지 않았다. 본 발명은 오랫동안 느껴왔지만 충족되지 않은 요구에 대한 해결책을 제공한다.

발명의 내용

[0008] **발명의 요약**

[0009] 종래의 생물학 제제 및 화학 치료법과 달리, 본 발명의 변형된 T 세포는 항원 인식시 신속하게 재생할 수 있는 능력을 가짐으로써, 잠재적으로 반복 치료의 필요성을 없앨 수 있다. 이를 달성하기 위해, 본 발명의 변형된 T 세포는 초기에 종양 파괴를 유발할 뿐만 아니라 잠재적인 암 재발을 예방하기 위해 생존 가능한 기억 T 세포의 안정한 집단으로서 환자에서 존속되어야 한다. 따라서, 초기 기억 세포, 특히 줄기세포 기억(stem cell memory)(T_{SCM})을 함유하는 변형된 T 세포 산물뿐만 아니라 항원 비의존적(토닉(tonic)) 신호전달을 통해 T 세포 고갈을 일으키지 않는 항원 수용체 분자의 개발에 집중적으로 노력해왔다. 본 발명의 줄기세포 유사 변형된 T 세포는 최대한의 자가 재생 능력 및 중심 기억(central memory)(T_{CM}), 이펙터 기억(effector memory)(T_{EM}) 및 이펙터 T 세포(T_E)를 유도하는 다능성 능력을 나타냄으로써 더 우수한 종양 제거 및 장기적인 CAR-T 생착(engraftment)을 가져온다. 본 발명의 변형된 T 세포는 본 발명의 단백질 스캐폴드를 포함하는 항원 수용체를 발현하는 세포를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 변형된 T 세포는 키메라 항원 수용체(CAR: chimeric antigen receptor)를 발현하는 세포(즉, 본 발명의 CAR-T 세포)를 포함하나 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 키메라 항원 수용체(CAR)는 각각이 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 서열을 포함할 수 있으며, 이는 단쇄 항체(예를 들어, scFv), 항체의 하나 이상의 단편을 포함하는 서열(예를 들어, VHH, CAR과 관련하여 VCAR로서 지칭됨), 항체 모방체 및 Centyrin(CAR와 관련하여 CARTyrin으로 지칭됨)을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0010] 본 발명의 변형된 세포는 추가로 게놈 편집을 거칠 수 있다. 예를 들어, 게놈 편집 구조물은 트랜스포존 또는 다른 전달 수단으로 전기 천공 또는 뉴클레오펙션(nucleofection)을 통해 본 발명의 변형된 세포로 도입될 수 있으며, 뒤따른 인큐베이션 단계 중에 세포의 게놈에 통합될 수 있다. 결과로 생성된 세포는 줄기 유사 표현형을 보유하는 편집된 게놈을 가진 변형된 T 세포이다. 줄기 유사 표현형을 보유하는 편집된 게놈을 가진 이 변형된 T 세포는 세포 요법으로서 사용될 수 있다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 본 발명의 변형된 세포는 1차 전기 천공 또는 뉴클레오펙션 및 후속 전기 천공 또는 뉴클레오펙션을 거쳐 게놈 편집 구조물을 도입할 수 있다.

[0011] 구체적으로, 본 발명은 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체 또는 치료 단백질을 포함하는 트랜스포존을 포함하는 트랜스포존 조성물 및 (b) 트랜스포사제 또는 트랜스포사제를 코딩하는 서열을 포함하는 트랜스포사제 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 변형된 T 세포가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 발명은 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체 또는 치료 단백질을 포함하는 트랜스포존을 포함하는 트랜스포존 조성물 및 (b) 트랜스포사제 또는 트랜스포사제를 코딩하는 서열을 포함하는 트랜스포사제 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 25%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 50%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다

수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 60%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 75%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 80%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 85%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 90%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 95%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 세포 표면 마커는 CD62L 및 CD45RA를 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR-T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR-T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD45RA, CD95, IL-2Rβ, CR7, 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 2개의 시스 조절 격리 인자(insulator) 요소가 측면에 위치한 항원 수용체 또는 치료 단백질을 코딩하는 서열을 갖는 플라스미드 DNA 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 피기백(piggyBac) 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 피기백 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 피기백™ 또는 슈퍼 피기백™(SPB: Super piggyBac) 트랜스포사제이다.

[0012] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 2개의 시스 조절 격리 인자 요소가 측면에 위치한 항원 수용체 또는 치료 단백질을 코딩하는 서열을 갖는 플라스미드 DNA 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 피기백 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 피기백 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 피기백™ 또는 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포사제가 슈퍼 피기백TM(SPB) 트랜스포사제인 실시양태에서, 트랜스포사제를 코딩하는 서열은 mRNA 서열이다.

[0013] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포사제 효소는 피기백™(PB) 트랜스포사제 효소이다. 피기백(PB) 트랜스포사제 효소는 하기와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어질 수 있다:

```
  1 MGSSLDDEHI LSALLQSDDE LVGEDSDSEI SDHVSEDDVQ SDTEEAFIDE VHEVQPTSSG
 61 SEILDEQNVI EQPGSSLASN RILTLPQRTI RGKNKHCWST SKSTRRSRVS ALNIVRSQRG
121 PTRMCRNIYD PLLCFKLFFT DEIISEIVKW TNAEISLKRR ESMTGATFRD TNEDEIYAFF
181 GILVMTAVRK DNHMSTDDLF DRSLSMVYVS VMSRDRFDFL IRCLRMDDKS IRPTLRENDV
241 FTPVRKIWDL FIHQCIQNYT PGAHLTIDEQ LLGFRGRCPF RMYIPNKPSK YGIKILMMCD
301 SGYKYMINGM PYLGRGTQTN GVPLGEYYVK ELSKPVHGSC RNITCDNWFT SIPLAKNLLQ
361 EPYKLTIVGT VRSNKREIPE VLKNSRSRPV GTSMFCFDGP LTLVSYKPKP AKMVYLLSSC
421 DEDASINEST GKPQMVMYYN QTKGGVDTLD QMCSVMTCSR KTNRWPMALL YGMINIACIN
481 SFIIYSHNVS SKGEKVQSRK KFMRNLYMSL TSSFMRKRLE APTLKRYLRD NISNILPNEV
541 PGTSDDSTEE PVMKKRTYCT YCPSKIRRKA NASCKKCKKV ICREHNIDMC QSCF
```

[0014] (서열 번호 4).

[0015] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포사제 효소는 하기 서열의 위치 30, 165, 282, 또는 538 중 하나 이상에서 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 피기백™(PB) 트랜스포사제 효소이다:

```
  1 MGSSLDDEHI LSALLQSDDE LVGEDSDSEI SDHVSEDDVQ SDTEEAFIDE VHEVQPTSSG
 61 SEILDEQNVI EQPGSSLASN RILTLPQRTI RGKNKHCWST SKSTRRSRVS ALNIVRSQRG
121 PTRMCRNIYD PLLCFKLFFT DEIISEIVKW TNAEISLKRR ESMTGATFRD TNEDEIYAFF
181 GILVMTAVRK DNHMSTDDLF DRSLSMVYVS VMSRDRFDFL IRCLRMDDKS IRPTLRENDV
241 FTPVRKIWDL FIHQCIQNYT PGAHLTIDEQ LLGFRGRCPF RMYIPNKPSK YGIKILMMCD
301 SGYKYMINGM PYLGRGTQTN GVPLGEYYVK ELSKPVHGSC RNITCDNWFT SIPLAKNLLQ
361 EPYKLTIVGT VRSNKREIPE VLKNSRSRPV GTSMFCFDGP LTLVSYKPKP AKMVYLLSSC
421 DEDASINEST GKPQMVMYYN QTKGGVDTLD QMCSVMTCSR KTNRWPMALL YGMINIACIN
481 SFIIYSHNVS SKGEKVQSRK KFMRNLYMSL TSSFMRKRLE APTLKRYLRD NISNILPNEV
541 PGTSDDSTEE PVMKKRTYCT YCPSKIRRKA NASCKKCKKV ICREHNIDMC QSCF
```

[0016] (서열 번호 4).

[0017] 특정 실시양태에서, 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4의 서열의 위치 30, 165, 282, 또는 538 중 2개 이상에서 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 피기백™(PB) 트랜스포사제 효소이다. 특정 실시양태에서, 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4의 서열의 위치 30, 165, 282, 또는 538 중 3개 이상에서 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 피기백™(PB) 트랜스포사제 효소이다. 특정 실시양태에서, 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4의 서열의 하기 위치 30, 165, 282, 및 538 각각에서 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 피기백™(PB) 트랜스포사제 효소이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4의 서열의 위치 30에서 아미노산 치환은 이소류신(I)에서 발린(V)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4의 서열의 위치 165에서 아미노산 치환은 글리신(G)에서 세린(S)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4의 서열의 위치 282에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4의 서열의 위치 538에서 아미노산 치환은 아스파라긴(N)에서 리신(K)으로의 치환이다.

[0018] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포사제 효소는 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제 효소이다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제 효소는 위치 30에서 아미노산 치환이 이소류신(I)에서 발린(V)으로의 치환이고, 위치 165에서 아미노산 치환이 글리신(G)에서 세린(S)으로의 치환이고, 위치 282에서 아미노산 치환이 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환이고, 위치 538에서 아미노산 치환이 아스파라긴(N)에서 리신(K)으로의 치환인 서열 번호 4의 서열의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어질 수 있다. 특정 실시양태에서, 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제 효소는 하기와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어질 수 있다:

```
  1 MGSSLDDEHI LSALLQSDDE LVGEDSDSEV SDHVSEDDVQ SDTEEAFIDE VHEVQPTSSG
 61 SEILDEQNVI EQPGSSLASN RILTLPQRTI RGKNKHCWST SKSTRRSRVS ALNIVRSQRG
121 PTRMCRNIYD PLLCFKLFFT DEIISEIVKW TNAEISLKRR ESMTSATFRD TNEDEIYAFF
181 GILVMTAVRK DNHMSTDDLF DRSLSMVYVS VMSRDRFDFL IRCLRMDDKS IRPTLRENDV
241 FTPVRKIWDL FIHQCIQNYT PGAHLTIDEQ LLGFRGRCPF RVYIPNKPSK YGIKILMMCD
301 SGTKYMINGM PYLGRGTQTN GVPLGEYYVK ELSKPVHGSC RNITCDNWFT SIPLAKNLLQ
361 EPYKLTIVGT VRSNKREIPE VLKNSRSRPV GTSMFCFDGP LTLVSYKPKP AKMVYLLSSC
421 DEDASINEST GKPQMVMYYN QTKGGVDTLD QMCSVMTCSR KTNRWPMALL YGMINIACIN
481 SFIIYSHNVS SKGEKVQSRK KFMRNLYMSL TSSFMRKRLE APTLKRYLRD NISNILPKEV
541 PGTSDDSTEE PVMKKRTYCT YCPSKIRRKA NASCKKCKKV ICREHNIDMC QSCF
```

[0019] (서열 번호 5).

[0020] 트랜스포사제가 위치 30, 165, 282 및/또는 538에서 상기한 돌연변이를 포함하는 실시양태를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 피기백™ 또는 슈퍼 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 서열의 위치 3, 46, 82, 103, 119, 125, 177, 180, 185, 187, 200, 207, 209, 226, 235, 240, 241, 243, 258, 296, 298, 311, 315, 319, 327, 328, 340, 421, 436, 456, 470, 486, 503, 552, 570 및 591 중 하나 이상에서 아미노산 치환을 추가로 포함할 수 있다. 트랜스포사제가 위치 30, 165, 282 및/또는 538에서 상기한 돌연변이를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, 피기백™ 또는 슈퍼 피기백™ 트랜스포사제 효소는 위치 46, 119, 125, 177, 180, 185, 187, 200, 207, 209, 226, 235, 240, 241, 243, 296, 298, 311, 315, 319, 327, 328, 340, 421, 436, 456, 470, 485, 503, 552 및 570 중 하나 이상에서 아미노산 치환을 추가로 포

함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 3에서 아미노산 치환은 세린(S)에서 아스파라긴(N)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 46에서 아미노산 치환은 알라닌(A)에서 세린(S)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 46에서 아미노산 치환은 알라닌(A)에서 트레오닌(T)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 82에서 아미노산 치환은 이소류신(I)에서 트립토판(W)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 103에서 아미노산 치환은 세린(S)에서 프롤린(P)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 119에서 아미노산 치환은 아르기닌(R)에서 프롤린(P)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 125에서 아미노산 치환은 시스테인(C)에서 알라닌(A)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 125에서 아미노산 치환은 시스테인(C)에서 류신(L)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 177에서 아미노산 치환은 티로신(Y)에서 리신(K)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 177에서 아미노산 치환은 티로신(Y)에서 히스티딘(H)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 180에서 아미노산 치환은 페닐알라닌(F)에서 류신(L)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 180에서 아미노산 치환은 페닐알라닌(F)에서 이소류신(I)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 180에서 아미노산 치환은 페닐알라닌(F)에서 발린(V)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 185에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 류신(L)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 187에서 아미노산 치환은 알라닌(A)에서 글리신(G)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 200에서 아미노산 치환은 페닐알라닌(F)에서 트립토판(W)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 207에서 아미노산 치환은 발린(V)에서 프롤린(P)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 209에서 아미노산 치환은 발린(V)에서 페닐알라닌(F)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 226에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 페닐알라닌(F)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 235에서 아미노산 치환은 류신(L)에서 아르기닌(R)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 240에서 아미노산 치환은 발린(V)에서 리신(K)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 241에서 아미노산 치환은 페닐알라닌(F)에서 류신(L)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 243에서 아미노산 치환은 프롤린(P)에서 리신(K)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 258에서 아미노산 치환은 아스파라긴(N)에서 세린(S)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 296에서 아미노산 치환은 류신(L)에서 트립토판(W)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 296에서 아미노산 치환은 류신(L)에서 티로신(Y)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 296에서 아미노산 치환은 류신(L)에서 페닐알라닌(F)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 298에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 류신(L)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 298에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 알라닌(A)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 298에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 311에서 아미노산 치환은 프롤린(P)에서 이소류신(I)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 311에서 아미노산 치환은 프롤린(P)에서 발린으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 315에서 아미노산 치환은 아르기닌(R)에서 리신(K)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 319에서 아미노산 치환은 트레오닌(T)에서 글리신(G)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 327에서 아미노산 치환은 티로신(Y)에서 아르기닌(R)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 328에서 아미노산 치환은 티로신(Y)에서 발린(V)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 340에서 아미노산 치환은 시스테인(C)에서 글리신(G)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 340에서 아미노산 치환은 시스테인(C)에서 류신(L)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 421에서 아미노산 치환은 아스파르트산(D)에서 히스티딘(H)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 436에서 아미노산 치환은 발린(V)에서 이소류신(I)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 456에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 티로신(Y)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 470에서 아미노산 치환은 류신(L)에서 페닐알라닌(F)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 485에서 아미노산 치환은 세린(S)에서 리신(K)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 503에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 류신(L)으로의 치

환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 503에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 이소류신(I)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 552에서 아미노산 치환은 발린(V)에서 리신(K)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 570에서 아미노산 치환은 알라닌(A)에서 트레오닌(T)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 591에서 아미노산 치환은 글루타민(Q)에서 프롤린(P)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 591에서 아미노산 치환은 글루타민(Q)에서 아르기닌(R)으로의 치환이다.

[0021] 트랜스포사제가 위치 30, 165, 282 및/또는 538에서 상기한 돌연변이를 포함하는 실시양태를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 서열의 위치 103, 194, 372, 375, 450, 509 및 570 중 하나 이상에서 아미노산 치환을 포함할 수 있거나 슈퍼 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 서열의 위치 103, 194, 372, 375, 450, 509 및 570 중 하나 이상에서 아미노산 치환을 추가로 포함할 수 있다. 트랜스포사제가 위치 30, 165, 282 및/또는 538에서 상기한 돌연변이를 포함하는 실시양태를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 서열의 위치 103, 194, 372, 375, 450, 509 및 570 중 2, 3, 4, 5, 6개 이상에서 아미노산 치환을 포함할 수 있거나 슈퍼 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 서열의 위치 103, 194, 372, 375, 450, 509 및 570 중 2, 3, 4, 5, 6개 이상에서 아미노산 치환을 추가로 포함할 수 있다. 트랜스포사제가 위치 30, 165, 282 및/또는 538에서 상기한 돌연변이를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 서열의 위치 103, 194, 372, 375, 450, 509 및 570에서 아미노산 치환을 포함할 수 있거나 슈퍼 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 서열의 위치 103, 194, 372, 375, 450, 509 및 570에서 아미노산 치환을 추가로 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 103에서 아미노산 치환은 세린(S)에서 프롤린(P)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 194에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 372에서 아미노산 치환은 아르기닌(R)에서 알라닌(A)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 375에서 아미노산 치환은 리신(K)에서 알라닌(A)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 450에서 아미노산 치환은 아스파르트산(D)에서 아스파라긴(N)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 509에서 아미노산 치환은 세린(S)에서 글리신(G)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 570에서 치환은 아스파라긴(N)에서 세린(S)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4의 위치 194에서 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환을 포함할 수 있다. 피기백™ 트랜스포사제 효소가 서열 번호 4의 위치 194에서 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환을 포함하는 특정 실시양태에서, 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 서열의 위치 372, 375 및 450에서 아미노산 치환을 추가로 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4의 위치 194에서 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환, 서열 번호 4의 위치 372에서 아르기닌(R)에서 알라닌(A)으로의 치환, 및 서열 번호 4의 위치 375에서 리신(K)에서 알라닌(A)으로의 치환을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4의 위치 194에서 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환, 서열 번호 4의 위치 372에서 아르기닌(R)에서 알라닌(A)으로의 치환, 서열 번호 4의 위치 375에서 리신(K)에서 알라닌(A)으로의 치환 및 서열 번호 4의 위치 450에서 아스파르트산(D)에서 아스파라긴(N)으로의 치환을 포함할 수 있다.

[0022] 본 발명은 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체 또는 치료 단백질을 포함하는 트랜스포존을 포함하는 트랜스포존 조성물 및 (b) 트랜스포사제 또는 트랜스포사제를 코딩하는 서열을 포함하는 트랜스포사제 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 변형된 T 세포가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 발명은 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체 또는 치료 단백질을 포함하는 트랜스포존을 포함하는 트랜스포존 조성물 및 (b) 트랜스포사제 또는 트랜스포사제를 코딩하는 서열을 포함하는 트랜스포사제 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 25%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으

로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 50%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 60%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 75%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 80%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 85%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 90%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 95%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 세포 표면 마커는 CD62L 및 CD45RA를 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR-T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR-T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD45RA, CD95, IL-2Rβ, CR7, 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 슬리핑 뷰티(Sleeping Beauty) 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 슬리핑 뷰티 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 슬리핑 뷰티 트랜스포사제 또는 과활성 슬리핑 뷰티 트랜스포사제(SB100X)이다.

[0023] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 슬리핑 뷰티 트랜스포사제 효소는 하기와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 동일한 아미노산 서열을 포함한다:

```
  1 MGKSKEISQD LRKKIVDLHK SGSSLGAISK RLKVPRSSVQ TIVRKYKHHG TTQPSYRSGR
 61 RRYLSPRDER TLVRKVQINP RTTAKDLVKM LEETGTKVSI STVKRVLYRH NLKGRSARKK
121 PLLQNRHKKA RLRFATAHGD KDRTFWRNVL WSDETKIELF GHNDHRYVWR KKGEACKPKN
181 TIPTVKHGGG SIMLWGCFAA GGTGALHKID GIMRKENYVD ILKQHLKTSV RKLKLGRKWV
241 FQMDNDPKHT SKVVAKWLKD NKVKVLEWPS QSPDLNPIEN LWAELKKRVR ARRPTNLTQL
301 HQLCQEEWAK IHPTYCGKLV EGYPKRLTQV KQFKGNATKY (서열 번호 6).
```

[0024]

[0025] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 과활성 슬리핑 뷰티(SB100X) 트랜스포사제 효소는 하기와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 동일한 아미노산 서열을 포함한다:

```
  1 MGKSKEISQD LRKRIVDLHK SGSSLGAISK RLAVPRSSVQ TIVRKYKHHG TTQPSYRSGR
 61 RRYLSPRDER TLVRKVQINP RTTAKDLVKM LEETGTKVSI STVKRVLYRH NLKGHSARKK
121 PLLQNRHKKA RLRFATAHGD KDRTFWRNVL WSDETKIELF GHNDHRYVWR KKGEACKPKN
181 TIPTVKHGGG SIMLWGCFAA GGTGALHKID GIMDAVQYVD ILKQHLKTSV RKLKLGRKWV
241 FQHDNDPKHT SKVVAKWLKD NKVKVLEWPS QSPDLNPIEN LWAELKKRVR ARRPTNLTQL
301 HQLCQEEWAK IHPNYCGKLV EGYPKRLTQV KQFKGNATKY (서열 번호 7).
```

[0026]

[0027] 본 발명은 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체 또는 치료 단백질을 포함하는 트랜스포존을 포함하는 트랜스포존 조성물 및 (b) 트랜스포사제 또는 트랜스포사제를 코딩하는 서열을 포함하는 트랜스포사제 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 변형된 T 세포가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 발명은 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 트랜스포존을 포함하는 트랜스포존 조성물 및 (b) 트랜스포사제 또는 트랜스포

사제를 코딩하는 서열을 포함하는 트랜스포사제 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 25%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 50%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 60%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 75%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 80%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 85%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 90%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 95%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 세포 표면 마커는 CD62L 및 CD45RA를 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR-T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR-T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD45RA, CD95, IL-2Rβ, CR7, 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 헬레이저(Helraiser) 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 헬레이저 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 헬리트론(Helitron) 트랜스포사제이다.

[0028] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포사제는 헬리트론 트랜스포사제이다. 헬리트론 트랜스포사제는 300 내지 360만 년 전에 활성이 있던 박쥐 게놈의 고대 요소인 헬레이저 트랜스포존을 동원한다. 본 발명의 예시적인 헬레이저 트랜스포존은 Helibat1을 포함하며, 이는 하기를 포함하는 핵산 서열을 포함한다:

[0029]

```
   1 TCCTATATAA TAAAAGAGAA ACATGCAAAT TGACCATCCC TCCGCTACGC TCAAGCCACG
  61 CCCACCAGCC AATCAGAAGT GACTATGCAA ATTAACCCAA CAAAGATGGC AGTTAAATTT
 121 GCATACGCAG GTGTCAAGCG CCCCAGGAGG CAACGGCGGC CGCGGGCTCC CAGGACCTTC
 181 GCTGGCCCCG GGAGGCGAGG CCGGCCGCGC CTAGCCACAC CCGCGGGCTC CCGGGACCTT
 241 CGCCAGCAGA GAGCAGAGCG GGAGAGCGGG CGGAGAGCGG GAGGTTTGGA GGACTTGGCA
 301 GAGCAGGAGG CCGCTGGACA TAGAGCAGAG CGAGAGAGAG GGTGGCTTGG AGGGCGTGGC
 361 TCCCTCTGTC ACCCCAGCTT CCTCATCACA GCTGTGGAAA CTGACAGCAG GGAGGAGGAA
 421 GTCCCACCCC CACAGAATCA GCCAGAATCA GCCGTTGGTC AGACAGCTCT CAGCGGCCTG
 481 ACAGCCAGGA CTCTCATTCA CCTGCATCTC AGACCGTGAC AGTAGAGAGG TGGGACTATG
 541 TCTAAAGAAC AACTGTTGAT ACAACGTAGC TCTGCAGCCG AAAGATGCCG GCGTTATCGA
 601 CAGAAAATGT CTGCAGAGCA ACGTGCGTCT GATCTTGAAA GAAGGCGGCG CCTGCAACAG
 661 AATGTATCTG AAGAGCAGCT ACTGGAAAAA CGTCGCTCTG AAGCCGAAAA ACAGCGGCGT
 721 CATCGACAGA AAATGTCTAA AGACCAACGT GCCTTTGAAG TTGAAAGAAG GCGGTGGCGA
 781 CGACAGAATA TGTCTAGAGA ACAGTCATCA ACAAGTACTA CCAATACCGG TAGGAACTGC
 841 CTTCTCAGCA AAAATGGAGT ACATGAGGAT GCAATTCTCG AACATAGTTG TGGTGGAATG
 901 ACTGTTCGAT GTGAATTTTG CCTATCACTA AATTTCTCTG ATGAAAAACC ATCCGATGGG
 961 AAATTTACTC GATGTTGTAG CAAAGGGAAA GTCTGTCCAA ATGATATACA TTTTCCAGAT
1021 TACCCGGCAT ATTTAAAAAG ATTAATGACA AACGAAGATT CTGACAGTAA AAATTTCATG
1081 GAAAATATTC GTTCCATAAA TAGTTCTTTT GCTTTTGCTT CCATGGGTGC AAATATTGCA
1141 TCGCCATCAG GATATGGGCC ATACTGTTTT AGAATACACG GACAAGTTTA TCACCGTACT
1201 GGAACTTTAC ATCCTTCGGA TGGTGTTTCT CGGAAGTTTG CTCAACTCTA TATTTTGGAT
1261 ACAGCCGAAG CTACAAGTAA AAGATTAGCA ATGCCAGAAA ACCAGGGCTG CTCAGAAAGA
1321 CTCATGATCA ACATCAACAA CCTCATGCAT GAAATAAATG AATTAACAAA ATCGTACAAG
1381 ATGCTACATG AGGTAGAAAA GGAAGCCCAA TCTGAAGCAG CAGCAAAAGG TATTGCTCCC
1441 ACAGAAGTAA CAATGGCGAT TAAATACGAT CGTAACAGTG ACCCAGGTAG ATATAATTCT
1501 CCCCGTGTAA CCGAGGTTGC TGTCATATTC AGAAACGAAG ATGGAGAACC TCCTTTTGAA
1561 AGGGACTTGC TCATTCATTG TAAACCAGAT CCCAATAATC CAAATGCCAC TAAAATGAAA
1621 CAAATCAGTA TCCTGTTTCC TACATTAGAT GCAATGACAT ATCCTATTCT TTTTCCACAT
1681 GGTGAAAAAG GCTGGGGAAC AGATATTGCA TTAAGACTCA GAGACAACAG TGTAATCGAC
1741 AATAATACTA GACAAAATGT AAGGACACGA GTCACACAAA TGCAGTATTA TGGATTTCAT
1801 CTCTCTGTGC GGGACACGTT CAATCCTATT TTAAATGCAG GAAAATTAAC TCAACAGTTT
1861 ATTGTGGATT CATATTCAAA AATGGAGGCC AATCGGATAA ATTTCATCAA AGCAAACCAA
1921 TCTAAGTTGA GAGTTGAAAA ATATAGTGGT TTGATGGATT ATCTCAAATC TAGATCTGAA
1981 AATGACAATG TGCCGATTGG TAAAATGATA ATACTTCCAT CATCTTTTGA GGGTAGTCCC
2041 AGAAATATGC AGCAGCGATA TCAGGATGCT ATGGCAATTG TAACGAAGTA TGGCAAGCCC
2101 GATTTATTCA TAACCATGAC ATGCAACCCC AAATGGGCAG ATATTACAAA CAATTTACAA
2161 CGCTGGCAAA AAGTTGAAAA CAGACCTGAC TTGGTAGCCA GAGTTTTTAA TATTAAGCTG
2221 AATGCTCTTT TAAATGATAT ATGTAAATTC CATTTATTTG GCAAAGTAAT AGCTAAAATT
2281 CATGTCATTG AATTTCAGAA ACGCGGACTG CCTCACGCTC ACATATTATT GATATTAGAT
2341 AGTGAGTCCA AATTACGTTC AGAAGATGAC ATTGACCGTA TAGTTAAGGC AGAAATTCCA
2401 GATGAAGACC AGTGTCCTCG ACTTTTTCAA ATTGTAAAAT CAAATATGGT ACATGGACCA
```

2461 TGTGGAATAC AAAATCCAAA TAGTCCATGT ATGGAAAATG GAAAATGTTC AAAGGGATAT
2521 CCAAAAGAAT TTCAAAATGC GACCATTGGA AATATTGATG GATATCCCAA ATACAAACGA
2581 AGATCTGGTA GCACCATGTC TATTGGAAAT AAAGTTGTCG ATAACACTTG GATTGTCCCT
2641 TATAACCCGT ATTTGTGCCT TAAATATAAC TGTCATATAA ATGTTGAAGT CTGTGCATCA
2701 ATTAAAAGTG TCAAATATTT ATTTAAATAC ATCTATAAAG GGCACGATTG TGCAAATATT
2761 CAAATTTCTG AAAAAAATAT TATCAATCAT GACGAAGTAC AGGACTTCAT TGACTCCAGG
2821 TATGTGAGCG CTCCTGAGGC TGTTTGGAGA CTTTTTGCAA TGCGAATGCA TGACCAATCT
2881 CATGCAATCA CAAGATTAGC TATTCATTTG CCAAATGATC AGAATTTGTA TTTTCATACC
2941 GATGATTTTG CTGAAGTTTT AGATAGGGCT AAAAGGCATA ACTCGACTTT GATGGCTTGG
3001 TTCTTATTGA ATAGAGAAGA TTCTGATGCA CGTAATTATT ATTATTGGGA GATTCCACAG
3061 CATTATGTGT TTAATAATTC TTTGTGGACA AAACGCCGAA AGGGTGGGAA TAAAGTATTA
3121 GGTAGACTGT TCACTGTGAG CTTTAGAGAA CCAGAACGAT ATTACCTTAG ACTTTTGCTT
3181 CTGCATGTAA AAGGTGCGAT AAGTTTTGAG GATCTGCGAA CTGTAGGAGG TGTAACTTAT
3241 GATACATTTC ATGAAGCTGC TAAACACCGA GGATTATTAC TTGATGACAC TATCTGGAAA
3301 GATACGATTG ACGATGCAAT CATCCTTAAT ATGCCCAAAC AACTACGGCA ACTTTTTGCA
3361 TATATATGTG TGTTTGGATG TCCTTCTGCT GCAGACAAAT TATGGGATGA GAATAAATCT
3421 CATTTTATTG AAGATTTCTG TTGGAAATTA CACCGAAGAG AAGGTGCCTG TGTGAACTGT
3481 GAAATGCATG CCCTTAACGA AATTCAGGAG GTATTCACAT TGCATGGAAT GAAATGTTCA
3541 CATTTCAAAC TTCCGGACTA TCCTTTATTA ATGAATGCAA ATACATGTGA TCAATTGTAC
3601 GAGCAACAAC AGGCAGAGGT TTTGATAAAT TCTCTGAATG ATGAACAGTT GGCAGCCTTT
3661 CAGACTATAA CTTCAGCCAT CGAAGATCAA ACTGTACACC CCAAATGCTT TTTCTTGGAT
3721 GGTCCAGGTG GTAGTGGAAA AACATATCTG TATAAAGTTT TAACACATTA TATTAGAGGT
3781 CGTGGTGGTA CTGTTTTACC CACAGCATCT ACAGGAATTG CTGCAAATTT ACTTCTTGGT
3841 GGAAGAACCT TTCATTCCCA ATATAAATTA CCAATTCCAT TAAATGAAAC TTCAATTTCT
3901 AGACTCGATA TAAAGAGTGA AGTTGCTAAA ACCATTAAAA AGGCCCAACT TCTCATTATT
3961 GATGAATGCA CCATGGCATC CAGTCATGCT ATAAACGCCA TAGATAGATT ACTAAGAGAA
4021 ATTATGAATT TGAATGTTGC ATTTGGTGGG AAAGTTCTCC TTCTCGGAGG GGATTTTCGA
4081 CAATGTCTCA GTATTGTACC ACATGCTATG CGATCGGCCA TAGTACAAAC GAGTTTAAAG
4141 TACTGTAATG TTTGGGGATG TTTCAGAAAG TTGTCTCTTA AAACAAATAT GAGATCAGAG
4201 GATTCTGCTT ATAGTGAATG GTTAGTAAAA CTTGGAGATG GCAAACTTGA TAGCAGTTTT
4261 CATTTAGGAA TGGATATTAT TGAAATCCCC CATGAAATGA TTTGTAACGG ATCTATTATT
4321 GAAGCTACCT TTGGAAATAG TATATCTATA GATAATATTA AAAATATATC TAAACGTGCA
4381 ATTCTTTGTC CAAAAAATGA GCATGTTCAA AAATTAAATG AAGAAATTTT GGATATACTT
4441 GATGGAGATT TTCACACATA TTTGAGTGAT GATTCCATTG ATTCAACAGA TGATGCTGAA
4501 AAGGAAAATT TTCCCATCGA ATTTCTTAAT AGTATTACTC CTTCGGGAAT GCCGTGTCAT
4561 AAATTAAAAT TGAAAGTGGG TGCAATCATC ATGCTATTGA GAAATCTTAA TAGTAAATGG
4621 GGTCTTTGTA ATGGTACTAG ATTTATTATC AAAAGATTAC GACCTAACAT TATCGAAGCT
4681 GAAGTATTAA CAGGATCTGC AGAGGGAGAG GTTGTTCTGA TTCCAAGAAT TGATTTGTCC
4741 CCATCTGACA CTGGCCTCCC ATTTAAATTA ATTCGAAGAC AGTTTCCCGT GATGCCAGCA

[0030] 4801 TTTGCGATGA CTATTAATAA ATCACAAGGA CAAACTCTAG ACAGAGTAGG AATATTCCTA

4861 CCTGAACCCG TTTTCGCACA TGGTCAGTTA TATGTTGCTT TCTCTCGAGT TCGAAGAGCA
4921 TGTGACGTTA AAGTTAAAGT TGTAAATACT TCATCACAAG GGAAATTAGT CAAGCACTCT
4981 GAAAGTGTTT TTACTCTTAA TGTGGTATAC AGGGAGATAT TAGAATAAGT TTAATCACTT
5041 TATCAGTCAT TGTTTGCATC AATGTTGTTT TTATATCATG TTTTTGTTGT TTTTATATCA
5101 TGTCTTTGTT GTTGTTATAT CATGTTGTTA TTGTTTATTT ATTAATAAAT TTATGTATTA
5161 TTTTCATATA CATTTTACTC ATTTCCTTTC ATCTCTCACA CTTCTATTAT AGAGAAAGGG
5221 CAAATAGCAA TATTAAAATA TTTCCTCTAA TTAATTCCCT TTCAATGTGC ACGAATTTCG

[0031] 5281 TGCACCGGGC CACTAG (서열 번호 27).

[0032] 다른 트랜스포사제와 달리, 헬리트론 트랜스포사제는 RN아제 H 유사 촉매 도메인을 함유하지 않지만, 대신에 복제 개시 도메인(Rep) 및 DNA 헬리카제 도메인으로 구성된 RepHel 모티프를 포함한다. Rep 도메인은 HUH 슈퍼 패밀리 뉴클레아제의 뉴클레아제 도메인이다.

[0033] 본 발명의 예시적인 헬리트론 트랜스포사제는 하기를 포함하는 아미노산 서열을 포함한다:

```
   1 MSKEQLLIQR SSAAERCRRY RQKMSAEQRA SDLERRRRLQ QNVSEEQLLE KRRSEAEKQR
  61 RHRQKMSKDQ RAFEVERRRW RRQNMSREQS STSTTNTGRN CLLSKNGVHE DAILEHSCGG
 121 MTVRCEFCLS LNFSDEKPSD GKFTRCCSKG KVCPNDIHFP DYPAYLKRLM TNEDSDSKNF
 181 MENIRSINSS FAFASMGANI ASPSGYGPYC FRIHGQVYHR TGTLHPSDGV SRKFAQLYIL
 241 DTAEATSKRL AMPENQGCSE RLMININNLM HEINELTKSY KMLHEVEKEA QSEAAAKGIA
 301 PTEVTMAIKY DRNSDPGRYN SPRVTEVAVI FRNEDGEPPF ERDLLIHCKP DPNNPNATKM
 361 KQISILFPTL DAMTYPILFP HGEKGWGTDI ALRLRDNSVI DNNTRQNVRT RVTQMQYYGF
 421 HLSVRDTFNP ILNAGKLTQQ FIVDSYSKME ANRINFIKAN QSKLRVEKYS GLMDYLKSRS
 481 ENDNVPIGKM IILPSSFEGS PRNMQQRYQD AMAIVTKYGK PDLFITMTCN PKWADITNNL
 541 QRWQKVENRP DLVARVFNIK LNALLNDICK FHLFGKVIAK IHVIEFQKRG LPHAHILLIL
 601 DSESKLRSED DIDRIVKAEI PDEDQCPRLF QIVKSNMVHG PCGIQNPNSP CMENGKCSKG
 661 YPKEFQNATI GNIDGYPKYK RRSGSTMSIG NKVVDNTWIV PYNPYLCLKY NCHINVEVCA
 721 SIKSVKYLFK YIYKGHDCAN IQISEKNIIN HDEVQDFIDS RYVSAPEAVW RLFAMRMHDQ
 781 SHAITRLAIH LPNDQNLYFH TDDFAEVLDR AKRHNSTLMA WFLLNREDSD ARNYYYWEIP
 841 QHYVFNNSLW TKRRKGGNKV LGRLFTVSFR EPERYYLRLL LLHVKGAISF EDLRTVGGVT
 901 YDTFHEAAKH RGLLLDDTIW KDTIDDAIIL NMPKQLRQLF AYICVFGCPS AADKLWDENK
 961 SHFIEDFCWK LHRREGACVN CEMHALNEIQ EVFTLHGMKC SHFKLPDYPL LMNANTCDQL
1021 YEQQQAEVLI NSLNDEQLAA FQTITSAIED QTVHPKCFFL DGPGGSGKTY LYKVLTHYIR
1081 GRGGTVLPTA STGIAANLLL GGRTFHSQYK LPIPLNETSI SRLDIKSEVA KTIKKAQLLI
1141 IDECTMASSH AINAIDRLLR EIMNLNVAFG GKVLLLGGDF RQCLSIVPHA MRSAIVQTSL
1201 KYCNVWGCFR KLSLKTNMRS EDSAYSEWLV KLGDGKLDSS FHLGMDIIEI PHEMICNGSI
1261 IEATFGNSIS IDNIKNISKR AILCPKNEHV QKLNEEILDI LDGDFHTYLS DDSIDSTDDA
1321 EKENFPIEFL NSITPSGMPC HKLKLKVGAI IMLLRNLNSK WGLCNGTRFI IKRLRPNIIE
1381 AEVLTGSAEG EVVLIPRIDL SPSDTGLPFK LIRRQFPVMP AFAMTINKSQ GQTLDRVGIF
1441 LPEPVFAHGQ LYVAFSRVRR ACDVKVKVVN TSSQGKLVKH SESVFTLNVV YREILE
```

[0034] (서열 번호 28).

[0035] 헬리트론 전위(transposition)에서, 트랜스포존의 3 '말단에 가까운 헤어핀은 종결 인자로서 기능을 한다. 그러나 이 헤어핀은 트랜스포스포사제에 의해 우회되어, 측면 서열의 형질도입을 초래할 수 있다. 또한, 헬레이저 전위는 공유적으로 폐쇄된 원형의 중간체를 생성한다. 또한, 헬리트론 전위는 표적 부위 중복(duplication)이 없을 수 있다. 헬레이저 서열에서, 트랜스포사제는 LTS 및 RTS라고 명명된 좌측 및 우측 말단 서열이 측면에 위치한다. 이들 서열은 보존된 5'-TC/CTAG-3' 모티프로 종결된다. 헤어핀 종결 구조를 형성할 잠재력을 가진 19 bp 회문 염기 서열은 RTS의 11개 뉴클레오티드 상류에 위치하며, 서열 GTGCACGAATTTCGTGCACCGGGCCACTAG (서열 번호 29)로 이루어진다.

[0036] 본 발명은 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체 또는 치료 단백질을 포함하는 트랜스포존을 포함하는 트랜스포존 조성물 및 (b) 트랜스포사제 또는 트랜스포사제를 코딩하는 서열을 포함하는 트랜스포사제 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 변형된 T 세포가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 발명은 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 트랜스포존을 포함하는 트랜스포존 조성물 및 (b) 트랜스포사제 또는 트랜스포사제를 코딩하는 서열을 포함하는 트랜스포사제 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 25%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 50%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 60%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발

현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 75%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 80%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 85%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 90%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 95%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 세포 표면 마커는 CD62L 및 CD45RA를 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR-T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR-T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD45RA, CD95, IL-2Rβ, CR7, 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 Tol2 트랜스포존이다. 트랜스포존이 Tol2 트랜스포존인 특정 실시양태에서, 트랜스포사제는 Tol2 트랜스포사제이다.

[0037] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포사제는 Tol2 트랜스포사제이다. Tol2 트랜스포존은 메다카 어류의 게놈으로부터 단리 또는 유래될 수 있으며, hAT 패밀리의 트랜스포존과 유사할 수 있다. 본 발명의 예시적인 Tol2 트랜스포존은 약 4.7 킬로베이스를 포함하는 서열에 의해 코딩되고, 4개의 엑손을 함유하는 Tol2 트랜스포사제 코딩 유전자를 함유한다. 본 발명의 예시적인 Tol2 트랜스포사제는 하기를 포함하는 아미노산 서열을 포함한다:

```
  1 MEEVCDSSAA ASSTVQNQPQ DQEHPWPYLR EFFSLSGVNK DSFKMKCVLC LPLNKEISAF
 61 KSSPSNLRKH IERMHPNYLK NYSKLTAQKR KIGTSTHASS SKQLKVDSVF PVKHVSPVTV
121 NKAILRYIIQ GLHPFSTVDL PSPKELISTL QPGISVITRP TLRSKIAEAA LIMKQKVTAA
181 MSEVEWIATT TDCWTARRKS FIGVTAHWIN PGSLERHSAA LACKRLMGSH TFEVLASAMN
241 DIHSEYEIRD KVVCTTTDSG SNFMKAFRVF GVENNDIETE ARRCESDDTD SEGCGEGSDG
301 VEFQDASRVL DQDDGFEFQL PKHQKCACHL LNLVSSVDAQ KALSNEHYKK LYRSVFGKCQ
361 ALWNKSSRSA LAAEAVESES RLQLLRPNQT PWNSTFMAVD RILQICKEAG EGALRNICTS
421 LEVPMFNPAE MLFLTEWANT MRPVAKVLDI LQAETNTQLG WLLPSVHQLS LKLQRLHHSL
481 RYCDPLVDAL QQGIQTRFKH MFEDPEIIAA AILLPKFRTS WTNDETIIKR GMDYIRVHLE
541 PLDHKKELAN SSSDDEDFFA SLKPTTHEAS KELDGYLACV SDTRESLLTF PAICSLSIKT
601 NTPLPASAAC ERLFSTAGLL FSPKRARLDT NNFENQLLLK LNLRFYNFE
```

(서열 번호 30).

[0038]

[0039] 역전된 반복 서열, 말단 가까운(subterminal) 서열 및 Tol2 트랜스포사제를 포함하는 본 발명의 예시적인 Tol2 트랜스포존은 하기를 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩된다:

[0040]

```
   1 CAGAGGTGTA AAGTACTTGA GTAATTTTAC TTGATTACTG TACTTAAGTA TTATTTTTGG
  61 GGATTTTTAC TTTACTTGAG TACAATTAAA AATCAATACT TTTACTTTTA CTTAATTACA
 121 TTTTTTTAGA AAAAAAAGTA CTTTTTACTC CTTACAATTT TATTTACAGT CAAAAAGTAC
 181 TTATTTTTTG GAGATCACTT CATTCTATTT TCCCTTGCTA TTACCAAACC AATTGAATTG
 241 CGCTGATGCC CAGTTTAATT TAAATGTTAT TTATTCTGCC TATGAAAATC GTTTTCACAT
 301 TATATGAAAT TGGTCAGACA TGTTCATTGG TCCTTTGGAA GTGACGTCAT GTCACATCTA
 361 TTACCACAAT GCACAGCACC TTGACCTGGA AATTAGGGAA ATTATAACAG TCAATCAGTG
 421 GAAGAAAATG GAGGAAGTAT GTGATTCATC AGCAGCTGCG AGCAGCACAG TCCAAAATCA
 481 GCCACAGGAT CAAGAGCACC CGTGGCCGTA TCTTCGCGAA TTCTTTTCTT TAAGTGGTGT
 541 AAATAAAGAT TCATTCAAGA TGAAATGTGT CCTCTGTCTC CCGCTTAATA AAGAAATATC
 601 GGCCTTCAAA AGTTCGCCAT CAAACCTAAG GAAGCATATT GAGGTAAGTA CATTAAGTAT
 661 TTTGTTTTAC TGATAGTTTT TTTTTTTTTT TTTTTTTTTT TTTTGGGTG TGCATGTTTT
 721 GACGTTGATG GCGCGCCTTT TATATGTGTA GTAGGCCTAT TTTCACTAAT GCATGCGATT
 781 GACAATATAA GGCTCACGTA ATAAAATGCT AAAATGCATT TGTAATTGGT AACGTTAGGT
 841 CCACGGGAAA TTTGGCGCCT ATTGCAGCTT TGAATAATCA TTATCATTCC GTGCTCTCAT
 901 TGTGTTTGAA TTCATGCAAA ACACAAGAAA ACCAAGCGAG AAATTTTTTT CCAAACATGT
 961 TGTATTGTCA AAACGGTAAC ACTTTACAAT GAGGTTGATT AGTTCATGTA TTAACTAACA
1021 TTAAATAACC ATGAGCAATA CATTTGTTAC TGTATCTGTT AATCTTTGTT AACGTTAGTT
1081 AATAGAAATA CAGATGTTCA TTGTTTGTTC ATGTTAGTTC ACAGTGCATT AACTAATGTT
1141 AACAAGATAT AAAGTATTAG TAAATGTTGA AATTAACATG TATACGTGCA GTTCATTATT
1201 AGTTCATGTT AACTAATGTA GTTAACTAAC GAACCTTATT GTAAAAGTGT TACCATCAAA
1261 ACTAATGTAA TGAAATCAAT TCACCCTGTC ATGTCAGCCT TACAGTCCTG TGTTTTTGTC
1321 AATATAATCA GAAATAAAAT TAATGTTTGA TTGTCACTAA ATGCTACTGT ATTTCTAAAA
1381 TCAACAAGTA TTTAACATTA TAAAGTGTGC AATTGGCTGC AAATGTCAGT TTTATTAAAG
1441 GGTTAGTTCA CCCAAAAATG AAAATAATGT CATTAATGAC TCGCCCTCAT GTCGTTCCAA
1501 GCCCGTAAGA CCTCCGTTCA TCTTCAGAAC ACAGTTTAAG ATATTTTAGA TTTAGTCCGA
1561 GAGCTTTCTG TGCCTCCATT GAGAATGTAT GTACGGTATA CTGTCCATGT CCAGAAAGGT
1621 AATAAAAACA TCAAAGTAGT CCATGTGACA TCAGTGGGTT AGTTAGAATT TTTTGAAGCA
```

1681 TCGAATACAT TTTGGTCCAA AAATAACAAA ACCTACGACT TTATTCGGCA TTGTATTCTC
1741 TTCCGGGTCT GTTGTCAATC CGCGTTCACG ACTTCGCAGT GACGCTACAA TGCTGAATAA
1801 AGTCGTAGGT TTTGTTATTT TTGGACCAAA ATGTATTTTC GATGCTTCAA ATAATTCTAC
1861 CTAACCCACT GATGTCACAT GGACTACTTT GATGTTTTTA TTACCTTTCT GGACATGGAC
1921 AGTATACCGT ACATACATTT TCAGTGGAGG GACAGAAAGC TCTCGGACTA AATCTAAAAT
1981 ATCTTAAACT GTGTTCCGAA GATGAACGGA GGTGTTACGG GCTTGGAACG ACATGAGGGT
2041 GAGTCATTAA TGACATCTTT TCATTTTTGG GTGAACTAAC CCTTTAATGC TGTAATCAGA
2101 GAGTGTATGT GTAATTGTTA CATTTATTGC ATACAATATA AATATTTATT TGTTGTTTTT
2161 ACAGAGAATG CACCCAAATT ACCTCAAAAA CTACTCTAAA TTGACAGCAC AGAAGAGAAA
2221 GATCGGGACC TCCACCCATG CTTCCAGCAG TAAGCAACTG AAAGTTGACT CAGTTTTCCC
2281 AGTCAAACAT GTGTCTCCAG TCACTGTGAA CAAAGCTATA TTAAGGTACA TCATTCAAGG
2341 ACTTCATCCT TTCAGCACTG TTGATCTGCC ATCATTTAAA GAGCTGATTA GTACACTGCA
2401 GCCTGGCATT TCTGTCATTA CAAGGCCTAC TTTACGCTCC AAGATAGCTG AAGCTGCTCT
2461 GATCATGAAA CAGAAAGTGA CTGCTGCCAT GAGTGAAGTT GAATGGATTG CAACCACAAC
2521 GGATTGTTGG ACTGCACGTA GAAAGTCATT CATTGGTGTA ACTGCTCACT GGATCAACCC
2581 TGGAAGTCTT GAAAGACATT CCGCTGCACT TGCCTGCAAA AGATTAATGG GCTCTCATAC
2641 TTTTGAGGTA CTGGCCAGTG CCATGAATGA TATCCACTCA GAGTATGAAA TACGTGACAA
2701 GGTTGTTTGC ACAACCACAG ACAGTGGTTC CAACTTTATG AAGGCTTTCA GAGTTTTTGG
2761 TGTGGAAAAC AATGATATCG AGACTGAGGC AAGAAGGTGT GAAAGTGATG ACACTGATTC
2821 TGAAGGCTGT GGTGAGGGAA GTGATGGTGT GGAATTCCAA GATGCCTCAC GAGTCCTGGA
2881 CCAAGACGAT GGCTTCGAAT TCCAGCTACC AAAACATCAA AAGTGTGCCT GTCACTTACT
2941 TAACCTAGTC TCAAGCGTTG ATGCCCAAAA AGCTCTCTCA AATGAACACT ACAAGAAACT
3001 CTACAGATCT GTCTTTGGCA AATGCCAAGC TTTATGGAAT AAAAGCAGCC GATCGGCTCT
3061 AGCAGCTGAA GCTGTTGAAT CAGAAAGCCG GCTTCAGCTT TTAAGGCCAA ACCAAACGCG
3121 GTGGAATTCA ACTTTTATGG CTGTTGACAG AATTCTTCAA ATTTGCAAAG AAGCAGGAGA
3181 AGGCGCACTT CGGAATATAT GCACCTCTCT TGAGGTTCCA ATGTAAGTGT TTTTCCCCTC
3241 TATCGATGTA AACAAATGTG GGTTGTTTTT GTTTAATACT CTTTGATTAT GCTGATTTCT
3301 CCTGTAGGTT TAATCCAGCA GAAATGCTGT TCTTGACAGA GTGGGCCAAC ACAATGCGTC
3361 CAGTTGCAAA AGTACTCGAC ATCTTGCAAG CGGAAACGAA TACACAGCTG GGGTGGCTGC
3421 TGCCTAGTGT CCATCAGTTA AGCTTGAAAC TTCAGCGACT CCACCATTCT CTCAGGTACT
3481 GTGACCCACT TGTGGATGCC CTACAACAAG GAATCCAAAC ACGATTCAAG CATATGTTTG
3541 AAGATCCTGA GATCATAGCA GCTGCCATCC TTCTCCCTAA ATTTCGGACC TCTTGGACAA
3601 ATGATGAAAC CATCATAAAA CGAGGTAAAT GAATGCAAGC AACATACACT TGACGAATTC
3661 TAATCTGGGC AACCTTTGAG CCATACCAAA ATTATTCTTT TATTTATTTA TTTTTGCACT
3721 TTTTAGGAAT GTTATATCCC ATCTTTGGCT GTGATCTCAA TATGAATATT GATGTAAAGT
3781 ATTCTTGCAG CAGGTTGTAG TTATCCCTCA GTGTTTCTTG AAACCAAACT CATATGTATC
3841 ATATGTGGTT TGGAAATGCA GTTAGATTTT ATGCTAAAAT AAGGGATTTG CATGATTTTA
3901 GATGTAGATG ACTGCACGTA AATGTAGTTA ATGACAAAAT CCATAAAATT TGTTCCCAGT
3961 CAGAAGCCCC TCAACCAAAC TTTTCTTTGT GTCTGCTCAC TGTGCTTGTA GGCATGGACT

[0041] 4021 ACATCAGAGT GCATCTGGAG CCTTTGGACC ACAAGAAGGA ATTGGCCAAC AGTTCATCTG

4081 ATGATGAAGA TTTTTTCGCT TCTTTGAAAC CGACAACACA TGAAGCCAGC AAAGAGTTGG
4141 ATGGATATCT GGCCTGTGTT TCAGACACCA GGGAGTCTCT GCTCACGTTT CCTGCTATTT
4201 GCAGCCTCTC TATCAAGACT AATACACCTC TTCCCGCATC GGCTGCCTGT GAGAGGCTTT
4261 TCAGCACTGC AGGATTGCTT TTCAGCCCCA AAAGAGCTAG GCTTGACACT AACAATTTTG
4321 AGAATCAGCT TCTACTGAAG TTAAATCTGA GGTTTTACAA CTTTGAGTAG CGTGTACTGG
4381 CATTAGATTG TCTGTCTTAT AGTTTGATAA TTAAATACAA ACAGTTCTAA AGCAGGATAA
4441 AACCTTGTAT GCATTTCATT TAATGTTTTT TGAGATTAAA AGCTTAAACA AGAATCTCTA
4501 GTTTTCTTTC TTGCTTTTAC TTTTACTTCC TTAATACTCA AGTACAATTT TAATGGAGTA
4561 CTTTTTTACT TTTACTCAAG TAAGATTCTA GCCAGATACT TTTACTTTTA ATTGAGTAAA
4621 ATTTTCCCTA AGTACTTGTA CTTTCACTTG AGTAAAATTT TTGAGTACTT TTTACACCTC

[0042] 4681 TG (서열 번호 31).

[0043] 본 발명은 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체 또는 치료 단백질을 포함하는 트랜스포존을 포함하는 트랜스포존 조성물 및 (b) 트랜스포사제 또는 트랜스포사제를 코딩하는 서열을 포함하는 트랜스포사제 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 변형된 T 세포가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 발명은 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 방법으로서, (a)

항원 수용체를 포함하는 트랜스포존을 포함하는 트랜스포존 조성물 및 (b) 트랜스포사제 또는 트랜스포사제를 코딩하는 서열을 포함하는 트랜스포사제 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 25%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 50%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 60%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 75%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 80%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 85%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 90%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 95%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 세포 표면 마커는 CD45RO, CD95, IL-2Rβ, CCR7, 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 2개의 시스 조절 격리 인자 요소가 측면에 위치한 항원 수용체 또는 치료 단백질을 코딩하는 서열을 갖는 플라스미드 DNA 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 피기백 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 피기백 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 피기백™ 또는 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 슬리핑 뷰티 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 슬리핑 뷰티 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 슬리핑 뷰티 트랜스포사제 또는 과활성 슬리핑 뷰티 트랜스포사제(SB100X)이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 헬레이저 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 헬레이저 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 헬리트론 트랜스포사제이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 Tol2 트랜스포존이다. 트랜스포존이 Tol2 트랜스포존인 특정 실시양태에서, 트랜스포사제는 Tol2 트랜스포사제이다.

[0044] 본 발명은 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM}) 및 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 포함하는 조성물을 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체 또는 치료 단백질을 포함하는 트랜스포존을 포함하는 트랜스포존 조성물 및 (b) 트랜스포사제 또는 트랜스포사제를 코딩하는 서열을 포함하는 트랜스포사제 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T_{SCM} 및 다수의 변형된 T_{CM}을 포함하는 조성물을 생산하며, 상기 다수의 변형된 T_{SCM}이 하나 이상의 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2Rβ를 발현하고 상기 다수의 변형된 T_{CM}이 하나 이상의 CD45RO, CD95, IL-2Rβ, CCR7, 및 CD62L을 발현하는 함으로써 다수의 변형된 T_{SCM} 및 다수의 변형된 T_{CM}을 포함하는 조성물을 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 1%, 2%, 5%, 7%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트의 세포를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 1%, 2%, 5%, 7%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%,

75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트의 세포를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 10%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 90%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 90%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 10%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 20%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 80%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 80%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 20%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 30%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 70%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 70%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 30%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 40%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 60%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 60%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 40%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 50%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 50%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 2개의 시스 조절 격리 인자가 측면에 위치한 항원 수용체 또는 치료 단백질을 코딩하는 서열을 갖는 플라스미드 DNA 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 피기백 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 피기백 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 피기백™ 또는 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 슬리핑 뷰티 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 슬리핑 뷰티 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 슬리핑 뷰티 트랜스포사제 또는 과활성 슬리핑 뷰티 트랜스포사제(SB100X)이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 헬레이저 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 헬레이저 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 헬리트론 트랜스포사제이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 Tol2 트랜스포존이다. 트랜스포존이 Tol2 트랜스포존인 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, 트랜스포사제는 Tol2 트랜스포사제이다.

[0045] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 임의의 종으로부터 유래 또는 재조합될 수 있다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 트랜스포존은 합성적일 수 있다.

[0046] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 항원 수용체는 T 세포 수용체이다. 특정 실시양태에서, T 세포 수용체는 자연 발생적이다. 특정 실시양태에서, T 세포 수용체는 자연 발생적이지 않다. 특정 실시양태에서, 특히, T 세포 수용체가 자연 발생적이지 않은 실시양태에서, T 세포 수용체는 야생형 T 세포 수용체와 비교하여 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함한다. 특정 실시양태에서, 특히, T 세포 수용체가 자연 발생적이지 않은 실시양태에서, T 세포 수용체는 재조합 T 세포 수용체이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 항원 수용체는 키메라 항원 수용체(CAR)이다. 특정 실시양태에서, CAR은 CARTyrin이다. 특정 실시양태에서, CAR은 하나 이상의 VHH 서열(들)을 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR은 VCAR이다.

[0047] 방법이 (a) 항원 수용체를 포함하는 트랜스포존을 포함하는 트랜스포존 조성물 및 (b) 트랜스포사제 또는 트랜스포사제를 코딩하는 서열을 포함하는 트랜스포사제 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하는 단계를 포함하는 것인 실시양태를 포함하여 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 방법은 (c) 치료 단백질을 포함하는 트랜스포존을 포함하는 제2 트랜스포존 조성물을 제1 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 변형된 T 세포가 치료 단백질을 발현할 수 있는 것인 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 치료 단백질은 분비 가능한 단백질이고, 방법은 치료 단백질을 분비할 수 있는 변형된 T 세포를 생산한다. 특정 실시양태에서, (b)의 트랜스포사제 조성물은 (a)의 트랜스포존 및 (c)의 트랜스포존을 전위시킨다. 특정 실시양태에서, 상기 방법은 (d) 트랜스포사제 또는 트랜스포사제를 코딩하는 서열을 포함하는 제2 트랜스포사제 조성물을 1차 인간 T 세

포에 도입하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 제2 트랜스포사제 조성물은 (c)의 트랜스포존을 전위시킨다. 특정 실시양태에서, (b)의 트랜스포사제 조성물은 (a)의 트랜스포존을 전위시키고 (d)의 트랜스포사제 조성물은 (c)의 트랜스포존을 전위시킨다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 2개의 시스 조절 격리 인자가 측면에 위치한 항원 수용체 또는 치료 단백질을 코딩하는 서열을 갖는 플라스미드 DNA 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 피기백 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 피기백 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 피기백™ 또는 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 슬리핑 뷰티 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 슬리핑 뷰티 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 슬리핑 뷰티 트랜스포사제 또는 과활성 슬리핑 뷰티 트랜스포사제(SB100X)이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 헬레이저 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 헬레이저 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 헬리트론 트랜스포사제이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 Tol2 트랜스포존이다. 트랜스포존이 Tol2 트랜스포존인 특정 실시양태에서, 트랜스포사제는 Tol2 트랜스포사제이다.

[0048] 본 발명은 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 항원 수용체 또는 치료 단백질은 트랜스포존에 포함되지 않은 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 변형된 T 세포를 접촉시켜 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 활성화된 변형된 T 세포가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 발명은 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 항원 수용체 또는 치료 단백질은 트랜스포존에 포함되지 않은 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 다수의 변형된 T 세포를 접촉시켜 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 생산함으로써 다수의 활성화된 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 25%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 50%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 60%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 75%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 80%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 85%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 90%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 95%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마

커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 세포 표면 마커는 CD62L 및 CD45RA를 포함한다. 특정 실시양태에서, 활성화된 변형된 T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 활성화된 변형된 T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD45RA, CD95, IL-2Rβ, CR7, 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다.

[0049] 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 항원 수용체 또는 치료 단백질은 트랜스포존에 포함되지 않은 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 변형된 T 세포를 접촉시켜 활성화된 변형된 T 세포를 생산하는 단계를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, (b)의 T 세포 활성화제 조성물은 항-인간 CD2 단일 특이적 사량체 항체 복합체를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 상기 방법은 (c) 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브(Iscove)의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 증식 조성물과 활성화된 변형된 T 세포를 접촉시켜 다수의 증식된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 증식된 변형된 T 세포의 적어도 2%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 것인 단계를 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트는 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 세포 표면 마커(들)를 발현한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T 세포의 적어도 60%는 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 세포 표면 마커(들)를 발현한다. 특정 실시양태에서, 상기 방법은 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트로 포함하는 조성물을 생산하기 위해 다수의 증식된 변형된 T 세포를 농축하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 상기 방법은 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 적어도 60%로 포함하는 조성물을 생산하기 위해 다수의 증식된 변형된 T 세포를 농축하는 단계를 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 농축 단계는 다수의 농축된 변형된 T 세포로부터 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 단리하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 농축 단계는 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 증식 조성물을 단리된 변형된 T_{SCM}과 접촉시켜 다수의 증식된 농축된 변형된 T_{SCM}을 생산하는 단계를 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 니코틴아미드, 2,4,7,9-테트라메틸-5-데신-4,7-디올(TMDD), 디이소프로필 아디페이트(DIPA), n-부틸-벤젠술폰아미드, 1,2-벤젠디카르복실산, 비스(2-메틸프로필) 에스테르, 팔미트산, 리놀레산, 올레산, 스테아르산 히드라지드, 올레아미드, 스테롤 및 알칸 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 팔미트산, 리놀레산, 올레산 및 스테롤 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 0.9 mg/kg 내지 90 mg/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg의 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 약 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 9 mg/kg 농도의 옥탄산, 약 2 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2 mg/kg 농도의 올레산 및 약 1 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 6.4 μmol/kg 내지 640 μmol/kg 농도의 옥탄산, 종점을 포함하여 0.7 μmol/kg 내지 70 μmol/kg 농도의 팔미트산, 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg의 농도의 리놀레산, 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg의 농도의 올레산, 및 종점을 포함하여 0.25 μmol/kg 내지 25 μmol/kg의 농도의 스테롤 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 64 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.5 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 추가로 포함한다.

[0050] 본 발명은 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 항원 수용체 또는 치료 단백질은 트랜스포존에 포함되지 않은 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합

체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 변형된 T 세포를 접촉시켜 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 활성화된 변형된 T 세포가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 발명은 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 항원 수용체 또는 치료 단백질은 트랜스포존에 포함되지 않은 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 다수의 변형된 T 세포를 접촉시켜 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 생산함으로써 다수의 활성화된 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 25%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 50%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 60%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 75%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 80%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 85%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 90%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 95%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 활성화된 변형된 T_{CM}의 세포 표면 마커는 CD45RO, CD95, IL-2Rβ, CCR7, 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다.

[0051] 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 항원 수용체 또는 치료 단백질은 트랜스포존에 포함되지 않은 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 변형된 T 세포를 접촉시켜 활성화된 변형된 T 세포를 생산하는 단계를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, (b)의 T 세포 활성화제 조성물은 항-인간 CD2 단일 특이적 사량체 항체 복합체를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 상기 방법은 (c) 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브(Iscove)의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 증식 조성물과 활성화된 변형된 T 세포를 접촉시켜 다수의 증식된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 증식된 변형된 T 세포의 적어도 2%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 것인 단계를 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트는 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 세포 표면 마커(들)를 발현한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T 세포의 적어도 60%는 줄기 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 세포 표면

마커(들)를 발현한다. 특정 실시양태에서, 상기 방법은 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트로 포함하는 조성물을 생산하기 위해 다수의 증식된 변형된 T 세포를 농축하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 상기 방법은 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 적어도 60%로 포함하는 조성물을 생산하기 위해 다수의 증식된 변형된 T 세포를 농축하는 단계를 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 농축 단계는 다수의 농축된 변형된 T 세포로부터 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 단리하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 농축 단계는 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 증식 조성물을 단리된 변형된 T_{CM}과 접촉시켜 다수의 증식된 농축된 변형된 T_{CM}을 생산하는 단계를 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 니코틴아미드, 2,4,7,9-테트라메틸-5-데신-4,7-디올(TMDD), 디이소프로필 아디페이트(DIPA), n-부틸-벤젠술폰아미드, 1,2-벤젠디카르복실산, 비스(2-메틸프로필) 에스테르, 팔미트산, 리놀레산, 올레산, 스테아르산 히드라지드, 올레아미드, 스테롤 및 알칸 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 팔미트산, 리놀레산, 올레산 및 스테롤 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 0.9 mg/kg 내지 90 mg/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg의 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 약 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 9 mg/kg 농도의 옥탄산, 약 2 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2 mg/kg 농도의 올레산 및 약 1 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 6.4 μmol/kg 내지 640 μmol/kg 농도의 옥탄산, 종점을 포함하여 0.7 μmol/kg 내지 70 μmol/kg 농도의 팔미트산, 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg의 농도의 리놀레산, 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg의 농도의 올레산, 및 종점을 포함하여 0.25 μmol/kg 내지 25 μmol/kg의 농도의 스테롤 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 64 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.5 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 추가로 포함한다.

[0052] 본 발명은 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM}) 및 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 포함하는 조성물을 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 항원 수용체 또는 치료 단백질은 트랜스포존에 포함되지 않은 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 다수의 변형된 T 세포를 접촉시켜 다수의 활성화된 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM}) 및 다수의 활성화된 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})을 포함하는 조성물을 생성하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T_{SCM}이 하나 이상의 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2Rβ를 발현하고 다수의 활성화된 변형된 T_{CM}이 하나 이상의 CD45RO, CD95, IL-2Rβ, CCR7, 및 CD62L을 발현함으로써 다수의 변형된 T_{SCM} 및 다수의 변형된 T_{CM}을 포함하는 조성물을 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 1%, 2%, 5%, 7%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트의 세포를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 1%, 2%, 5%, 7%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트의 세포를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 10%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 90%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 90%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 10%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 20%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의

전체 세포 수의 적어도 80%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 80%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 20%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 30%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 70%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 70%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 30%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 40%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 60%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 60%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 40%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 50%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 50%를 포함한다.

[0053] 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM}) 또는 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 포함하는 조성물을 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 항원 수용체 또는 치료 단백질은 트랜스포존에 포함되지 않은 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 다수의 변형된 T 세포를 접촉시켜 다수의 활성화된 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM}) 및 다수의 활성화된 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 포함하는 조성물을 생산하는 단계를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, (b)의 T 세포 활성화제 조성물은 항-인간 CD2 단일 특이적 사량체 항체 복합체를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 상기 방법은 (c) 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 증식 조성물과 다수의 활성화된 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM}) 및 다수의 활성화된 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 포함하는 상기 조성물을 접촉시켜 다수의 증식된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 증식된 변형된 T_{SCM}이 하나 이상의 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2Rβ를 발현하고 다수의 증식된 변형된 T_{CM}이 하나 이상의 CD45RO, CD95, IL-2Rβ, CCR7, 및 CD62L을 발현함으로써 다수의 증식된 변형된 T_{SCM} 및 다수의 증식된 변형된 T_{CM}을 포함하는 조성물을 생산하는 단계를 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 농축 단계는 다수의 농축된 변형된 T 세포로부터 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 단리하는 단계 또는 다수의 농축된 변형된 T 세포로부터 중심 기억 T 세포(T_{SM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 단리하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 농축 단계는 다수의 농축된 변형된 T 세포로부터 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 단리하는 단계 및 다수의 농축된 변형된 T 세포로부터 중심 기억 T 세포(T_{SM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 단리하는 단계를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 농축 단계는 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 증식 조성물과 단리된 변형된 T_{SCM} 및 단리된 변형된 T_{CM}을 포함하는 조성물과 접촉시켜 다수의 증식된 농축된 변형된 T_{SCM} 및 다수의 증식된 농축된 변형된 T_{CM}을 포함하는 조성물을 생산하는 단계를 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 니코틴아미드, 2,4,7,9-테트라메틸-5-데신-4,7-디올(TMDD), 디이소프로필 아디페이트(DIPA), n-부틸-벤젠술폰아미드, 1,2-벤젠디카르복실산, 비스(2-메틸프로필) 에스테르, 팔미트산, 리놀레산, 올레산, 스테아르산 히드라지드, 올레아미드, 스테롤 및 알칸 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 팔미트산, 리놀레산, 올레산 및 스테롤 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 0.9 mg/kg 내지 90 mg/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg의 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 약 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물

은 약 9 mg/kg 농도의 옥탄산, 약 2 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2 mg/kg 농도의 올레산 및 약 1 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 6.4 μmol/kg 내지 640 μmol/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.7 μmol/kg 내지 70 μmol/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg의 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg의 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 0.25 μmol/kg 내지 25 μmol/kg의 농도의 스테롤 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 64 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.5 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 1%, 2%, 5%, 7%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트의 세포를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 1%, 2%, 5%, 7%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트의 세포를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 10%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 90%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 90%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 10%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 20%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 80%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 80%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 20%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 30%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 70%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 70%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 30%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 40%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 60%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 60%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 40%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 50%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 50%를 포함한다.

[0054] 활성화된 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 항원 수용체 또는 치료 단백질은 트랜스포존에 포함되지 않은 것인 단계, 및 (b) 하나 이상의 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체를 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 다수의 변형된 T 세포를 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 포함하는 본 발명의 활성화된 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 도입 단계는 상동 재조합을 포함한다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 다수의 T 세포 중 적어도 하나의 1차 T 세포의 게놈 서열과 접촉한다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 다수의 T 세포 중 1차 T 세포의 일부분의 게놈 서열과 접촉한다. 특정 실시양태에서, 1차 T 세포의 일부분은 다수의 T 세포 중 전체 1차 T 세포 수의 적어도 1%, 2%, 5%, 7%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트이다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 다수의 T 세포 중 각각의 1차 T 세포의 게놈 서열과 접촉한다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 단일 가닥 절단을 유도한다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 이중 가닥 절단을 유도한다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 도입 단계는 공여 서열 조성물을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 공여 서열 조성물은 항원 수용체를 코딩하는 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 공여 서열 조성물은 항원 수용체를 코딩하는 서열, 5 '게놈 서열 및 3' 게놈 서열을 포함하며, 상기 5 '게놈 서열은 게놈 편집 조성

물에 의해 유도된 절단 지점에 5'인 1차 T 세포의 게놈 서열과 상동성 또는 동일성을 갖고 상기 3' 게놈 서열은 게놈 편집 조성물에 의해 유도된 절단 지점에 3'인 1차 T 세포의 게놈 서열과 상동성 또는 동일성을 갖는다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물 및 공여 서열 조성물은 게놈 서열과 동시에 또는 순차적으로 접촉된다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물 및 공여 서열 조성물은 게놈 서열과 순차적으로 접촉되고, 게놈 편집 조성물이 우선 제공된다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 DAN 결합 도메인을 코딩하는 서열 및 뉴클레아제 도메인을 코딩하는 서열을 포함한다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 DNA 결합 도메인 및 뉴클레아제 도메인을 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, DNA 결합 도메인은 가이드 RNA(gRNA)를 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, DNA 결합 도메인은 TALEN의 DNA 결합 도메인을 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, DNA 결합 도메인은 ZFN의 DNA 결합 도메인을 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 Cas9 뉴클레아제 또는 이의 서열을 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 불활성 Cas9(서열 번호 33, 위치 10에서 아스파르트산(D)에서 알라닌(A)으로의 치환(D10A) 및 위치 840에서 히스티딘(H)에서 알라닌(A)으로의 치환(H840A)을 포함)를 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 짧은 불활성 Cas9(서열 번호 32, 위치 10에서 아스파르트산(D)에서 알라닌(A)으로의 치환(D10A) 및 위치 540에서 아스파라긴(N)에서 알라닌(A)으로의 치환(N540A)을 포함)를 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함하거나 추가로 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, IIS형 엔도뉴클레아제는 AciI, Mn1I, AlwI, BbvI, BccI, BceAI, BsmAI, BsmFI, BspCNI, BsrI, BtsCI, HgaI, HphI, HpyAV, Mbo1I, My1I, PleI, SfaNI, AcuI, BciVI, BfuAI, BmgBI, BmrI, BpmI, BpuEI, BsaI, BseRI, BsgI, BsmI, BspMI, BsrBI, BsrBI, BsrDI, BtgZI, BtsI, EarI, EciI, MmeI, NmeAIII, BbvCI, Bpu10I, BspQI, SapI, BaeI, BsaXI, CspCI, BfiI, MboII, Acc36I, FokI 또는 Clo051을 포함한다. 특정 실시양태에서, IIS형 엔도뉴클레아제는 Clo051을 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 TALEN 또는 이의 뉴클레아제 도메인을 포함하거나 추가로 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 ZFN 또는 이의 뉴클레아제 도메인을 포함하거나 추가로 포함한다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 게놈 서열 내 절단을 유도하고, 공여 서열 조성물은 1차 T 세포의 내인성 DNA 복구 기전을 사용하여 삽입된다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 공여 서열 조성물의 삽입은 게놈 편집 조성물의 DNA 결합 부위를 제거함으로써 게놈 편집 조성물의 추가 활성을 방지한다.

[0055] 활성화된 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 항원 수용체 또는 치료 단백질은 트랜스포존에 포함되지 않은 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 다수의 변형된 T 세포를 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 포함하는 본 발명의 활성화된 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 바이러스 벡터는 항원 수용체를 포함한다. 특정 실시양태에서, 바이러스 벡터는 RNA 바이러스로부터 단리, 유래 또는 재조합된 하나 이상의 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, RNA 바이러스는 단일 가닥 또는 이중 가닥 바이러스이다. 특정 실시양태에서, 바이러스 벡터는 DNA 바이러스로부터 단리, 유래 또는 재조합된 하나 이상의 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, DNA 바이러스는 단일 가닥 또는 이중 가닥 바이러스이다. 특정 실시양태에서, 바이러스는 복제 결함성이다.

[0056] 활성화된 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 항원 수용체 또는 치료 단백질은 트랜스포존에 포함되지 않은 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 다수의 변형된 T 세포를 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 포함하는 본 발명의 활성화된 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 바이러스 벡터는 항원 수용체를 포함한다. 특정 실시양태에서, 바이러스 벡터는 레트로바이러스(retrovirus)로부터 단리 또는 유래된 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 바이러스 벡터는 렌티바이러스(lentivirus)로부터 단리 또는 유래된 서열을 포함한다.

[0057] 활성화된 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 항원 수용체 또는 치료 단백질은 트랜스포존에 포함되지 않은 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복

합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 다수의 변형된 T 세포를 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 포함하는 본 발명의 활성화된 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 바이러스 벡터는 항원 수용체를 포함한다. 특정 실시양태에서, 바이러스 벡터는 레트로바이러스로부터 단리 또는 유래된 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 바이러스 벡터는 감마 레트로바이러스로부터 단리 또는 유래된 서열을 포함한다.

[0058] 활성화된 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 항원 수용체 또는 치료 단백질은 트랜스포존에 포함되지 않은 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 다수의 변형된 T 세포를 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 포함하는 본 발명의 활성화된 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 바이러스 벡터는 항원 수용체를 포함한다. 특정 실시양태에서, 바이러스 벡터는 아데노 관련 바이러스(AAV: adeno-associated virus)로부터 단리 또는 유래된 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, AAV는 혈청형 AV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10 또는 AAV11이다. 특정 실시양태에서, AAV는 AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10 또는 AAV11 중 하나 이상으로부터의 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, AAV는 AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8, AAV9, AAV10 또는 AAV11 중 하나 이상으로부터 단리, 유래 또는 재조합된 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, AAV는 AAV2로부터 단리, 유래 또는 재조합된 서열을 포함한다. 벡터가 혈액 뇌 장벽(BBB: blood brain barrier)을 가로지르는 것을 포함하는 특정 실시양태에서, AAV는 AAV9로부터 단리, 유래 또는 재조합된 서열을 포함한다. 본 발명의 예시적인 아데노 관련 바이러스 및 재조합 아데노 관련 바이러스는 하나의 혈청형의 게놈 및 다른 혈청형의 캡시드(예를 들어, AAV2/5, AAV-DJ 및 AAV-DJ8)를 함유하는 AAV 혼성체 및 자가 상보적 AAV(scAAV: self-complementary AAV)를 포함하지만 이에 제한되지 않는다. 본 발명의 예시적인 아데노 관련 바이러스 및 재조합 아데노 관련 바이러스는 rAAV-LK03, rAAV-NP59 및 rAAV-NP84를 포함하지만 이에 제한되지 않는다.

[0059] 본 발명의 활성화된 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 핵산 벡터는 항원 수용체를 포함한다. 특정 실시양태에서, DNA 벡터는 항원 수용체를 포함한다. 특정 실시양태에서, mRNA 벡터는 항원 수용체를 포함한다. 특정 실시양태에서, 핵산 벡터는 플라스미드 또는 미니서클 벡터이다.

[0060] 본 발명의 활성화된 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 나노입자 벡터는 항원 수용체를 포함한다. 나노입자는 예를 들면 국제 특허 공보 WO 2012/094679호, 국제 특허 공보 WO 2016/022805호, 국제 특허 공보 WO/2011/133635호, 국제 특허 공보 WO/2016/090111호, 국제 특허 공보 WO/2017/004498호 WO/2017/004509호, 국제 특허 출원 PCT/US2017/030271호, 미국 특허 제6,835,394호, 미국 특허 제7,217,427호 및 미국 특허 제7,867,512호에 개시된 중합체로 구성될 수 있다.

[0061] 본 발명의 활성화된 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 특정 실시양태에서, 항원 수용체는 T 세포 수용체이다. 특정 실시양태에서, T 세포 수용체는 자연 발생적이다. 특정 실시양태에서, T 세포 수용체는 자연 발생적이지 않다. 특정 실시양태에서, 특히, T 세포 수용체가 자연 발생적이지 않은 실시양태에서, T 세포 수용체는 야생형 T 세포 수용체와 비교하여 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함한다. 특정 실시양태에서, 특히, T 세포 수용체가 자연 발생적이지 않은 실시양태에서, T 세포 수용체는 재조합 T 세포 수용체이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 항원 수용체는 키메라 항원 수용체(CAR)이다. 특정 실시양태에서, CAR은 CARTyrin이다. 특정 실시양태에서, CAR은 하나 이상의 VHH 서열(들)을 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR은 VCAR이다.

[0062] 활성화된 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 항원 수용체 또는 치료 단백질은 트랜스포존에 포함되지 않은 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 다수의 변형된 T 세포를 접촉시키는 단계를 포함하는 방법을 포함하는 본 발명의 활성화된 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 방법은 치료 단백질을 발현할 수 있는 변형된 T 세포를 생산하기 위해 치료 단백질을 포함하는 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 치료 단백질은 분비 가능한 단백질이고, 방법은 치료 단백질을 분비할 수 있는 변형된 T 세포를 생산한다. 특정 실시양태에서, 도입 단계는 상동 재조합을 포함하고, 공여 서열은 치료 단백질을 코딩하는 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 항원 수용체를 포함하는 공여 서열은 치료 단백질을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 제1 공여 서열은 항원 수용체

를 포함하고, 제2 공여 서열은 치료 단백질을 포함한다. 특정 실시양태에서, 벡터는 치료 단백질을 코딩하는 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 벡터는 바이러스 벡터이다. 특정 실시양태에서, 벡터는 나노입자이다. 특정 실시양태에서, 항원 수용체를 포함하는 벡터는 치료 단백질을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 제1 벡터는 항원 수용체를 포함하고, 제2 벡터 주형은 치료 단백질을 포함한다.

[0063] 본 발명은 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 트랜스포존은 항원 수용체를 포함하는 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 변형된 T 세포를 접촉시켜 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 활성화된 변형된 T 세포가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 발명은 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 트랜스포존은 항원 수용체를 포함하는 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 다수의 변형된 T 세포를 접촉시켜 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 25%, 50%, 60%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 60%는 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, (b)의 T 세포 활성화제 조성물은 항-인간 CD2 단일 특이적 사량체 항체 복합체를 추가로 포함한다. 본 발명은 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함하는 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 CAR-T 세포를 생산하는 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD2 단일 특이적 사량체 항체 복합체 및 활성화 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 CAR-T 세포를 접촉시켜 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 활성화된 CAR-T 세포가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 CAR 발현 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})(CAR-T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 발명은 다수의 변형된 줄기 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 CAR-T 세포를 생산하는 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD2 단일 특이적 사량체 항체 복합체 및 활성화 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 다수의 CAR-T 세포를 접촉시켜 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 방법은 (c) 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 증식 조성물과 활성화된 변형된 T 세포를 접촉시켜 다수의 증식된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 증식된 변형된 T 세포의 적어도 2%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 것인 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 니코틴아미드, 2,4,7,9-테트라메틸-5-데신-4,7-디올(TMDD), 디이소프로필 아디페이트(DIPA), n-부틸-벤젠술폰아미드, 1,2-벤젠디카르복실산, 비스(2-메틸프로필) 에스테르, 팔미트산, 리놀레산, 올레산, 스테아르산 히드라지드, 올레아미드, 스테롤 및 알칸 중 하나 이상을 포함하거나 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 팔미트산, 리놀레산, 올레산 및 스테롤(예를 들어, 콜레스테롤) 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 0.9 mg/kg 내지 90 mg/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg의 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 약 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율(parts per million)). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 9 mg/kg 농도의 옥탄산, 약 2 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2 mg/kg 농도의 올레산 및 약 1 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특

정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 약 1.01 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 1.01 mg/kg 농도의 스테롤을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 6.4 μmol/kg 내지 640 μmol/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.7 μmol/kg 내지 70 μmol/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 0.25 μmol/kg 내지 25 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 64 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.5 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤을 포함한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트는 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 세포 표면 마커(들)를 발현한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T 세포의 적어도 60%는 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 세포 표면 마커(들)를 발현한다. 특정 실시양태에서, 방법은 (d) 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트로 포함하는 조성물을 생산하기 위해 다수의 증식된 변형된 T 세포를 농축하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 방법은 (d) 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 적어도 60%로 포함하는 조성물을 생산하기 위해 다수의 증식된 변형된 T 세포를 농축하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 농축 단계는 다수의 농축된 변형된 T 세포로부터 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 단리하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 농축 단계는 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 증식 조성물을 단리된 변형된 T_{SCM}과 접촉시켜 다수의 증식된 농축된 변형된 T_{SCM}을 생산하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 니코틴아미드, 2,4,7,9-테트라메틸-5-데신-4,7-디올(TMDD), 디이소프로필 아디페이트(DIPA), n-부틸-벤젠술폰아미드, 1,2-벤젠디카르복실산, 비스(2-메틸프로필) 에스테르, 팔미트산, 리놀레산, 올레산, 스테아르산 히드라지드, 올레아미드, 스테롤 및 알칸 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 팔미트산, 리놀레산, 올레산 및 스테롤(예를 들어, 콜레스테롤) 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 0.9 mg/kg 내지 90 mg/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg의 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 약 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 9 mg/kg 농도의 옥탄산, 약 2 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2 mg/kg 농도의 올레산 및 약 1 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율).
특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 약 1.01 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 1.01 mg/kg 농도의 스테롤을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 6.4 μmol/kg 내지 640 μmol/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.7 μmol/kg 내지 70 μmol/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 0.25 μmol/kg 내지 25 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 64 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.5 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산,

약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤을 포함한다.

[0064] 본 발명은 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 트랜스포존은 항원 수용체를 포함하는 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 변형된 T 세포를 접촉시켜 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 활성화된 변형된 T 세포가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 발명은 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 트랜스포존은 항원 수용체를 포함하는 것인 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 다수의 변형된 T 세포를 접촉시켜 다수의 활성화된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 25%, 50%, 60%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 99%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 다수의 활성화된 변형된 T 세포의 적어도 60%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, (b)의 T 세포 활성화제 조성물은 항-인간 CD2 단일 특이적 사량체 항체 복합체를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 방법은 (c) 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 증식 조성물과 활성화된 변형된 T 세포를 접촉시켜 다수의 증식된 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 증식된 변형된 T 세포의 적어도 2%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 것인 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 니코틴아미드, 2,4,7,9-테트라메틸-5-데신-4,7-디올(TMDD), 디이소프로필 아디페이트(DIPA), n-부틸-벤젠술폰아미드, 1,2-벤젠디카르복실산, 비스(2-메틸프로필) 에스테르, 팔미트산, 리놀레산, 올레산, 스테아르산 히드라지드, 올레아미드, 스테롤 및 알칸 중 하나 이상을 포함하거나 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 팔미트산, 리놀레산, 올레산 및 스테롤(예를 들어, 콜레스테롤) 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 0.9 mg/kg 내지 90 mg/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg의 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 약 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율(parts per million)). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 9 mg/kg 농도의 옥탄산, 약 2 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2 mg/kg 농도의 올레산 및 약 1 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 약 1.01 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 1.01 mg/kg 농도의 스테롤을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 6.4 μmol/kg 내지 640 μmol/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.7 μmol/kg 내지 70 μmol/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 0.25 μmol/kg 내지 25 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 64 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.5 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤을 포함한다.

특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트는 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 세포 표면 마커(들)를 발현한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T 세포의 적어도 60%는 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 세포 표면 마커(들)를 발현한다. 특정 실시양태에서, 방법은 (d) 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트로 포함하는 조성물을 생산하기 위해 다수의 증식된 변형된 T 세포를 농축하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 방법은 (d) 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 적어도 60%로 포함하는 조성물을 생산하기 위해 다수의 증식된 변형된 T 세포를 농축하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 농축 단계는 다수의 농축된 변형된 T 세포로부터 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 단리하는 단계를 추가로 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 농축 단계는 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 증식 조성물을 단리된 변형된 T_{CM}과 접촉시켜 다수의 증식된 농축된 변형된 T_{CM}을 생산하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 니코틴아미드, 2,4,7,9-테트라메틸-5-데신-4,7-디올(TMDD), 디이소프로필 아디페이트(DIPA), n-부틸-벤젠술폰아미드, 1,2-벤젠디카르복실산, 비스(2-메틸프로필) 에스테르, 팔미트산, 리놀레산, 올레산, 스테아르산 히드라지드, 올레아미드, 스테롤 및 알칸 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 팔미트산, 리놀레산, 올레산 및 스테롤(예를 들어, 콜레스테롤) 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 0.9 mg/kg 내지 90 mg/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg의 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 약 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 9 mg/kg 농도의 옥탄산, 약 2 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2 mg/kg 농도의 올레산 및 약 1 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 약 1.01 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 1.01 mg/kg 농도의 스테롤을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 6.4 μmol/kg 내지 640 μmol/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.7 μmol/kg 내지 70 μmol/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 0.25 μmol/kg 내지 25 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 64 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.5 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤을 포함한다.

[0065] 본 발명은 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM}) 및 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 포함하는 조성물을 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM}) 및 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 포함하는 조성물을 생산하며, 트랜스포존은 항원 수용체를 포함하는 것인 단계, 및 (b) 상기 조성물과 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물을 접촉시켜 다수의 활성화된 변형된 T_{SCM} 및 다수의 활성화된 변형된 T_{CM}을 포함하는 조성물을 생산하며, 상기 다수의 활성화된 변형된 T_{SCM}이 하나 이상의 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2Rβ를 발현하고 상기 다수의 활성화된 변형된 T_{CM}이 하나 이상의 CD45RO, CD95, IL-2Rβ, CCR7, 및 CD62L을 발현함으로써 다수의 변형된 T_{SCM} 및 다수의 변형된 T_{CM}을 포함하는 조성물을 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제

공한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, (b)의 T 세포 활성화제 조성물은 항-인간 CD2 단일 특이적 사량체 항체 복합체를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 방법은 (c) 상기 조성물과 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 증식 조성물을 접촉시켜 다수의 증식된 변형된 T 세포를 생산하며, 다수의 증식된 변형된 T 세포를 포함하는 조성물의 적어도 2%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 것인 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 방법은 (c) 상기 조성물과 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 증식 조성물을 접촉시켜 다수의 증식된 변형된 T 세포를 생산하며, 다수의 증식된 변형된 T 세포를 포함하는 조성물의 적어도 2%가 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 것인 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 니코틴아미드, 2,4,7,9-테트라메틸-5-데신-4,7-디올(TMDD), 디이소프로필 아디페이트(DIPA), n-부틸-벤젠술폰아미드, 1,2-벤젠디카르복실산, 비스(2-메틸프로필) 에스테르, 팔미트산, 리놀레산, 올레산, 스테아르산 히드라지드, 올레아미드, 스테롤 및 알칸 중 하나 이상을 포함하거나 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 팔미트산, 리놀레산, 올레산 및 스테롤(예를 들어, 콜레스테롤) 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 0.9 mg/kg 내지 90 mg/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg의 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 약 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 9 mg/kg 농도의 옥탄산, 약 2 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2 mg/kg 농도의 올레산, 및 약 1 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 약 1.01 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 1.01 mg/kg 농도의 스테롤을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 6.4 μmol/kg 내지 640 μmol/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.7 μmol/kg 내지 70 μmol/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 0.25 μmol/kg 내지 25 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 64 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.5 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤을 포함한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T_{SCM} 및 다수의 증식된 변형된 T_{CM}을 포함하는 조성물의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트의 세포는 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 세포 표면 마커(들)를 발현한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T_{SCM} 및 다수의 증식된 변형된 T_{CM}을 포함하는 조성물의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트의 세포는 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 세포 표면 마커(들)를 발현한다. 특정 실시양태에서, 방법은 (d) 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트로 포함하는 조성물을 생산하기 위해 조성물을 농축하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 상기 방법은 (d) 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트로 포함하는 조성물을 생산하기 위해 조성물을 농축하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 농축 단계는 조성물로부터 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 단리하는 단계 또는 조성물로부터 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 단리하는 단계를 추

가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 농축 단계는 조성물로부터 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 단리하는 단계 및 조성물로부터 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 변형된 T 세포를 단리하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 농축 단계는 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 증식 조성물과 단리된 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}을 접촉시켜 다수의 증식된 농축된 변형된 T_{SCM}및/또는 T_{CM}을 포함하는 조성물을 생산하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 니코틴아미드, 2,4,7,9-테트라메틸-5-데신-4,7-디올(TMDD), 디이소프로필 아디페이트(DIPA), n-부틸-벤젠술폰아미드, 1,2-벤젠디카르복실산, 비스(2-메틸프로필) 에스테르, 팔미트산, 리놀레산, 올레산, 스테아르산 히드라지드, 올레아미드, 스테롤 및 알칸 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 팔미트산, 리놀레산, 올레산 및 스테롤(예를 들어, 콜레스테롤) 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 0.9 mg/kg 내지 90 mg/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg의 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 약 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 9 mg/kg 농도의 옥탄산, 약 2 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2 mg/kg 농도의 올레산 및 약 1 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 약 1.01 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 1.01 mg/kg 농도의 스테롤을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 6.4 μmol/kg 내지 640 μmol/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.7 μmol/kg 내지 70 μmol/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 올레산; 종점을 포함하여 0.25 μmol/kg 내지 25 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 64 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.5 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤을 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 1%, 2%, 5%, 7%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 1%, 2%, 5%, 7%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 10%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 90%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 90%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 10%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 20%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 80%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 80%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 20%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 30%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 70%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 70%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 30%를 포

함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 40%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 60%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 60%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 40%를 포함한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 50%를 포함하고 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})는 조성물의 전체 세포 수의 적어도 50%를 포함한다.

[0066] 방법이 (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 트랜스포존은 항원 수용체를 포함하는 것인 단계; 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체 및 활성화 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 변형된 T 세포를 접촉시켜 활성화된 변형된 T 세포를 생산하는 단계를 포함하는 것인 실시양태를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 방법은 (c) 치료 단백질을 포함하는 트랜스포존을 포함하는 제2 트랜스포존을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 변형된 T 세포가 치료 단백질을 발현할 수 있는 것인 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 치료 단백질은 분비 가능한 단백질이고, 방법은 치료 단백질을 분비할 수 있는 변형된 T 세포를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 트랜스포사제 조성물을 도입하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 트랜스포사제 조성물은 (a)의 트랜스포존 및 제2 트랜스포존을 전위시킨다. 특정 실시양태에서, 방법은 제1 트랜스포사제 조성물 및 제2 트랜스포사제 조성물을 도입하는 단계를 포함한다. 방법이 제1 트랜스포사제 조성물 및 제2 트랜스포사제 조성물을 도입하는 단계를 포함하는 것인 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, 제1 트랜스포사제 조성물은 (a)의 트랜스존을 전위시키고, 제2 트랜스포사제 조성물은 제2 트랜스포존을 전위시킨다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 2개의 시스 조절 격리 인자가 측면에 위치한 항원 수용체 또는 치료 단백질을 코딩하는 서열을 갖는 플라스미드 DNA 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 피기백 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 피기백 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 피기백™ 또는 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 슬리핑 뷰티 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 슬리핑 뷰티 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 슬리핑 뷰티 트랜스포사제 또는 과활성 슬리핑 뷰티 트랜스포사제(SB100X)이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 헬레이저 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 헬레이저 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 헬리트론 트랜스포사제이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 Tol2 트랜스포존이다. 트랜스포존이 Tol2 트랜스포존인 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, 트랜스포사제는 Tol2 트랜스포사제이다.

[0067] 방법이 (a) 항원 수용체를 포함하는 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 트랜스포존은 항원 수용체를 포함하는 것인 단계; 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 변형된 T 세포를 접촉시켜 활성화된 변형된 T 세포를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 포함하는 것인 실시양태를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 방법은 치료 단백질을 코딩하는 서열을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 변형된 T 세포가 치료 단백질을 발현할 수 있는 것인 단계를 추가로 포함한다. 치료 단백질을 코딩하는 서열을 도입하는 단계의 특정 실시양태에서, 도입 단계는 상동 재조합을 포함한다. 치료 단백질을 코딩하는 서열을 도입하는 단계의 특정 실시양태에서, 벡터는 치료 단백질을 코딩하는 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 벡터는 바이러스 벡터이다. 특정 실시양태에서, 벡터는 나노입자이다,

[0068] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 도입 단계는 게놈 편집 구조물을 포함하는 조성물을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 가이드 RNA 및 클러스터된 규칙적 간격의 짧은 회문 반복서열(clustered regularly interspaced short palindromic repeats; CRISPR) 관련 단백질 9(Cas9) DNA 엔도뉴클레아제를 포함한다. 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함한다. 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 융합 단백질을 코딩한다. 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 코딩하며 여기서 발현된 DNA 결합 도메인과 발현된 IIS형 엔도뉴클레아제는 비공유적으로 결합된다. 게놈 편집 구조물이 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 Cas9 엔도뉴클레아제에서 유래된 서열을 포함한다. 게놈 편집 구조물이 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 DNA 결합 도메인이다. Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열이 DNA 결합 도메인인 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 불활성 Cas9를 코

딩한다. Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열이 DNA 결합 도메인인 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 절두된 Cas9를 코딩한다. 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 위치 10(D10A)에서 아스파르트산(D)에서 알라닌(A)으로의 아미노산 치환을 포함한다. 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 위치 840에서 히스티딘(H)에서 알라닌(A)로의 아미노산 치환(H840A)을 포함한다. 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 dCas9(서열 번호 33)를 포함한다. 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 위치 580 위치에서 아스파라긴(N)에서 알라닌(A)으로의 아미노산 치환(N580A)을 포함한다. 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 dSaCas9(서열 번호 32)를 포함한다. 게놈 편집 구조물이 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 전사 활성화제 유사 이펙터 뉴클레아제(TALEN: transcription activator-like effector nuclease)로부터 유래된 서열을 포함한다. 게놈 편집 구조물이 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, TALEN으로부터 유래된 서열은 DNA 결합 도메인이다. 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 TALEN을 포함한다. 게놈 편집 구조물이 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 아연 핑거 뉴클레아제(ZFN: zinc-finger nuclease)로부터 유래된 서열을 포함한다. 게놈 편집 구조물이 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, ZFN으로부터 유래된 서열은 DNA 결합 도메인이다. 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 아연 핑거 뉴클레아제(ZFN)를 포함한다.

[0069] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 트랜스포존은 2개의 시스 조절 격리 인자가 측면에 위치한 항원 수용체 또는 치료 단백질을 코딩하는 서열을 갖는 플라스미드 DNA 트랜스포존이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 도입 단계는 트랜스포사제를 코딩하는 mRNA 서열을 포함하는 조성물을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 피기백 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 피기백 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포사제가 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제인 실시양태에서, 트랜스포사제를 코딩하는 서열은 mRNA 서열이다. 특정 실시양태에서, 피기백 트랜스포사제는 서열 번호 4를 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 피기백 트랜스포사제는 과활성 변이체이며 상기 과활성 변이체는 서열 번호 4의 위치 30, 165, 282 및 538 중 하나 이상에서 아미노산 치환을 포함한다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4의 위치 30에서 아미노산 치환은 이소류신(I)에서 발린(V)으로의 치환(I30V)이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4에서 위치 165에서의 아미노산 치환은 글리신(G)에서 세린(S)으로의 치환(G165S)이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4의 위치 282의 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환(M282V)이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4의 위치 538에서 아미노산 치환은 아스파라긴(N)에서 리신(K)으로의 치환(N538K)이다. 특정 실시양태에서, 슈퍼 피기백(SPB) 트랜스포사제는 서열 번호 5를 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 슬리핑 뷰티 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 슬리핑 뷰티 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 슬리핑 뷰티 트랜스포사제 또는 과활성 슬리핑 뷰티 트랜스포사제(SB100X)이다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 헬레이저 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 헬레이저 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 헬리트론 트랜스포사제이다. 특정 실시양태에서 서, 트랜스포존이 Tol2 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 Tol2 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 Tol2 트랜스포사제이다. 특정 실시양태에서, 트랜스포사제를 코딩하는 서열은 mRNA 서열이다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 임의의 종으로부터 유래 또는 재조합될 수 있다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 트랜스포존은 합성일 수 있다.

[0070] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 선별 유전자를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 선별제를 추가로 포함한다.

[0071] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 항원 수용체는 T 세포 수용체이다. 특정 실시양태에서, T 세포 수용체는 자연 발생적이다. 특정 실시양태에서, T 세포 수용체는 자연 발생적이지 않다. 특정 실시양태에서, 특히, T 세포 수용체가 자연 발생적이지 않은 실시양태에서, T 세포 수용체는 야생형 T 세포 수용체와 비교하여 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함한다. 특정 실시양태에서, 특히, T 세포 수용체가 자연 발생적이지 않은 실시양태에서, T 세포 수용체는 재조합 T 세포 수용체이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 항원 수용체는 키메라 항원 수용체(CAR)이다. 특정 실시양태에서, CAR은 CARTyrin이다. 특정 실시양태에서, CAR은 하나 이상의 VHH 서열(들)을 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR은 VCAR이다.

[0072] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD62L 및 CD45RA를 포함한다. 특정 실시양태에서, 변형된 T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2Rβ

중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 변형된 T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD45RA, CD95, IL-2Rβ, CR7 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다.

[0073] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T 세포는 미접촉(naive) T 세포(변형된 T_N)를 포함하며 CAR-T_N의 세포 표면 마커는 CD45RA, CCR7 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T 세포는 중심 기억 T 세포(변형된 T_{CM})를 포함하며 CAR-T_{CM}의 세포 표면 마커는 CD45RO, CD95, IL-2Rβ, CCR7 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T 세포는 이펙터 기억 T 세포(변형된 T_{EM})를 포함하며 CAR-T_{EM}의 세포 표면 마커는 CD45RO, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T 세포는 이펙터 T 세포(변형된 T_{EFF})를 포함하며 CAR-T_{EFF}의 세포 표면 마커는 CD45RA, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 포함한다.

[0074] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T 세포는 중심 기억 T 세포(변형된 T_{CM})를 포함하고 CAR-T_{CM}의 세포 표면 마커는 CD45RO, CD95, IL-2Rβ, CCR7, 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T 세포에서 가장 풍부한 세포는 중심 기억 T 세포(변형된 T_{CM})이고 CAR-T_{CM}의 세포 표면 마커는 CD45RO, CD95, IL-2Rβ, CCR7, 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다. 다수의 증식된 변형된 T 세포에서 가장 풍부한 세포가 중심 기억 T 세포(변형된 T_{CM})인 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 변형된 T 세포는 T_{SCM} 세포를 포함하고 T_{SCM} 세포의 세포 마커는 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 포함한다.

[0075] 본 발명은 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함하는 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 CAR-T 세포를 생산하는 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD2 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 CAR-T 세포를 접촉시켜 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 활성화된 CAR-T 세포가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 CAR 발현 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 발명은 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 CAR-T 세포를 생산하는 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD2 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 다수의 CAR-T 세포를 접촉시켜 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 25%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 50%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 60%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 75%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 80%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 85%가 줄기

기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 90%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 95%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 세포 표면 마커는 CD62L 및 CD45RA를 포함한다. 특정 실시양태에서, 활성화된 CAR T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 활성화된 CAR T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD45RA, CD95, IL-2Rβ, CR7 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다. 본 발명은 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함하는 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 CAR-T 세포를 생산하는 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 CAR-T 세포를 접촉시켜 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 활성화된 CAR-T 세포가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 CAR 발현 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})(CAR-T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0076] 본 발명은 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 CAR-T 세포를 생산하는 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 다수의 CAR-T 세포를 접촉시켜 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 25%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 50%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 60%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 75%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 80%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 85%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 90%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 95%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 세포 표면 마커는 CD62L 및 CD45RA를 포함한다. 특정 실시양태에서, 활성화된 CAR T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127,

CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2R 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 활성화된 CAR T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD45RA, CD95, IL-2Rβ, CR7 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다.

[0077] 특정 실시양태에서, 상기 방법은 (c) 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 증식 조성물과 활성화된 CAR-T 세포와 접촉시켜 다수의 증식된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 증식된 CAR-T 세포의 적어도 2%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 것(CAR-T_{SCM})인 단계를 추가로 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 니코틴아미드, 2,4,7,9-테트라메틸-5-데신-4,7-디올(TMDD), 디이소프로필 아디페이트(DIPA), n-부틸-벤젠술폰아미드, 1,2-벤젠디카르복실산, 비스(2-메틸프로필) 에스테르, 팔미트산, 리놀레산, 올레산, 스테아르산 히드라지드, 올레아미드, 스테롤 및 알칸 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 팔미트산, 리놀레산, 올레산 및 스테롤(예를 들어, 콜레스테롤) 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 0.9 mg/kg 내지 90 mg/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg의 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 약 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 9 mg/kg 농도의 옥탄산, 약 2 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2 mg/kg 농도의 올레산 및 약 1 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 약 1.01 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 1.01 mg/kg 농도의 스테롤을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 6.4 μmol/kg 내지 640 μmol/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.7 μmol/kg 내지 70 μmol/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 올레산; 종점을 포함하여 0.25 μmol/kg 내지 25 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 64 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.5 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤을 포함한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 CAR-T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트는 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 세포 표면 마커(들)를 발현한다(CAR-T_{SCM}). 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 CAR-T 세포는 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})(CAR-T_{SCM})의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 CAR-T 세포에 대해 농축될 수 있으므로, 농축 단계 후, 방법은 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 세포 표면 마커(들)를 발현하는 CAR-T 세포(CAR-T_{SCM})의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 중 임의의 퍼센트를 포함하는 농축된 조성물을 생산할 수 있다. 특정 실시양태에서, 세포 표면 마커는 CD62L 및 CD45RA를 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR-T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR-T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD45RA, CD95, IL-2Rβ, CR7 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 CAR-T 세포는 미접촉 T 세포(CAR-T_N)를 포함하며 CAR-T_N의 세포 표면 마커는 CD45RA, CCR7 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 CAR-T 세포는 중심 기억 T 세포(CAR-T_{CM})를 포함하며 CAR-T_{CM}의 세포 표면 마커는 CD45RO, CD95, IL-2Rβ, CCR7, 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 CAR-T 세포는 이펙터 기억 T 세포(CAR-T_{EM})를 포함하며 CAR-T_{EM}의 세포 표면 마커는 CD45RO, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 CAR-T 세포는 이펙터 T 세포(CAR-T_{EFF})를 포함하며 CAR-T_{EFF}의 세포 표면 마커는 CD45RA, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 포함한다. 추가적인 세포 표면 마커는 문헌[Gattinoni et al. (Nat

Med. 2011 Sep 18; 17(10): 1290-7; 그 내용은 그 전문으로 본원에 참고로 포함됨]에 기재되어 있다.

[0078] 본 발명은 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함하는 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 CAR-T 세포를 생산하는 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 CAR-T 세포와 접촉시켜 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 활성화된 CAR-T 세포가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 CAR 발현 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})(CAR-T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 발명은 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 방법으로서, (a) 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 CAR-T 세포를 생산하는 단계, 및 (b) 항-인간 CD3 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 항-인간 CD28 단일 특이적 사량체 항체 복합체, 및 활성화 보충제 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 활성화제 조성물과 상기 다수의 CAR-T 세포를 접촉시켜 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 25%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 50%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 60%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 75%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 80%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 85%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 90%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 방법은 다수의 활성화된 CAR-T 세포를 생산하며, 상기 다수의 활성화된 CAR-T 세포의 적어도 95%가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 활성화된 CAR 줄기 기억 T 세포(T_{SCM})를 생산한다. 특정 실시양태에서, 활성화된 CAR T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD62L 및 CD45RA를 포함한다. 특정 실시양태에서, 활성화된 CAR-T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2R 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 활성화된 CAR T_{SCM}의 세포 표면 마커는 CD45RA, CD95, IL-2Rβ, CR7 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다.

[0079] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 CAR-T 세포는 미접촉 T 세포(CAR-T_N)를 포함하며 CAR-T_N의 세포 표면 마커는 CD45RA, CCR7 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 CAR-T 세포는 중심 기억 T 세포(변형된 T_{CM})를 포함하고 CAR-T_{CM}의 세포 표면 마커는 CD45RO, CD95, IL-2Rβ, CCR7 및 CD62L 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 CAR-T 세포는 이펙터 기억 T 세포(변형된 T_{EM})를 포함하며 CAR-T_{EM}의 세포 표면 마커는 CD45RO, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, 다수의 증식된 CAR-T 세포는 이펙터 T 세포(변형된 T_{EFF})를 포함하며 CAR-T_{EFF}의 세포 표면 마커는 CD45RA,

CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 포함한다.

[0080] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 본 발명의 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함한다. 트랜스포존은 2개의 시스 조절 격리 인자가 측면에 위치한 CAR을 코딩하는 서열을 갖는 플라스미드 DNA 트랜스포존일 수 있다. 특정의 바람직한 실시양태에서, 트랜스포존은 피기백 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 키메라 항원 수용체(CAR)를 포함하는 조성물을 도입하는 단계는 트랜스포사제를 코딩하는 mRNA 서열을 포함하는 조성물을 추가로 포함할 수 있다. 특정의 바람직한 실시양태에서, 트랜스포사제는 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제이다.

[0081] 특정 실시양태에서, 본 발명의 트랜스포존은 선별 유전자를 추가로 포함할 수 있다. 본 발명의 트랜스포존이 선별 유전자를 포함하는 경우, 본 발명의 방법의 T 세포 증식 조성물은 본 발명의 활성화된 또는 변형된 T 세포를 동시에 선별하고 증식시키는 선별제를 추가로 포함할 수 있다.

[0082] 특정 실시양태에서, 본 발명의 CAR은 CARTyrin 일 수 있다. 특정 실시양태에서, CAR은 하나 이상의 VHH 서열(들)을 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR은 VCAR이다.

[0083] 본 발명의 변형된 T_{SCM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 도입 단계는 전기 천공 또는 뉴클레오펙션을 포함할 수 있다. 도입 단계가 뉴클레오펙션을 포함하는 경우, 뉴클레오펙션은 (a) 큐벳 내에서 트랜스포존 조성물, 트랜스포사제 조성물, 및 다수의 1차 인간 T 세포를 포함하는 조성물을 접촉시키는 단계; (b) 상기 큐벳에 1회 이상의 전기 펄스를 적용하는 단계, 및 (c) 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 T 세포 증식 조성물을 포함하는 조성물에서 다수의 1차 인간 T 세포를 포함하는 조성물을 37℃에서 인큐베이션하는 단계를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 니코틴아미드, 2,4,7,9-테트라메틸-5-데신-4,7-디올(TMDD), 디이소프로필 아디페이트(DIPA), n-부틸-벤젠술폰아미드, 1,2-벤젠디카르복실산, 비스(2-메틸프로필) 에스테르, 팔미트산, 리놀레산, 올레산, 스테아르산 히드라지드, 올레아미드, 스테롤 및 알칸 중 하나 이상을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 옥탄산, 팔미트산, 리놀레산, 올레산 및 스테롤(예를 들어, 콜레스테롤) 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 0.9 mg/kg 내지 90 mg/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg의 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 약 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 9 mg/kg 농도의 옥탄산, 약 2 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2 mg/kg 농도의 올레산 및 약 1 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 약 1.01 mg/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg 농도의 올레산, 및 1.01 mg/kg 농도의 스테롤을 포함한다(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 종점을 포함하여 6.4 μmol/kg 내지 640 μmol/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.7 μmol/kg 내지 70 μmol/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 올레산; 종점을 포함하여 0.25 μmol/kg 내지 25 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 64 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.5 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤 중 하나 이상을 포함한다. 특정 실시양태에서, T 세포 증식 조성물은 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤을 포함한다. 뉴클레오펙션의 특정 실시양태에서, 트랜스포존 조성물은 뉴클레아제 무함유 물을 포함하는 0.5 μg/㎕ 용액이고, 큐벳은 1 μg의 트랜스포존을 생성하도록 2 ㎕의 트랜스포존 조성물을 포함한다. 트랜스포존 조성물은 피기백 트랜스포존을 포함할 수 있다. 트랜스포존 조성물은 슬리핑 뷰티 트랜스포존을 포함할 수 있다. 뉴클레오펙션의 특정 실시양태에서, 트랜스포사제 조성물은 5 ㎍의 트랜스포사제를 포함한다. 트랜스포사제 조성물은 과활성 피기백™ 또는 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제를 포함할 수 있다. 트랜스포사제 조성물은 과활성 슬리핑 뷰티(SB100X) 트랜스포사제를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 헬레이저 트랜스포존을 포함할 수 있고 트랜스포사제 조성물은 헬리트론 트랜스포

사제를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 Tol2 트랜스포존을 포함할 수 있고 트랜스포사제 조성물은 Tol2 트랜스포사제를 포함한다.

[0084] 도입 단계가 뉴클레오펙션 또는 전기 천공을 포함하는 실시양태를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 뉴클레오펙션은 큐벳에서 제1 트랜스포존 조성물 및 제1 트랜스포사제 조성물 및 다수의 1차 인간 T 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 도입 단계가 뉴클레오펙션 또는 전기 천공을 포함하는 실시양태를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 뉴클레오펙션은 큐벳에서 제1 트랜스포존 조성물, 제2 트랜스포존 조성물, 제1 트랜스포사제 조성물 및 다수의 1차 인간 T 세포를 포함하는 조성물을 접촉시키는 단계를 포함한다. 도입 단계가 뉴클레오펙션 또는 전기 천공을 포함하는 실시양태를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 뉴클레오펙션은 큐벳에서 제1 트랜스포존 조성물, 제2 트랜스포존 조성물, 제1 트랜스포사제 조성물, 제2 트랜스포사제 조성물 및 다수의 1차 인간 T 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 특정 실시양태에서, 제1 트랜스포존은 항원 수용체를 코딩하는 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 제2 트랜스포존은 치료 단백질을 코딩하는 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 제1 트랜스포존 조성물과 제2 트랜스포존 조성물은 동일하다. 특정 실시양태에서, 제1 트랜스포존 조성물과 제2 트랜스포존 조성물은 동일하지 않다. 특정 실시양태에서, 제1 트랜스포사제는 제1 트랜스포존 조성물 및 제2 트랜스포존 조성물을 동원한다. 특정 실시양태에서, 제1 트랜스포사제는 제1 트랜스포존 조성물을 동원하지만 제2 트랜스포존 조성물을 동원하지 않는다. 특정 실시양태에서, 제2 트랜스포사제는 제2 트랜스포존 조성물을 동원하지만 제1 트랜스포존 조성물을 동원하지 않는다. 특정 실시양태에서, 제1 트랜스포사제는 제1 트랜스포존 조성물을 동원하고 제2 트랜스포사제는 제2 트랜스포존 조성물을 동원한다. 특정 실시양태에서, 제1 트랜스포존 조성물 또는 제2 트랜스포존 조성물은 항원 수용체를 코딩하는 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 제1 트랜스포존 조성물 또는 제2 트랜스포존 조성물은 치료 단백질을 코딩하는 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 제1 트랜스포존 조성물은 항원 수용체를 코딩하는 서열을 포함하고 제2 트랜스포존 조성물은 치료 단백질을 코딩하는 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 치료 단백질은 분비 또는 분비 가능한 단백질이다. 도입 단계가 뉴클레오펙션 또는 전기 천공을 포함하는 실시양태를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 뉴클레오펙션은 큐벳에서 트랜스포존 조성물, 제1 트랜스포사제 조성물, 제2 트랜스포사제 조성물 및 다수의 1차 인간 T 세포를 포함하는 조성물을 접촉시키는 단계를 포함한다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존 조성물은 항원 수용체를 코딩하는 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존 조성물은 치료 단백질을 코딩하는 서열을 포함한다. 도입 단계가 뉴클레오펙션 또는 전기 천공을 포함하는 실시양태를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 뉴클레오펙션은 큐벳에서 게놈의 특정 부위에서 상동 재조합을 유도할 수 있는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포를 포함하는 조성물과 접촉시키는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 상동 재조합을 유도할 수 있는 조성물은 외인성 공여 분자를 포함한다. 특정 실시양태에서, 외인성 공여 분자는 항원 수용체를 코딩하는 서열을 포함하고 트랜스포존은 치료 단백질을 코딩하는 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 외인성 공여 분자는 치료 단백질을 코딩하는 서열을 포함하고, 트랜스포존은 항원 수용체를 코딩하는 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존을 포함하는 조성물, 트랜스포사제를 포함하는 조성물 및 게놈의 특정 부위에서 상동 재조합을 유도할 수 있는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포를 포함하는 조성물과 동시에 접촉시킨다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존을 포함하는 조성물 및 트랜스포사제를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포를 포함하는 조성물과 먼저 접촉시키고, 게놈의 특정 부위에서 상동 재조합을 유도할 수 있는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포를 포함하는 조성물과 두 번째로 접촉시킨다. 특정 실시양태에서, 게놈의 특정 부위에서 상동 재조합을 유도할 수 있는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포를 포함하는 조성물과 먼저 접촉시키고, 트랜스포존을 포함하는 조성물 및 트랜스포사제를 포함하는 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포와 두 번째로 접촉시킨다. 본 발명의 변형된 T_{SCM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포를 포함하는 조성물은 1차 인간 T 세포의 세포 생존도 및/또는 줄기 유사 표현형을 유지하거나 향상시키는 완충액을 포함한다. 특정 실시양태에서, 완충액은 뉴클레오펙션 전에 1차 인간 T 세포의 세포 생존도 및/또는 줄기 유사 표현형을 유지하거나 향상시킨다. 특정 실시양태에서, 완충액은 뉴클레오펙션 중에 1차 인간 T 세포의 세포 생존도 및/또는 줄기 유사 표현형을 유지하거나 향상시킨다. 특정 실시양태에서, 완충액은 뉴클레오펙션 후에 1차 인간 T 세포의 세포 생존도 및/또는 줄기 유사 표현형을 유지하거나 향상시킨다. 특정 실시양태에서, 완충액은 P3 1차 세포 용액(Lonza)을 포함한다. 특정 실시양태에서, 완충액은 KCl, $MgCl_2$, ClNa, 글루코오스 및 $Ca(NO_3)_2$ 중 하나 이상을 임의의 절대 또는 상대 존재량 또는 농도로 포함하고, 경우에 따라 완충액은 HEPES, 트리스(Tris)/ HCl 및 인산 완충액으로 이루어진 군으로부터 선택된 보충물을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 완충액은 5 mM KCl, 15 mM $MgCl_2$, 90 mM ClNa, 10 mM 글루오코스 및 0.4 mM $Ca(NO_3)_2$를 포함한다. 특정 실시양태에서, 완충액은 5 mM KCl, 15 mM $MgCl_2$, 90 mM ClNa, 10 mM 글루코스 및 0.4 mM $Ca(NO_3)_2$, 및 20

mM HEPES 및 75 mM 트리스/HCl을 포함하는 보충물을 포함한다. 특정 실시양태에서, 완충액은 pH 7.2에서 5 mM KCl, 15 mM $MgCl_2$, 90 mM ClNa, 10 mM 글루코스 및 0.4 mM $Ca(NO_3)_2$, 및 40 mM Na_2HPO_4/NaH_2PO_4를 포함하는 보충물을 포함한다. 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포를 포함하는 조성물은 100㎕의 완충액 및 $5x10^6$ 내지 $25x10^6$ 세포를 포함한다.

[0085] 본 발명의 변형된 T_{SCM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포를 포함하는 조성물에서 CD14, CD56, 및/또는 CD19를 발현하는 세포를 제거시킨다. 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포를 포함하는 조성물은 100㎕의 완충액 및 $5x10^6$ 내지 $25x10^6$ 세포를 포함한다.

[0086] 본원에서 사용되는 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 37℃에서 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 인, 옥탄 지방산, 팔미트 지방산, 리놀레 지방산 및 올레산 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 배지는 예를 들어, 아이코브의 변형된 둘베코 배지(IMDM: Icove's Modified Dulbecco's Medium); 서모피셔 사이언티픽(ThermoFisher Scientific)에서 카탈로그 번호 12440053으로 이용 가능함)에서 볼 수 있는 것보다 10배 높은 양의 인을 포함한다.

[0087] 본원에서 사용되는 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 37℃에서 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 하기 원소 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 붕소, 나트륨, 마그네슘, 인, 칼륨, 및 칼슘. 특정 실시양태에서, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 상응하는 평균 농도로 존재하는 하기 원소 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 3.7mg/L의 붕소, 3000mg/L의 나트륨, 18mg/L의 마그네슘, 29mg/L의 인, 15mg/L의 칼륨 및 4mg/L의 칼슘.

[0088] 본원에서 사용되는 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 37℃에서 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 하기 성분 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 옥탄산(CAS No. 124-07-2), 니코틴아미드(CAS No. 98-92-0), 2,4,7,9-테트라메틸-5-데신-4,7-디올(TMDD)(CAS No. 126-86-3), 디이소프로필 아디페이트(DIPA)(CAS No. 6938-94-9), n-부틸-벤젠술폰아미드(CAS No. 3622-84-2), 1,2-벤젠디카르복실산, 비스(2-메틸프로필) 에스테르(CAS No. 84-69-5), 팔미트산(CAS No. 57-10-3), 리놀레산(CAS No. 60-33-3), 올레산(CAS No. 112-80-1), 스테아르산 히드라지드(CAS No. 4130-54-5), 올레아미드(CAS No. 3322-62-1), 스테롤(예를 들어, 콜레스테롤)(CAS No. 57-88-5), 및 알칸(예를 들어, 노나데칸)(CAS No. 629-92-5). 특정 실시양태에서, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 상응하는 하기 성분 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 옥탄산(CAS No. 124-07-2), 니코틴아미드(CAS No. 98-92-0), 2,4,7,9-테트라메틸-5-데신-4,7-디올(TMDD)(CAS No. 126-86-3), 디이소프로필 아디페이트(DIPA)(CAS No. 6938-94-9), n-부틸-벤젠술폰아미드(CAS No. 3622-84-2), 1,2-벤젠디카르복실산, 비스(2-메틸프로필) 에스테르(CAS No. 84-69-5), 팔미트산(CAS No. 57-10-3), 리놀레산(CAS No. 60-33-3), 올레산(CAS No. 112-80-1), 스테아르산 히드라지드(CAS No. 4130-54-5), 올레아미드(CAS No. 3322-62-1), 스테롤(예를 들어, 콜레스테롤)(CAS No. 57-88-5), 알칸(예를 들어, 노나데칸)(CAS No. 629-92-5), 및 페놀 레드(CAS No. 143-74-8). 특정 실시양태에서, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 하기 성분 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 옥탄산(CAS No. 124-07-2), 니코틴아미드(CAS No. 98-92-0), 2,4,7,9-테트라메틸-5-데신-4,7-디올(TMDD)(CAS No. 126-86-3), 디이소프로필 아디페이트(DIPA)(CAS No. 6938-94-9), n-부틸-벤젠술폰아미드(CAS No. 3622-84-2), 1,2-벤젠디카르복실산, 비스(2-메틸프로필) 에스테르(CAS No. 84-69-5), 팔미트산(CAS No. 57-10-3), 리놀레산(CAS No. 60-33-3), 올레산(CAS No. 112-80-1), 스테아르산 히드라지드(CAS No. 4130-54-5), 올레아미드(CAS No. 3322-62-1), 페놀 레드(CAS No. 143-74-8) 및 라놀린 알코올.

[0089] 본원에서 사용되는 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 37℃에서 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이

상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 하기 이온 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 나트륨, 암모늄, 칼륨, 마그네슘, 칼슘, 염화물, 황산 및 인산.

[0090] 본원에서 사용되는 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 37℃에서 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, 아이스코브의 MDM, 및 증식 보충물 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 하기 유리 아미노산 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 히스티딘, 아스파라긴, 세린, 글루타메이트, 아르기닌, 글리신, 아스파르트산, 글루탐산, 트레오닌, 알라닌, 프롤린, 시스테인, 리신, 티로신, 메티오닌, 발린, 이소류신, 류신, 페닐알라닌 및 트립토판. 특정 실시양태에서, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 상응하는 평균 몰 퍼센트의 하기 유리 아미노산 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 히스티딘(약 1%), 아스파라긴(약 0.5%), 세린(약 1.5%), 글루타민(약 67%), 아르기닌(약 1.5%), 글리신(약 1.5%), 아스파르트산(약 1%), 글루탐산(약 2%), 트레오닌(약 2%), 알라닌(약 1%), 프롤린(약 1.5%), 시스테인(약 1.5%), 리신(약 3%), 티로신(약 1.5%), 메티오닌(약 1%), 발린(약 3.5%), 이소류신(약 3%), 류신(약 3.5%), 페닐알라닌(약 1.5%) 및 트립토판(약 0.5%). 특정 실시양태에서, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 상응하는 평균 몰 퍼센트의 하기 유리 아미노산 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 히스티딘(약 0.78%), 아스파라긴(약 0.4%), 세린(약 1.6%), 글루타민(약 67.01%), 아르기닌(약 1.67%), 글리신(약 1.72%), 아스파르트산(약 1.00%), 글루탐산(약 1.93%), 트레오닌(약 2,38%), 알라닌(약 1.11%), 프롤린(약 1.49%), 시스테인(약 1.65%), 리신(약 2.84%), 티로신(약 1.62%), 메티오닌(약 0.85%), 발린(약 3.45%), 이소류신(약 3.14%), 류신(약 3.3%), 페닐알라닌(약 1.64%) 및 트립토판(약 0.37%)

[0091] 본원에서 사용되는 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 옥탄산, 팔미트산, 리놀레산, 올레산 및 스테롤(예를 들어, 콜레스테롤) 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다. 특정 실시양태에서, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 하기 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다; 종점을 포함하여 0.9 mg/kg 내지 90 mg/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.2 mg/kg 내지 20 mg/kg의 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 약 0.1 mg/kg 내지 10 mg/kg 농도의 스테롤(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 하기 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 약 9 mg/kg 농도의 옥탄산, 약 2 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2 mg/kg 농도의 올레산 및 약 1 mg/kg 농도의 스테롤(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 하기 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 약 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg의 올레산 및 약 1.01 mg/kg 농도의 스테롤(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 하기 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 9.19 mg/kg 농도의 옥탄산, 1.86 mg/kg 농도의 팔미트산, 2.12 mg/kg 농도의 리놀레산, 약 2.13 mg/kg의 올레산 및 1.01 mg/kg 농도의 스테롤(여기서, mg/kg = 백만분율). 특정 실시양태에서, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 하기 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 종점을 포함하여 6.4 μmol/kg 내지 640 μmol/kg 농도의 옥탄산; 종점을 포함하여 0.7 μmol/kg 내지 70 μmol/kg 농도의 팔미트산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 리놀레산; 종점을 포함하여 0.75 μmol/kg 내지 75 μmol/kg 농도의 올레산; 및 종점을 포함하여 0.25 μmol/kg 내지 25 μmol/kg 농도의 스테롤. 특정 실시양태에서, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 하기 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 약 64 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.5 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.5 μmol/kg 농도의 스테롤. 특정 실시양태에서, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 하기 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 약 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 약 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤. 특정 실시양태에서, 용어 "보충된 T 세포 증식 조성물" 또는 "T 세포 증식 조성물"은 하기 중 하나 이상을 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다: 약 63.75 μmol/kg 농도의 옥탄산, 약 7.27 μmol/kg 농도의 팔미트산, 약 7.57 μmol/kg 농도의 리놀레산, 7.56 μmol/kg 농도의 올레산 및 2.61 μmol/kg 농도의 스테롤.

[0092] 본원에 사용되는 용어 "P3 완충액"은 KCl, $MgCl_2$, ClNa, 글루코오스 및 $Ca(NO_3)_2$ 중 하나 이상을 임의의 절대 또는 상대 존재량 또는 농도로 포함하고, 경우에 따라 HEPES, 트리스/HCl 및 인산 완충액으로 이루어진 군으로부터 선택된 보충물을 추가로 포함하는 완충액과 호환적으로 사용될 수 있다. 용어 "P3 완충액"은 5 mM KCl, 15 mM $MgCl_2$, 90 mM ClNa, 10 mM 글루코오스 및 0.4 mM $Ca(NO_3)_2$를 포함하고, 경우에 따라 HEPES, 트리스/HCl 및 인산 완충액으로 이루어진 군으로부터 선택된 보충물을 추가로 포함하는 완충액과 호환적으로 사용될 수 있다. 용어 "P3 완충액"은 5 mM KCl, 15 mM $MgCl_2$, 90 mM ClNa, 10 mM 글루코오스 및 0.4 mM $Ca(NO_3)_2$, 및 20 mM HEPES 및 75 mM 트리스/HCl를 포함하는 보충물을 포함하는 완충액과 호환적으로 사용될 수 있다. 용어 "P3 완충액"은 pH 7.2에서 5 mM KCl, 15 mM $MgCl_2$, 90 mM ClNa, 10 mM 글루코오스 0.4 mM $Ca(NO_3)_2$, 및 40 mM Na_2HPO_4/NaH_2PO_4를 포함하는 보충물을 포함하는 완충액과 호환적으로 사용될 수 있다.

[0093] 본원에서 사용된 용어 "보충된 RPMI-1640 배지" 또는 "T 세포 조건화 배지(TCCM: T-cell conditioned media)"는 물, 태아 소 혈청, HEPES, 피루브산나트륨, 하나 이상의 비필수 아미노산, 페놀 레드 지시약, 질산칼슘, 황산마그네슘, 염화칼륨, 중탄산나트륨, 염화나트륨, 제2인산나트륨(무수), L-알라닐-L-글루타민, L-아르기닌, L-아스파라긴(무수), L-아스파르트산, L-시스테인 2HCl, L-글루탐산, 글리신, L-히스티딘, 히드록시-L-프롤린, L-이소류신, L-류신, L-리신 HCl, L-메티오닌, L- 페닐알라닌, L-프롤린, L-세린, L-트레오닌, L-트립토판, L-티로신 2Na $2H_2O$, L-발린, D-비오틴, 염화콜린, 엽산, 미오-이노시톨, 니아신아미드, p-아미노벤조산, D-판토텐산(헤미칼슘), 피리독신 HCl, 리보플라빈, 티아민 HCl, 비타민 B12, D-글루코오스, 글루타티온(환원), L-글루타민 및 2-머캅토에탄올 중 하나 이상을 임의의 절대 또는 상대 존재량 또는 농도로 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다. 용어 "보충된 RPMI-1640 배지" 또는 "T 세포 조건화 배지(TCCM)"는 물, 태아 소 혈청, HEPES, 피루브산나트륨, 하나 이상의 비필수 아미노산, 페놀 레드 지시약, 질산칼슘, 황산마그네슘, 염화칼륨, 중탄산나트륨, 염화나트륨, 제2인산나트륨(무수), L-알라닐-L-글루타민, L-아르기닌, L-아스파라긴(무수), L-아스파르트산, L-시스테인 2HCl, L-글루탐산, 글리신, L-히스티딘, 히드록시-L-프롤린, L-이소류신, L-류신, L-리신 HCl, L-메티오닌, L- 페닐알라닌, L-프롤린, L-세린, L-트레오닌, L-트립토판, L-티로신 2Na $2H_2O$, L-발린, D-비오틴, 염화콜린, 엽산, 미오-이노시톨, 니아신아미드, p-아미노벤조산, D-판토텐산(헤미칼슘), 피리독신 HCl, 리보플라빈, 티아민 HCl, 비타민 B12, D-글루코오스, 글루타티온(환원), L-글루타민 및 2-머캅토에탄올을 임의의 절대 또는 상대 존재량 또는 농도로 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다.

[0094] 본원에 사용되는 용어 "보충된 AIM-V" 또는 "보충된 AIMV" 배지는 물, 인간 혈청 알부민, 스트렙토마이신 설페이트, 젠타마이신, 태아 소 혈청, HEPES, 피루브산나트륨, 하나 이상의 비필수 아미노산, 페놀 레드 지시약, 질산칼슘, 황산마그네슘, 염화칼륨, 중탄산나트륨, 염화나트륨, 제2인산나트륨(무수), L-알라닐 -L-글루타민, L-아르기닌, L-아스파라긴(무수), L-아스파르트산, L-시스테인 2HCl, L-글루탐산, 글리신, L-히스티딘, 히드록시-L-프롤린, L-이소류신, L-류신, L-리신 HCl, L-메티오닌, L-페닐알라닌, L-프롤린, L-세린, L-트레오닌, L-트립토판, L-티로신 2Na $2H_2O$, L-발린, D-비오틴, 염화콜린, 엽산, 미오-이노시톨, 니아신아미드, p-아미노벤조산, D-판토텐산(헤미칼슘), 피리독신 HCl, 리보플라빈, 티아민 HCl, 비타민 B12, D-글루코오스, 글루타티온(환원), L-글루타민 및 2-머캅토에탄올 중 하나 이상을 임의의 절대 또는 상대 존재량 또는 농도로 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다. 용어 "보충된 AIM-V" 또는 "보충된 AIMV" 배지는 물, 인간 혈청 알부민, 스트렙토마이신 설페이트, 젠타마이신, 태아 소 혈청, HEPES, 피루브산나트륨, 하나 이상의 비필수 아미노산, 페놀 레드 지시약, 질산칼슘, 황산마그네슘, 염화칼륨, 중탄산나트륨, 염화나트륨, 제2인산나트륨(무수), L-알라닐 -L-글루타민, L-아르기닌, L-아스파라긴(무수), L-아스파르트산, L-시스테인 2HCl, L-글루탐산, 글리신, L-히스티딘, 히드록시-L-프롤린, L-이소류신, L-류신, L-리신 HCl, L-메티오닌, L-페닐알라닌, L-프롤린, L-세린, L-트레오닌, L-트립토판, L-티로신 2Na $2H_2O$, L-발린, D-비오틴, 염화콜린, 엽산, 미오-이노시톨, 니아신아미드, p-아미노벤조산, D-판토텐산(헤미칼슘), 피리독신 HCl, 리보플라빈, 티아민 HCl, 비타민 B12, D-글루코오스, 글루타티온(환원), L-글루타민 및 2-머캅토에탄올을 임의의 절대 또는 상대 존재량 또는 농도로 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다.

[0095] 본원에서 사용되는 용어 "이뮤노컬트(ImmunoCult)™ 배지"는 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, L-글루타민, 페놀 레드, 글리신, L-알라닌, L-아르기닌 히드로클로라이드, L-아스파라긴, L-아스파르트산, L-시스테인 2HCl, L-글루탐산, L-글루타민, L-히스티딘 히드로클로라이드 H20, L-이소류신, L-류신, L-리신 히드로클로라이드, L-메티오닌, L-페닐알라닌, L-프롤린, L-세린, L-트레오닌, L-트립토판, L-티로신 이나트륨 염, L-발린, 비오틴, 염화콜린, D-칼슘 판토테네이트, 엽산, 니아신아미드, 피리

독살 히드로클로라이드, 리보플라빈, 티아민 히드로클로라이드, 비타민 B12, i-이노시톨, 염화칼슘(무수), 황산마그네슘(무수), 염화칼륨, 질산칼륨, 중탄산나트륨, 염화나트륨, 제1인산나트륨, 아셀레늄산나트륨, D-글루코오스, HEPES 및 피루브산나트륨 중 하나 이상을 임의의 절대 또는 상대 존재량 또는 농도로 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다. 용어 "이뮤노컬트™ 배지"는 물, 인간 혈청 알부민, 재조합 인간 인슐린, 인간 트랜스페린, 2-머캅토에탄올, L-글루타민, 페놀 레드, 글리신, L-알라닌, L-아르기닌 히드로클로라이드, L-아스파라긴, L-아스파르트산, L-시스테인 2HCl, L-글루탐산, L-글루타민, L-히스티딘 히드로클로라이드 H20, L-이소류신, L-류신, L-리신 히드로클로라이드, L-메티오닌, L-페닐알라닌, L-프롤린, L-세린, L-트레오닌, L-트립토판, L-티로신 이나트륨 염, L-발린, 비오틴, 염화콜린, D-칼슘 판토테네이트, 엽산, 니아신아미드, 피리독살 히드로클로라이드, 리보플라빈, 티아민 히드로클로라이드, 비타민 B12, i-이노시톨, 염화칼슘(무수), 황산마그네슘(무수), 염화칼륨, 질산칼륨, 중탄산나트륨, 염화나트륨, 제1인산나트륨, 아셀레늄산나트륨, D-글루코오스, HEPES 및 피루브산나트륨을 임의의 절대 또는 상대 존재량 또는 농도로 포함하는 배지와 호환적으로 사용될 수 있다.

[0096] 본원의 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}을 포함하는 본원의 변형된 T 세포는 PI3K 경로 성분의 하나 이상의 억제제를 포함하는 성장 배지를 이용한 절차의 방법 내 임의의 단계에서 인큐베이션, 배양, 성장, 저장되거나 그 외 합해질 수 있다. PI3K 경로 성분의 예시적인 억제제는 TWS119(GSK 3B 억제제 XII로도 공지됨; 화학식 $C_{18}H_{14}N_4O_2$를 갖는 CAS 번호 601514-19-6)와 같은 GSK3β의 억제제를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다. PI3K 경로 성분의 예시적인 억제제는 bb007(블루버드바이오(BLUEBIRDBIO)™)를 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0097] 본원에 사용되는 용어 "전기 천공" 및 "뉴클레오펙션"은 세포막(세포막, 핵막 또는 이들 모두)이 본 발명의 핵산, 트랜스포존, 벡터 또는 조성물에 대해 투과성이 되도록 또는 투과성이 커지도록 유도하는 전기 펄스를 제공함으로써 세포에 본 발명의 핵산, 트랜스포존, 벡터 또는 조성물을 전달하는 대안적인 수단을 기술하는 것을 의미한다.

[0098] 뉴클레오펙션의 특정 실시양태에서, 방법은 하나 이상의 큐벳(들)에서 동시에 수행된다. 뉴클레오펙션의 특정 실시양태에서, 방법은 2개의 큐벳에서 동시에 수행된다. 임상 또는 상업적 적용을 위해 더 큰 규모로 수행되는 공정에서, 예를 들어, 뉴클레오펙션은 많은 절차가 동시에 진행되는 대용량 카세트에서 수행될 수 있다. 뉴클레오펙션의 특정 실시양태에서, 인큐베이션 단계는 미리 가온시킨 T 세포 증식 조성물에서 다수의 1차 인간 T 세포를 포함하는 조성물을 인큐베이션하는 단계를 포함한다. 인큐베이션 단계는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24시간 또는 그 사이의 임의의 수/부분 시간의 기간이 걸릴 수 있다. 인큐베이션 단계는 적어도 1, 2, 3, 4, 5, 6 또는 7일 또는 그 사이의 임의의 수/부분 일(day)의 기간이 걸릴 수 있다. 인큐베이션 단계는 적어도 1주일이 걸릴 수 있다. 뉴클레오펙션의 특정 실시양태에서, 인큐베이션 단계는 2일의 기간이 걸린다. 뉴클레오펙션의 특정 실시양태에서, 적용 단계는 하기 프로그램(들) EI-115, EI-151, EI-156, EI-158, EG-115, EG-142, EG-151, ES-115, ES-151, EO-151, EO-148, EO-156, EO-210, EO-213, 및 FI-156 중 하나 이상을 적용하는 단계를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 적용 단계는 하기 프로그램(들) EI-115, EI-151, EI-156, EI-158, EG-115, EG-142, EG-151, ES-115, ES-151, EO-151, EO-148, EO-156, EO-210, EO-213, 및 FI-156 중 하나 이상, 또는 각 펄스가 동일한 기간 및 강도, 및 실질적으로 유사한 펄스 사이의 기간을 갖는 동일한 횟수의 전기 펄스를 제공하는 프로그램을 적용하는 단계를 포함한다. 특정 실시양태에서, 적용 단계는 론자 아막사(Lonza Amaxa), 맥스사이트 테크놀로지(MaxCyte technology), BTX 펄스애질(BTX PulseAgile) 및 바이오래드 진펄서(BioRad GenePulser)를 포함하나 이에 제한되지 않는 공지된 전기 천공/뉴클레오펙션 장치를 사용하여 수행될 수 있다. 뉴클레오펙션의 특정 실시양태에서, 적용 단계는 적어도 1회의 전기 펄스를 적용하는 단계를 포함할 수 있다. 뉴클레오펙션의 특정 실시양태에서, 적용 단계는 세포의 세포막 및/또는 핵막이 투과성이 되도록 유도하기에 충분한 적어도 1회의 전기 펄스를 본 발명의 조성물에 적용하는 단계를 포함할 수 있다.

[0099] 본원에서 제공된 양은 예시적이고 비제한적이지만, 이들 양(예를 들어, 비율 또는 상대 존재량) 사이의 관계를 사용하여 더 큰 규모의 공정 및 제조를 위해 본원에서 예시된 방법을 변형시킬 수 있다.

[0100] 본 발명의 변형된 T 세포(예를 들어, T_{SCM} 및/또는 T_{CM})를 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 활성화 보충물은 하나 이상의 사이토카인(들)을 포함한다. 하나 이상의 사이토카인(들)은 림포카인을 포함하나 이에 제한되지 않는 임의의 사이토 카인을 포함할 수 있다. 예시적인 림포카인은 인터류킨-2(IL-2), 인터류킨-3(IL-3), 인터류킨-4(IL-4), 인터류킨-5(IL-5), 인터류킨-6(IL-6), 인터류킨-7(IL-7), 인터류킨-15(IL-15), 인터류킨-21(IL-21), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) 및 인터페론-

감마(INFγ)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 하나 이상의 사이토카인(들)은 IL-2를 포함할 수 있다.

[0101] 본 발명의 변형된 T 세포(예를 들어, T_{SCM} 및/또는 T_{CM})를 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 증식 보충물은 하나 이상의 사이토카인(들)을 포함한다. 하나 이상의 사이토카인(들)은 림포카인을 포함하나 이에 제한되지 않는 임의의 사이토카인을 포함할 수 있다. 예시적인 림포카인은 인터류킨-2(IL-2), 인터류킨-3(IL-3), 인터류킨-4(IL-4), 인터류킨-5(IL-5), 인터류킨-6(IL-6), 인터류킨-7(IL-7), 인터류킨-15(IL-15), 인터류킨-21(IL-21), 과립구 대식세포 콜로니 자극 인자(GM-CSF) 및 인터페론-감마(INFγ)를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 하나 이상의 사이토카인(들)은 IL-2를 포함할 수 있다.

[0102] 본 발명의 변형된 T 세포(예를 들어, T_{SCM} 및/또는 T_{CM})를 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 미접촉 T 세포이다. 미접촉 T 세포는 CD45RA, CCR7 및 CD62L을 발현할 수 있다. 특정 실시양태에서, 방법은 적어도 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99%, 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트의 미접촉 T 세포를 포함하는 세포 집단에 적용된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}의 생산 효율은 본 발명의 방법이 적용되는 세포 집단에서 미접촉 T 세포의 비율 또는 퍼센트를 증가시킴으로써 증가될 수 있다.

[0103] 본 발명의 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 기억 T 세포이다.

[0104] 본원의 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 발현한다.

[0105] 본 발명의 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 미접촉 T 세포(변형된 T_N)이며 변형된 T_N은 CD45RA, CCR7 및 CD62L 중 하나 이상을 발현한다. 본 발명의 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 변형된 T_{SCM} T 기억 줄기세포(변형된 T_{SCM})이며 변형된 T_{SCM}은 CD45RA, CD95, IL-2Rβ, CR7, 및 CD62L 중 하나 이상을 발현한다. 본 발명의 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 중심 기억 T 세포(변형된 T_{CM})이며 변형된 T_{CM}은 CD45RO, CD95, IL-2Rβ, CCR7, 및 CD62L 중 하나 이상을 발현한다. 본 발명의 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 이펙터 기억 T 세포(변형된 T_{EM})이며 변형된 T_{EM}은 CD45RO, CD95 및 IL -2Rβ 중 하나 이상을 발현한다. 본 발명의 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 이펙터 T 세포(변형된 T_{EFF})이며 변형된 T_{EFF}는 CD45RA, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 발현한다.

[0106] 본 발명의 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}을 생산하는 방법의 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 CD4 및/또는 CD8을 발현할 수 있다. 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 다양한 비율의 CD4 및/또는 CD8을 발현할 수 있다. 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 자연 발생적이지 않은 다양한 비율의 CD4 및/또는 CD8을 발현할 수 있다. 특정 실시양태에서, 자연 발생적이지 않을 수 있는 다양한 비율의 CD4 및/또는 CD8을 발현하는 1차 인간 T 세포는 이종 세포 집단이다.

[0107] 본 발명의 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}을 생성하는 방법의 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 예를 들어 전혈, 말초 혈액, 제대혈, 림프액, 림프절 조직, 골수 및 뇌척수액(CSF: cerebral spinal fluid)으로부터 단리, 제조 또는 유래될 수 있다, 본원에 사용되는 용어 "말초 혈액"은 순환 혈액 풀로부터 얻거나 제조되고 림프계, 비장, 간 또는 골수 내에 격리되지 않은 혈액의 세포 성분(예를 들어, 적혈구, 백혈구 및 혈소판)을 지칭한다. 제대혈은 림프계, 비장, 간 또는 골수 내에 격리된 혈액 및 말초 혈액과 구별된다. 용어 "제대혈", "태혈" 또는 "탯줄 혈액"은 호환적으로 사용될 수 있으며, 출산 후 태반에, 그리고 부착된 제대에 남아있는 혈액을 말한다. 탯줄 혈액은 종종 조혈 세포를 포함한 줄기세포를 포함한다.

[0108] 본 발명의 1차 인간 T 세포는 pan T 세포를 포함할 수 있다. 본원에서 사용되는 pan T 세포는 아형, 활성화 상태, 성숙 상태 또는 세포 표면 마커 발현에 의한 분류 없이 생물학적 샘플로부터 단리된 모든 T 림프구를 포함한다.

[0109] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 방법은 게놈 편집 구조물을 포함하는 조성물 또는 조성물을 변형된 T_{SCM}

또는 T_{CM} 세포에 도입하는 단계를 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 가이드 RNA 및 CRISPR(클러스터된 규칙적인 간격의 짧은 회문 반복부) 관련 단백질 9(Cas9) DNA 엔도뉴클레아제를 포함한다. 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함한다. 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 융합 단백질을 코딩한다. 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 코딩하며 여기서 발현된 DNA 결합 도메인관 발현된 IIS형 엔도뉴클레아제는 비공유적으로 결합된다. 게놈 편집 구조물이 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 Cas9 엔도뉴클레아제에서 유래된 서열을 포함한다. 게놈 편집 구조물이 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 DNA 결합 도메인이다. Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열이 DNA 결합 도메인인 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 불활성 Cas9를 코딩한다. Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열이 DNA 결합 도메인인 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 절두된 Cas9를 코딩한다. 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 위치 10에서 아스파르트산(D)에서 알라닌(A)으로의 아미노산 치환(D10A)을 포함한다. 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 위치 840에서 히스티딘(H)에서 알라닌(A)으로의 아미노산 치환(H840A)을 포함하거나 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 불활성화된 Cas9(dCas9)(서열 번호 33)를 포함한다. 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 위치 580에서 아스파라긴(N)에서 알라닌(A)으로의 아미노산 치환(N580A)을 포함한다. 특정 실시양태에서, Cas9 엔도뉴클레아제로부터 유래된 서열은 절두되고 불활성화된 Cas9(dSaCas9)(서열 번호 32)를 포함한다. 게놈 편집 구조물이 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 전사 활성화제 유사 이펙터 뉴클레아제(TALEN)로부터 유래된 서열을 포함한다. 게놈 편집 구조물이 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, TALEN으로부터 유래된 서열은 DNA 결합 도메인이다. 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 TALEN을 포함한다. 게놈 편집 구조물이 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 아연 핑거 뉴클레아제(ZFN)로부터 유래된 서열을 포함한다. 게놈 편집 구조물이 DNA 결합 도메인 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, ZFN으로부터 유래된 서열은 DNA 결합 도메인이다. 특정 실시양태에서, 게놈 편집 구조물은 아연 핑거 뉴클레아제(ZFN)를 포함한다.

[0110] 본 발명의 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM} 세포를 생산하는 방법은 더 많은 수 또는 더 큰 비율의 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM} 세포를 생산하도록 최적화될 수 있다. 예를 들어, 본 발명의 방법을 거친 세포 집단은 증가된 수 또는 더 큰 비율의 미접촉 T 세포를 함유하도록 농축될 수 있다. 본 발명의 방법을 거친 T 세포 집단에서의 미접촉 T 세포의 수 및/또는 비율이 증가함에 따라, 생산되는 본 발명의 T_{SCM} 및/또는 T_{CM} 세포의 수 및/또는 비율도 증가한다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 본 발명의 방법에 필요한 선행하는 시간 또는 기간의 길이가 감소함에 따라, 본 방법에 의해 생산되는 본 발명의 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM} 세포의 수 및/또는 비율이 증가한다. 본 발명의 방법에 필요한 선행하는 시간 또는 기간의 길이 또는 "제조 기간"은 또한 본 발명의 방법을 거치는 세포의 "수명 외 기간(out-of-life period)"이라고 지칭될 수 있다.

[0111] 본 발명의 변형된 T 세포를 제조하는 방법의 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 CD62L, CD45RA, CD28, CCR7, CD127, CD45RO, CD95, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 발현한다. 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 미접촉 T 세포(T_N)이며 T_N은 하나 이상의 CD45RA, CCR7 및 CD62L 중 하나 이상을 발현한다. 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 T 기억 줄기세포(T_{SCM})이며 T_{SCM}은 CD45RA, CD95, IL-2Rβ, CR7 및 CD62L 중 하나 이상을 발현한다. 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 중심 기억 T 세포(T_{CM})이며 T_{CM}은 CD45RO, CD95, IL-2Rβ, CCR7 및 CD62L 중 하나 이상을 발현한다. 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 이펙터 기억 T 세포(T_{EM})이며 T_{EM}은 CD45RO, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 발현한다. 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 이펙터 T 세포(T_{EFF})이며 T_{EFF}는 CD45RA, CD95 및 IL-2Rβ 중 하나 이상을 발현한다. 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포는 CD4 및/또는 CD8을 발현한다.

[0112] 본 발명은 본 발명의 방법에 의해 생산된 변형된 T_{SCM}을 포함하는 조성물을 제공한다. 본 발명은 본 발명의 방법에 의해 생산된 변형된 T_{CM}을 포함하는 조성물을 제공한다. 본 발명은 본 발명의 방법에 의해 생산된 변형된 T_{SCM}

및 변형된 T_{CM}을 포함하는 조성물을 제공한다. 본 발명의 방법에 의해 생산된 변형된 T_{SCM} 및 변형된 T_{CM}을 포함하는 조성물의 특정 실시양태에서, 다수의 T_{SCM}은 조성물의 적어도 1%, 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99%를 포함할 수 있다. 본 발명의 방법에 의해 생산된 변형된 T_{SCM} 및 변형된 T_{CM}을 포함하는 조성물의 특정 실시양태에서, 다수의 T_{CM}은 조성물의 적어도 1%, 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99%를 포함할 수 있다.

[0113] 본 발명은 본 발명의 방법에 의해 생산된 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}을 포함하는 조성물의 이를 필요로 하는 대상체를 치료하는 의약의 제조를 위한 용도를 제공한다. 상기 용도의 특정 실시양태에서, 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}은 자가 유래성이다. 상기 용도의 특정 실시양태에서, 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}은 동종 이계성이다. 특정 실시양태에서, 항원 수용체는 T 세포 수용체이다. 특정 실시양태에서, T 세포 수용체는 자연 발생적이다. 특정 실시양태에서, T 세포 수용체는 자연 발생적이지 않다. 특정 실시양태에서, 특히, T 세포 수용체가 자연 발생적이지 않은 실시양태에서, T 세포 수용체는 야생형 T 세포 수용체와 비교하여 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함한다. 특정 실시양태에서, 특히, T 세포 수용체가 자연 발생적이지 않은 실시양태에서, T 세포 수용체는 재조합 T 세포 수용체이다. 특정 실시양태에서, 항원 수용체는 키메라 항원 수용체(CAR)이다. 특정 실시양태에서, CAR은 CARTyrin이다. 특정 실시양태에서, CAR은 하나 이상의 VHH 서열(들)을 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR은 VCAR이다.

[0114] 본 발명은 질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에서 이를 치료하는 방법으로서, 본 발명의 방법에 의해 생산된 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}을 포함하는 조성물의 치료 유효량을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}은 자가 유래성이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 T_{SCM} 및/또는 T_{CM}은 동종 이계성이다. 특정 실시양태에서, 항원 수용체는 T 세포 수용체이다. 특정 실시양태에서, T 세포 수용체는 자연 발생적이다. 특정 실시양태에서, T 세포 수용체는 자연 발생적이지 않다. 특정 실시양태에서, 특히, T 세포 수용체가 자연 발생적이지 않은 실시양태에서, T 세포 수용체는 야생형 T 세포 수용체와 비교하여 하나 이상의 돌연변이(들)를 포함한다. 특정 실시양태에서, 특히, T 세포 수용체가 자연 발생적이지 않은 실시양태에서, T 세포 수용체는 재조합 T 세포 수용체이다. 특정 실시양태에서, 항원 수용체는 키메라 항원 수용체(CAR)이다. 특정 실시양태에서, CAR은 CARTyrin이다. 특정 실시양태에서, CAR은 하나 이상의 VHH 서열(들)을 포함한다. 특정 실시양태에서, CAR은 VCAR이다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 질환 또는 장애는 암이고 항원 수용체는 암 항원을 특이적으로 표적화한다. 상기 방법의 특정 실시양태에서, 질환 또는 장애는 감염성 질환 또는 장애이고 항원 수용체는 바이러스, 박테리아, 효모 또는 미생물 항원을 특이적으로 표적화한다. 특정 실시양태에서, 질환 또는 장애는 분비 단백질의 활성의 결여 또는 불충분한 양에 의해 유발되는 질환 또는 장애이다. 특정 실시양태에서, 질환 또는 장애는 치료 단백질의 활성의 대체 또는 치료 단백질의 양의 증가에 의해 치료되는 질환 또는 장애이다. 특정 실시양태에서, 치료 단백질은 분비 단백질이다. 특정 실시양태에서, 분비 단백질은 신체의 국소 영역 내에서 활성 또는 충분한 양이 결여되어있다. 특정 실시양태에서, 신체의 국소 영역은 천연 T 세포 또는 변형된 T 세포에 의해 접근 가능하다. 특정 실시양태에서, 변형된 T 세포는 생체 내, 생체 외, 시험관 내 또는 원위치에서 생산된다.

도면의 간단한 설명

[0115] 도 1은 실시예 1의 방법의 제11일에 CAR-T_{SCM} 표현형의 출현을 나타내는 일련의 플롯이다. 세포를 대리(surrogate) CARTyrin 플라스미드로 뉴클레오펙션시켰다. CAR-T_{SCM} 세포는 아래 두 플롯에 나타낸 바와 같이 CD62L과 CD45RA를 발현한다.

도 2는 제19일에 실시예 1의 방법에 의해 생산된 CAR-T_{SCM}의 순도를 나타내는 일련의 플롯이다. 제19일에 실시예 1에 기재된 방법에 의해 생산된 CAR-T_{SCM} 세포 집단은 B 세포 또는 림프구를 포함하지 않았다. 세포의 대부분은 CD3+ T 세포이다. 1.1%만이 자연 살해 세포이고 1.7%는 자연 살해 T 세포이다.

도 3은 실시예 1에 기재된 방법의 제11일에 T 세포의 대부분이 CARTyrin을 발현함을 나타내는 플롯이다.

도 4는 실시예 1에 기재된 방법의 제19일에 CAR-T_{SCM} 표현형의 농축을 나타내는 일련의 플롯이다. 세포를 대리

CARTyrin 플라스미드로 뉴클레오펙션시켰다. CAR-T_{SCM} 세포는 아래 두 플롯에 나타난 바와 같이 CD62L과 CD45RA를 발현한다.

도 5는 실시예 1에 기재된 방법의 제19일에 T 세포 고갈이 없음을 나타내는 일련의 플롯이다. 제19일에, 이 방법에 의해 생성된 세포 집단은 T 세포 활성화 및 고갈에 대한 마커인 PD1을 발현하지 않는다. CARTyrin을 발현하는 이들 세포는 제조 후 휴지 상태에 거의 성공적으로 도달하였다. 이들은 달리 PD1 발현 수준을 높이는 항원 비의존적(토닉) 신호전달의 징후를 보이지 않는다. 토닉 신호는 CAR T 세포 요법의 조기 고갈 및 효능 감소를 일으키는 일부 CAR 분자에 의해 야기되는 것으로 가정된다.

도 6a는 유도성 카스파제 폴리펩티드(안전 스위치, "iC9"), CARTyrin(항-BCMA), 및 선택 가능 마커를 코딩하는 서열을 포함하는 트랜스포존을 코딩하는 서열을 함유하는 플라스미드로 전위된 T 세포를 나타내는 일련의 플롯이다. 왼쪽 플롯은 플라스미드의 부재하에서 트랜스포사제에 노출된 생존 T 세포를 나타낸다. 오른쪽 플롯은 플라스미드의 존재하에서 트랜스포사제에 노출된 생존 T 세포를 나타낸다. 세포는 과활성 트랜스포사제("슈퍼 피기백") 또는 야생형 피기백 트랜스포사제에 노출되었다.

도 6b는 녹색 형광 단백질(GFP: green fluorescent protein)을 코딩하는 서열을 함유하는 플라스미드로 전위된 T 세포를 나타내는 일련의 플롯이다. 왼쪽 플롯은 플라스미드의 부재하에서 트랜스포사제에 노출된 생존 T 세포를 나타낸다. 오른쪽 플롯은 플라스미드의 존재하에서 트랜스포사제에 노출된 생존 T 세포를 나타낸다. 세포는 과활성 트랜스포사제("슈퍼 피기백") 또는 야생형 피기백 트랜스포사제에 노출되었다.

도 6c는 과활성 피기백 트랜스포사제에 대한 WT로의 전위로 인해 형질전환된 T 세포의 비율(%)을 나타내는 표이다. 과활성 피기백 트랜스포사제(슈퍼 피기백 트랜스포사제)와 접촉된 T 세포는 WT 트랜스포사제보다 4배나 큰 비율로 형질전환되었다.

도 6d는 뉴클레오펙션 후 5일에 과활성 피기백 트랜스포사제에 대한 WT로의 전위로 인해 형질전환된 T 세포의 비율(%)을 나타내는 표이다. 과활성 피기백 트랜스포사제(슈퍼 피기백 트랜스포사제)와 접촉된 T 세포는 WT 트랜스포사제보다 훨씬 더 큰 비율로 형질전환되었다.

도 7은 피기백™- 및 렌티바이러스-생산된 CAR+ T 세포 사이의 표현형의 차이를 나타내는 그래프이다. CAR+ T 세포는 피기백 전위 또는 렌티바이러스 형질도입을 사용하여 생산하였다. 인간 pan T 세포를 CAR을 코딩하는 피기백으로 전위시키고, 전위 후 제2일에 항-CD3/CD28 비드로 자극하고, 증식하고, 전위 후 제19일에 조사하였다. 렌티바이러스를 사용한 생산을 위해, pan T 세포를 CD3/CD28 비드로 자극하고, CAR을 코딩하는 렌티바이러스(MOI 5)로 형질도입시키고, 증식하고, 자극 후 제18일에 조사하였다. 그런 후, CAR+ T 세포의 각 집단을 표준 기억 마커 CD62L, CD45RA 및 CD95의 발현에 기초하여 특성화하였다. 각 CAR+ T 세포 서브세트의 비율(%)은 미접촉(CD62L+CD45RA+), Tcm(CD62L+CD45RA-), Tem(CD62L-CD45RA-) 및 Teff(CD62L-CD45RA+)로 정의하였다. 모든 CAR+ T 세포는 CD95+였다.

도 8a 및 도 8b는 피기백™이 미접촉 T 세포를 우선적으로 전위시킴을 보여주는 한 쌍의 그래프이다. 인간 pan T 세포를 미접촉(CD62L+ CD45RA+), Tcm(CD62L+ CD45RA-), Tem(CD62L-CD45RA-) 및 Teff(CD62L-CD45RA+) 서브세트로 분류하였다(BD FACSAria II 유동 세포 계측기 사용). 분류된 서브세트를 각각 피기백-GFP로 전위시키거나 렌티바이러스-GFP로 형질도입시켰다. 전자 경우, 각각의 분류된 서브세트를 피기백-GFP로 전위시키고, 이식 후 제2일에 항-CD3/CD28 비드로 자극하고, 증식하고, 전위 후 제19일에 조사하였다. 후자 경우, 분류된 서브세트를 CD3/CD28 비드로 자극하고, GFP를 코딩하는 렌티바이러스(MOI 5)로 형질도입시키고, 증식하고, 자극 후 제19일에 조사하였다. n = 3 공여자.

도 9는 피기백™ 제조 공정에서 미접촉 T 세포가 드문 경우에도 다발성 골수종(MM: multiple myeloma) 환자의 샘플에서 T_{SCM}이 높은 수준으로 생산됨을 보여주는 한 쌍의 그래프이다. MM 환자(삼각형)와 건강한 공여자(원)의 T 세포를 포세이다(Poseida) 제조 공정 전(왼쪽)과 후(오른쪽)에 유동 세포 분석으로 기억 마커 발현에 대해 특성화하였다. CD45RA 및 CD62L의 발현을 FACS로 평가하고, MM 환자 및 건강한 공여자에 대해 플롯을 나타낸다. MM 환자의 T 세포는 일반적으로, 이와는 반대인 건강한 정상 공여자의 T 세포와 달리, 미접촉 및 T_{SCM} 세포의 빈도는 낮지만 Teff의 빈도는 높다고 공지되어 있다. 상이한 MM 환자의 미접촉 및 Tscm의 입력 빈도에 관계없이, 포세이다 제조 공정을 사용하여 P-BCMA-101을 생산하여 높은 수준의 CD8+ Tscm을 나타낸 산물을 얻었다(E). 이것은 적극적으로 치료를 받고 있는 MM 환자에도 적용되었다(적색 삼각형).

도 10은 슬리핑 뷰티(SB100x) 전위 시스템 및 본 발명의 방법으로 형질전환된 인간 pan T 세포에서 T 및 T_{SCM} 세

포 마커를 특성화하는 일련의 형광 활성화된 세포 분류(FACs: Fluorescence Activated Cell Sorting) 플롯이다. 슬리핑 뷰티(SB100x) 전위는 포세이다 제조 공정을 사용하여 T_{scm} 표현형을 우세하게 생산한다. 나타낸 바와 같이, *슬리핑 뷰티* 또는 피기백 트랜스포존 플라스미드 및 *SB100x* 또는 SPB mRNA 각각의 1㎍을 사용하여 인간 pan T 세포를 전위시켰다. 전위 후, 생체 외에서 세포를 증식하고, 포세이다 제조 약물 선별 시스템을 사용하여 비전위된 모든 세포를 제거하였다. 배양 18일 후, 세포를 표현형 마커 CD4, CD8, CD45RA 및 CD62L로 염색하였다. 줄기세포 기억 표현형(Tscm)은 CD45RA 및 CD62L 이중 양성 세포로 정의되며 모든 샘플에서 세포의 > 65%를 차지한다. 한 열의 모든 패널은 공통된 x 축 및 y 축 매개 변수를 공유한다. 각 행에서 위에서 아래로, 2.5 마이크로그램(㎍)의 슬리핑 뷰티 트랜스포존 *SB100x*(상단), 5 ㎍의 *SB100x*(상단에서 두 번째), 10 ㎍의 *SB100x*(상단에서 세 번째), 5 ㎍의 *피기백* 트랜스존 P-BCMA-101(하단에서 두 번째) 및 하단의 염색되지 않은 대조군으로 전위된 T 세포로부터의 데이터를 나타낸다. 첫 번째와 두 번째 열의 왼쪽에서 오른쪽 순서로 x 축은 전방 산란(Forward Scatter)(FSC)을 50k의 증가로 0에서 250,000(1000은 "k"로 축약함)까지의 단위로 나타낸다. 왼쪽에서 세 번째 열의 x 축은 CD8 발현을 10의 거듭제곱으로 증가하는 0에서 10^5까지로 적힌 눈금으로 나타낸다. 마지막 오른쪽 열은 CD62L 발현을 10의 거듭제곱으로 증가하는 0에서 10^5까지로 적힌 눈금으로 나타낸다. 첫 번째 열의 y 축은 측방 산란((Side Scatter)(SSC)을 50k의 증가로 0에서 250k까지의 단위로 나타낸다. 왼쪽에서 두 번째 열의 y 축은 세포 생존능 마커 7 아미노액티노마이신 D(7AAD)의 발현을 10의 거듭제곱으로 증가하는 0에서 10^5까지로 나타낸다. 왼쪽에서 세 번째 열의 y 축은 마커 CD4의 발현을 10의 거듭제곱으로 증가하는 0에서 10^5까지로 나타낸다. 오른쪽 열의 y 축은 마커 CD45RA의 발현을 10의 거듭제곱으로 증가하는 0에서 10^5까지로 나타낸다.

도 11은 혈액 응고를 유도하는 인간 응고 경로를 나타내는 개략도이다. 예를 들어 내피 손상에 의한 접촉 활성화는 내인성 응고 경로를 활성화한다. 조직 인자는 예를 들어 외상 후, 외인성 응고 경로를 활성화한다. 두 경로 모두는 프로트롬빈을 트롬빈으로의 전환에서 만나, 피브리노겐에서 피브린으로의 전환을 촉매한다. 혈소판과 함께 중합된 피브린은 응괴를 형성한다. 인자 IX(원)가 없는 경우 응고에 결함이 생긴다. 인자 VIII(FVIII) 결핍은 혈우병 A의 발생으로 이어진다. 인자 IX(FIX) 결핍은 혈우병 B의 발생으로 이어진다. 혈우병 B는 25,000 내지 30,000명 중 대략 1명의 빈도로 발생하는 희귀 질환이다. 혈우병 B 사례 중 60%가 중증이다. 혈우병 B 환자의 1% 미만이 정상적인 FIX 수준을 보인다. 본 발명의 조성물 및 방법 이전에, 혈우병 B에 대한 표준 치료는 연간 약 $ 250,000의 비용으로 2 내지 3일마다 재조합 인자 IX 단백질의 주입을 수반한다. 이 표준 치료 옵션과는 현저히 대조적으로, 본 발명의 T_{SCM} 세포는 수십 년 동안 인간에서 유지된다.

도 12는 FIX 분비 T 세포를 나타내는 일련의 형광 활성화된 세포 분류(FACS 플롯)이다. 인간 인자 IX 전이유전자를 코딩하는 T 세포는 세포의 약 80%에서 T_{SCM} 표현형을 보였다. 6개의 패널은 왼쪽에서 오른쪽 순서로 설명한다. (1) x 축의 전방 산란(FSC) 대 y 축의 측방 산란(SSC). x 축은 50k의 증가로 0에서 250,000(1000은 k로 축약함)까지이고, y 축은 50k의 증가로 0에서 250k까지이다. (2) x 축의 FSC 대 세포 생존능 마커 7 아미노액티노마이신 D(7AAD). x 축은 50k의 증가로 0에서 250k까지로 표시된다. y 축은 위에서 아래로 -10^3, 0, 10^3, 10^4, 10^5로 나타낸다. (3) x 축에는 Cy7 염료에 컨쥬게이션된 항-CD56-APC(CDC56-APC-Cy7)을 10의 거듭제곱으로 증가하는 0에서 10^5까지의 단위로 나타낸다. y 축에는 피코에리트린(PE)에 컨쥬게이션된 항-CD3을 10의 거듭제곱으로 증가하는 0에서 10^5까지의 단위로 나타낸다. (4) X 축에는 플루오레세인 이소티오시아네이트(FITC)에 컨쥬게이션된 항-CD8을 10의 거듭제곱으로 증가하는 0에서 10^5까지의 단위로 나타낸다. y 축에는 브릴리언트 바이올렛(Brilliant Violet) 650 염료(BV650)에 컨쥬게이션된 항-CD4을 10의 거듭제곱으로 증가하는 0에서 10^5까지의 단위로 나타낸다. (5) X 축에는 브릴리언트 바이올렛 421 염료(BV421)에 컨쥬게이션된 항 CD62L 항체를 10의 거듭제곱으로 증가하는 0에서 10^5까지의 단위로 나타낸다. y 축에는 PE 및 Cy7에 컨쥬게이션된 항-CD45RA 항체를 10의 거듭제곱으로 증가하는 0에서 10^5까지의 단위로 나타낸다. 이 패널은 상자로 표시되어 있다. (6) x 축에는 브릴리언트 바이올렛 786(BV786)에 컨쥬게이션된 항-CCR7 항체를 10의 거듭제곱으로 증가하는 0에서 10^5까지의 단위로 나타낸다. y 축에서 PE 및 Cy7에 컨쥬게이션된 항-CD45RA를 10의 거듭제곱으로 증가하는 0에서 10^5까지의 단위로 나타낸다.

도 13a는 본 발명의 변형된 T 세포의 생산 중에 인간 인자 IX 분비를 나타내는 그래프이다. Y 축에는 밀리리터(mL)당 나노그램(ng)의 인자 IX 농도를 20의 증가로 0에서 80까지 나타낸다. x 축에는 9일 및 12일의 T 세포를 나타낸다.

도 13b는 T 세포에 의해 생산된 분비 인간 인자 IX의 응고 활성을 나타내는 그래프이다. y 축에는 인간 혈장에 대한 인자 IX 활성(%)을 2의 증가로 0에서 8까지 나타낸다. x 축은 9일 및 12일의 T 세포를 나타낸다.

도 14a 내지 도 14e는 HR 또는 MMEJ 및 상응하는 서열을 사용하여 AAVS1 부위로의 부위 특이적 통합을 위한 일련의 플라스미드 지도이다. A) 부위 특이적 (AAVS1) 상동 재조합(HR: homologous recombination), B) 부위 특이적 (AAVS1) 미세 상동성 매개 말단 결합(MMEJ: microhomology-mediated end-joining) 재조합 및 C) TTAA 특이적 피기백™ 전위를 통한 인간 pan T 세포의 게놈으로의 안정한 통합을 시험하기 위한 공여 플라스미드. HR 및 MMEJ 공여 플라스미드의 경우, GFP-2A-DHFR 유전자 발현 카세트는 AAVS1 부위 통합을 위한 상동성 암(arm) 및 CRISPR/Cas9 표적화 부위가 측면에 위치하였다; 피기백™ 공여 플라스미드의 경우, GFP-2A-DHFR 유전자 발현 카세트는 피기백™ 트랜스포존 요소가 측면에 위치한다. HR 및 MMEJ 플라스미드를 위한 상동성 암은 각각 500 bp 및 25 bp이다. 패널 D 및 E, 및 F는 각각 서열 번호 41 및 42를 나타낸다.

도 15는 뉴클레오펙션 후 3일에 1차 인간 pan T 세포에서 전이유전자(GFP) 발현을 나타내는 그래프이다. CRISPR 리보 뉴클레오티드(RNP) 표적화 시약이 있거나 없이 HR 또는 MMEJ 공여 플라스미드를 뉴클레오펙션을 통해 pan T 세포에 동시에 전달하였다. 대조군으로서 공여 플라스미드만을 받은 T 세포를 포함하였다. pan T 세포를 또한 피기백™ 트랜스포존 전달 시스템을 사용하여 변형시켰다. 제0일에 TCR 자극을 통해 T 세포를 활성화하고, 뉴클레오펙션 후 제3일에 유세포 분석에 의해 GFP+ T 세포 비율(%)을 평가하였으며 데이터를 막대그래프로 요약한다.

도 16은 뉴클레오펙션 후 11일에 1차 인간 pan T 세포에서 전이유전자(GFP) 발현 및 선별을 나타내는 그래프이다. 비시스트론(bi-cistronic) GFP-2A-DHFR 통합 카세트에 코딩된 DHFR 선별 유전자를 사용하여 메토트렉세이트를 첨가하여 안정적으로 통합된 전이유전자를 가진 활성화된 T 세포를 선별하였다. 뉴클레오펙션 후 제11일에 유세포 분석에 의해 GFP+ T 세포 비율(%)을 측정하였으며 데이터를 막대그래프로 요약한다. 전위 시약, RNP + HR 또는 MMEJ 공여 플라스미드를 받은 pan T 세포에서 선별을 통해 GFP+ 세포는 매우 농축되었지만, 공여 플라스미드만을 투여하는 T 세포에서는 그렇지 않았다.

도 17a 내지 도 17c는 AAVS1 부위에서 HR 및 MMEJ에 의해 변형된 1차 인간 pan T 세포의 표현형을 나타내는 일련의 그래프이다. 뉴클레오펙션 후 제11일에 유동 분석에 의해 GFP+ CD8+ pan T 세포의 표현형을 분석하였다. A) 세포를 7AAD(세포 생존능), CD4, CD8, CD45RA 및 CD62L로 염색하였고, FACS 플롯은 게이팅 전략을 나타낸다. CD45RA+CD62L+(줄기세포 기억 T 세포(Tscm)), CD45RA-CD62L+(중심 기억 T 세포(Tcm)), CD45RA-CD62L-(이펙터 기억 T 세포(Tem)) 및 CD45RA+CD62L-(T 이펙터(Teff))의 발현에 의해 CD8+ 세포 서브세트를 정의하였다. B) 각 T 세포 서브세트에서 전체 GFP+ CD8+ T 세포의 비율(%)을 막대그래프로 요약한다. Cas9 RNP와 함께 피기백™ 트랜스포존 시스템, 또는 HR 및 MMEJ를 사용하여 모든 경우에서 농축된 GFP+ Tscm 집단을 달성하였다. C) 뉴클레오펙션 후 제13일에 pan T 세포의 전체 수를 분석하고 데이터를 막대그래프로 요약한다.

도 18a 내지 도 18b는 AAVS1 부위로의 부위 특이적 통합을 나타내는 겔 전기영동 결과의 한 쌍의 사진이다. 각각의 군에서 선별된 세포를 수거하고 게놈 DNA를 추출하여 PCR의 주형으로 사용하여 A) HR 및 B) MMEJ를 위한 AAVS1 부위로의 부위 특이적 통합을 확인하였다. 2쌍의 프라이머는 개별적으로 AAVS1 표적 부위의 5'-말단 연결 부분[삽입의 프로모터 영역을 프라이밍하는 하나의 프라이머 EF1a-2r CACCGGAGCCAATTCCCACT (서열 번호 36) 및 5' 말단에서 500bp 상동성 암을 넘어 AAVS1 영역을 프라이밍하는 다른 프라이머 AAVS-3r CTGCACCACGTGATGTCCTC (서열 번호 37)로 HR 또는 MMEJ 모두에 대해 0.73 kb DNA 단편을 얻음] 및 3'-말단 연결부분[폴리 A 신호 영역을 프라이밍하는 하나의 프라이머 SV40pA-1r GTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAG (서열 번호 38) 및 500bp 5' 상동성 암을 넘어 AAVS1 영역을 프라이밍하는 다른 프라이머 AAVS-2f CTGGGGACTCTTTAAGGAAAGAAG (서열 번호 39)로 HR 또는 MMEJ에 대해 0.76kb DNA 절편을 얻음]를 증폭한다. PCR 산물을 아가로오스 겔에 나타냈다. HR 샘플에서 비특이적 밴드는 단 한 번의 라운드만으로 얻은 결과이며 추가적인 라운드를 제공하였을 경우 아마도 분석되었을 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0116] 본 발명은 강력한 CAR 활성을 갖는 줄기세포 기억 T 세포(T_{SCM})(본원에서 CAR-T_{SCM}으로 지칭됨)를 보존하거나 유도하는 조건하에 피기백™ 트랜스포존 시스템을 사용하여 인간 키메라 항원 수용체(CAR) 발현 T 세포를 생산하

는 방법을 제공한다. 본 발명의 방법을 사용하여 생산된 CAR-T_{SCM}을 포함하는 조성물은 ≥60% CAR-T_{SCM}을 포함하고 상기 T 세포 서브세트와 일치하는 뚜렷한 기능적 프로파일을 나타낸다. 본 발명의 조성물에서 발견된 다른 T 세포 서브세트는 중심 기억 CAR-T 세포(CAR-T_{CM}), 이펙터 기억 CAR-T 세포(CAR-T_{EM}), 이펙터 CAR-T 세포(CAR-T_E), 및 말단 분화된 이펙터 CAR-T 세포(CAR-T_{TE})를 포함하나 이에 제한되지 않는다. 선형 경로의 분화가 이들 세포의 생성을 담당할 수 있다: 미접촉 T 세포(T_N) > T_{SCM} > T_{CM} > T_{EM} > T_E > T_{TE}, 이로써 T_N은 T_{SCM}을 직접적으로 발생시키는 부모 전구체이며, 그 후 차례로 T_{CM} 등을 직접 발생시킨다. 본 발명의 CAR-T_{SCM}, CARTyrin-T_{SCM} 및/또는 VCAR-T_{SCM}을 포함하는 조성물은 CAR-T_{SCM}이 가장 풍부하게 존재하면서 하나 이상의 각 부모 CAR-T 세포 서브세트(예를 들어, T_{SCM} > T_{CM} > T_{EM} > T_E > T_{TE})를 포함할 수 있다. 각 부모 T 세포 서브세트의 절대적인 양/존재량 및 상대적인 비율은 환자 혈액 및 자연 발생 세포 집단 샘플 간에 다양할 수 있으며, 자연 발생 세포 집단은 높은 존재량 및/또는 비율의 T_{SCM}을 가질 수 있지만, 비자연 발생 CAR-T_{SCM}을 포함하는 본 발명의 조성물이 질환 및 암에 대해 환자를 치료하는데 보다 강력하고 효과적이다.

[0117] 키메라-항원 수용체(CAR)-T 세포를 사용한 면역 요법은 암 요법에 대한 흥미로운 치료법으로 부상하고 있다. 종양 관련 항원(Ag)을 표적화하는 자가 유래 CAR 변형된 T 세포는 강력한 종양 살해를 일으킬 수 있으며, 일부 경우에 $CD19^+$ 혈액 악성 종양의 완전한 완화를 가져올 수 있다. 종래의 생물학적 제제 및 화학 치료법과는 달리, CAR-T 세포는 Ag 인식시 신속하게 재생하는 능력을 보유함으로써, 잠재적으로 반복 치료의 필요성을 없애준다. 이를 달성하기 위해, CAR-T 세포는 초기에 종양 파괴를 유발할 뿐만 아니라 잠재적인 암 재발을 예방하기 위해 생존 가능한 기억 T 세포의 안정한 집단으로서 환자에서 존속되어야 한다. 따라서 초기 기억 세포, 특히 줄기세포 기억(T_{SCM})을 함유하는 CAR-T 산물뿐만 아니라 Ag 비의존성(토닉) 신호전달을 통한 T 세포 고갈을 일으키지 않는 CAR 분자의 개발에 집중적으로 노력해왔다. 줄기세포 유사 CAR-T는 최대한의 자가 재생 능력 및 중심 기억(T_{CM}), 이펙터 기억(T_{EM}) 및 이펙터 T 세포(T_E)를 유도하는 다능성 능력을 나타냄으로써 더 우수한 종양 제거 및 장기적인 CAR-T 생착을 가져올 것이다.

[0118] 본 발명의 CAR-T_{SCM}은 CARTyrin이라고 지칭되는 Centyrin 기반 CAR을 포함할 수 있다(따라서, 세포는 CARTyrin-T_{SCM}으로 지칭될 수 있음). Centyrin은 인간 컨센서스 테나신(tenascin) FN3 도메인을 기반으로 하는 또 다른 스캐폴드 분자이며, scFv 분자보다 작으며, 안정성을 높이고 CAR 분자에서 토닉 신호전달의 가능성을 감소시키는 단량체 특성에 대해 선별될 수 있다. 본 발명의 CARTyrin은 부적절한 유전자 활성화 또는 사일런싱(silencing)을 차단하여 CARTyrin 발현을 안정화하는데 도움을 주기 위해 2개의 시스 조절 격리 인자가 측면에 위치하는 카르티닌을 코딩하는 플라스미드 DNA 트랜스포존을 사용하여 T 세포에 도입될 수 있다.

[0119] 본 발명의 CAR-T_{SCM}은 VCAR이라 지칭되는 VHH 기반 CAR을 포함할 수 있다(따라서, 세포는 VCAR-T_{SCM}으로 지칭될 수 있음). 본 발명의 VCAR은 부적절한 유전자 활성화 또는 사일런싱을 차단하여 VHH 발현을 안정화하는데 도움을 주기 위해 2개의 시스 조절 격리 인자가 측면에 위치한 VHH를 코딩하는 플라스미드 DNA 트랜스포존을 사용하여 T 세포에 도입될 수 있다.

[0120] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 피기백™(PB) 트랜스포존 시스템을 사용하여 항원(암 항원 포함) 특이적 CARTyrin 또는 VCAR을 휴지의 pan T 세포에 안정적으로 통합시킬 수 있으며, 이에 의해 트랜스포존은 단일 전기천공 반응에서 슈퍼 피기백™(SPB)이라고 불리는 mRNA 트랜스포사제와 함께 동시 전달되었다(하지만, 트랜스포존과 트랜스포사제는 세포 내로 도입될 때까지 별도의 조성물에 포함됨). 피기백™ 트랜스포존을 접촉되지 않은(untouched) 휴지의 1차 인간 pan T 세포에 전달하여 20 내지 30%의 세포에서 PB 전달 유전자가 안정적으로 통합되고 발현되었다. 예기치 않게, 이 변형된 CARTyrin 발현 T 세포의 대부분은 일반적으로 줄기 기억 T 세포(T_{SCM} 세포)와 관련된 마커인 CD62L 및 CD45RA의 발현에 양성이었다. 이 표현형이 CAR-T 세포 자극 및 증식시 유지되었음을 확인하기 위해, CD62L 및 CD45RA의 발현에 양성인 변형된 CARTyrin 발현 T 세포를 CD3 및 CD28의 자극을 통해 활성화하였다. CD3 및 CD28의 자극 결과로, CARTyrin+ T 세포의 > 60%는 줄기세포 기억 표현형을 나타냈다. 또한, 암 항원에 특이적인 CARTyrin을 발현한 이들 세포는 강력한 항종양 이펙터 기능을 충분히 발현할 수 있었다.

[0121] PB 시스템이 줄기 유사 마커의 발현을 향상시키는데 직접 기여하는지를 결정하기 위해, PB 전위 또는 렌티바이러스(LV) 형질도입에 의해 생성된 CAR-T 세포의 표현형을 비교하였다. 이를 수행하기 위해, CARTyrin 전이유전자를 바이러스 생산을 위한 일반적인 LV 구조물에 서브클로닝하여 새로운 벡터를 제작하였다. PB 전위 또는 LV

형질도입에 의해 접촉되지 않은 휴지 T 세포에 CARTyrin을 도입한 후, CARTyrin+ 세포를 증식한 후 휴지 상태로 복귀되도록 하였다. 기억 및 고갈 관련 마커의 동역학 분석, 항상성 사이토카인 또는 종양 관련 Ag에 반응한 이차 증식, 사이토카인 생산, 및 표적 종양 세포에 반응한 용해능을 포함하는 다양한 표현형 및 기능적 특성을 측정하였다. PB 전위된 CARTyrin+ T 세포와 달리, LV 형질도입된 CARTyrin+ T 세포는 증가된 기억 표현형을 나타내지 않았다. 또한, PB 전위된 세포는 2차 증식 및 표적 종양 세포의 살해에 대해 동등 이상의 능력을 나타냈다. 종합적으로, 이러한 데이터는 PB 전위에 의해 생산된 CAR-T 세포가 대부분, CAR-T 분야에서 매우 바람직한 산물 표현형인 T_{SCM} 세포임을 입증한다. 또한, 이러한 CARTyrin+ T 세포는 강력한 항종양 활성을 나타내며 토닉 신호전달 및 기능적 고갈의 경향이 적을 수 있는 Centyrin 기반 CAR의 사용으로 인해 생체 내에서 더 오래 지속하는 세포를 생성할 수 있다.

[0122] ***키메라 항원 수용체***

[0123] 본 발명은 (a) 항원에 각각 특이적으로 결합하는 하나 이상의 서열을 포함하는 항원 인식 영역을 포함하는 엑토도메인(ectodomain); (b) 막 횡단 도메인, 및 (c) 적어도 하나의 보조 자극 도메인을 포함하는 엔도도메인(endodomain)을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다. 특정 실시양태에서, 항원 인식 영역은 이중 특이적 또는 일렬의(tandem) CAR을 생산하기 위해 항원에 각각 특이적으로 결합하는 2개의 서열을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 항원 인식 영역은 3중 특이적 CAR을 생산하기 위해 항원에 각각 특이적으로 결합하는 3개의 서열을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 엑토도메인은 신호 펩티드를 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 특정 실시양태에서, 엑토도메인은 항원 인식 영역과 막 횡단 도메인 사이에 힌지를 추가로 포함할 수 있다. 항원에 각각 특이적으로 결합하는 서열은 단쇄 항체(예를 들어, scFv), 항체의 하나 이상의 단편을 포함하는 서열(예를 들어, VHH, CAR과 관련하여 VCAR로서 지칭됨), 항체 모방체 및 Centyrin(CAR과 관련하여 CARTyrin으로 지칭됨)을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0124] 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 신호 펩티드는 인간 CD2, CD3δ, CD3ε, CD3γ, CD3ζ, CD4, CD8α, CD19, CD28, 4-1BB 또는 GM-CSFR 신호 펩티드를 코딩하는 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 신호 펩티드는 인간 CD8α 신호 펩티드를 코딩하는 서열을 포함할 수 있다. 인간 CD8α 신호 펩티드는 MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호 8)를 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 인간 CD8α 신호 펩티드는 MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호 8)를 포함하는 아미노산 서열 또는 MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호 8)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. 인간 CD8α 신호 펩티드는 atggcactgccagtcaccgccctgctgctgcctctggctctgctgctgcacgcagctagacca (서열 번호 9)를 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩될 수 있다.

[0125] 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 막 횡단 도메인은 인간 CD2, CD3δ, CD3ε, CD3γ, CD3ζ, CD4, CD8α, CD19, CD28, 4-1BB 또는 GM-CSFR 막 횡단 도메인을 코딩하는 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 막 횡단 도메인은 인간 CD8α 막 횡단 도메인을 코딩하는 서열을 포함할 수 있다. CD8α 막 횡단 도메인은 IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (서열 번호 10)를 포함하는 아미노산 서열 또는 IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (서열 번호 10)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. CD8α 막 횡단 도메인은 atctacatttgggcaccactggccgggacctgtggagtgctgctgctgagcctggtcatcacactgtactgc (서열 번호 11)를 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩될 수 있다.

[0126] 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 엔도도메인은 인간 CD3ζ 엔도도메인을 포함할 수 있다.

[0127] 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 적어도 하나의 보조 자극 도메인은 인간 4-1BB, CD28, CD40, ICOS, MyD88, OX-40 세포 내 세그먼트 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 적어도 하나의 보조 자극 도메인은 CD28 및/또는 4-1BB 보조 자극 도메인을 포함할 수 있다. CD28 보조 자극 도메인은 RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQ EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP PR (서열 번호 12)을 포함하는 아미노산 서열 또는

RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQ
EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP
PR (서열 번호 12)

을 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. CD28 보조 자극 도메인은

cgcgtgaagtttagtcgatcagcagatgccccagcttacaaacagggacagaaccagctgtataacgagctgaatctgggccgccga
gaggaatatgacgtgctggataagcggagaggacgcgaccccgaaatgggaggcaagcccaggcgcaaaaaccctcaggaagg
cctgtataacgagctgcagaaggacaaaatggcagaagcctattctgagatcggcatgaagggggagcgacggagaggcaaagg
gcacgatgggctgtaccagggactgagcaccgccacaaaggacacctatgatgctctgcatatgcaggcactgcctccaagg (서열 번호 13)

를 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩될 수 있다. 4-1BB 보조 자극 도메인은 KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호 14)을 포함하는 아미노산 서열 또는 KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호 14)을 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. 4-1BB 보조 자극 도메인은

aagagaggcaggaagaaactgctgtatattttcaaacagcccttcatgcgccccgtgcagactacccaggaggaagacgggtgctcc
tgtcgattccctgaggaagaggaaggcgggtgtgagctg (서열 번호 15)

를 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩될 수 있다. 4-1BB 보조 자극 도메인은 막 횡단 도메인과 CD28 보조 자극 도메인 사이에 위치될 수 있다.

[0128] 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 힌지는 인간 CD8α, IgG4 및/또는 CD4 서열로부터 유래된 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 힌지는 인간 CD8α 서열로부터 유도된 서열을 포함할 수 있다. 힌지는 TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD (서열 번호 16)를 포함하는 인간 CD8α 아미노산 서열 또는 TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD (서열 번호 16)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. 인간 CD8α 힌지 아미노산 서열은

actaccacaccagcacctagaccaccaactccagctccaaccatcgcgagtcagccccctgagtctgagacctgaggcctgcaggcc
agctgcaggaggagctgtgcacaccaggggcctggacttcgcctgcgac (서열 번호 17)

를 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩될 수 있다.

[0129] 본 발명은 본 발명의 CAR 및 적어도 하나의 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0130] 본 발명은 본 발명의 CAR을 포함하는 트랜스포존을 제공한다. 본 발명의 트랜스포존은 에피솜으로 유지되거나 재조합/변형된 세포의 게놈에 통합될 수 있다. 트랜스포존은 비바이러스 유전자 전달을 향상시키기 위해 트랜스포존 및 트랜스포사제를 이용하는 2가지 성분 피기백 시스템의 일부일 수 있다.

[0131] 본 발명의 트랜스포존은 트랜스포존을 발현하는 세포의 동정, 농축 및/또는 단리를 위한 선별 유전자를 포함할 수 있다. 예시적인 선별 유전자는 세포 생존능 및 생존에 필수적인 임의의 유전자 산물(예를 들어, 전사체, 단백질, 효소)을 코딩한다. 예시적인 선별 유전자는 선별 유전자에 의해 코딩된 유전자 산물의 부재하에서 세포가 민감한(또는 세포에 치명적일 수 있는) 약물 공격에 대한 내성을 부여하는데 필수적인 임의의 유전자 산물(예를 들어, 전사체, 단백질, 효소)을 코딩한다. 예시적인 선별 유전자는 선별 유전자의 부재하에서 세포 생존능 및/또는 생존에 필수적인 하나 이상의 영양소가 결여된 세포 배지에서 생존능 및/또는 생존에 필수적인 임의의 유전자 산물(예를 들어, 전사체, 단백질, 효소)을 코딩한다. 예시적인 선별 유전자는 *neo*(네오마이신에 대한 내성을 부여함), DHFR(디히드로폴레이트 리덕타아제를 코딩하며 메토트렉세이트에 대한 내성을 부여함), TYMS(티미딜레이트 신테타아제를 코딩함), MGMT(O(6)-메틸구아닌-DNA 메틸트랜스퍼라제를 코딩함), 다약제 내성 유전자(MDR1), ALDH1(알데히드 디히드로게나아제 1 패밀리, 구성원 A1), FRANCF, RAD51C(RAD51 파라로그 C를 코딩함), GCS(글루코실세라미드 신타아제를 코딩함), 및 NKX2.2(NK2 호메오박스(Homeobox) 2를 코딩함)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0132] 본 발명의 트랜스포존은, 예를 들어 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 서열과 본 발명의 선별 유전자 사이에 위치하는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드(들)를 포함할 수 있다. 적어도 하나의 자가 절단 펩티드는, 예를 들어 T2A 펩티드, GSG-T2A 펩티드, E2A 펩티드, GSG-E2A 펩티드, F2A 펩티드, GSG-F2A 펩티드, P2A 펩티드

또는 GSG-P2A 펩티드를 포함할 수 있다. T2A 펩티드는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 아미노산 서열 또는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggacca (서열 번호 20)를 포함하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. E2A 펩티드는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 아미노산 서열 또는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-E2A 펩티드는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. F2A 펩티드는 VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 아미노산 서열 또는 VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-F2A 펩티드는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. P2A 펩티드는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 아미노산 서열 또는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-P2A 펩티드는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다.

[0133] 본 발명의 트랜스포존은 제1 및 제2의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있으며, 제1 자가 절단 펩티드는, 예를 들어, 본 발명의 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 서열의 상류에 위치하며, 제2 자가 절단 펩티드는, 예를 들어, 본 발명의 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 서열의 하류에 위치한다. 제1 및/또는 제2 자가 절단 펩티드는, 예를 들어, T2A 펩티드, GSG-T2A 펩티드, E2A 펩티드, GSG-E2A 펩티드, F2A 펩티드, GSG-F2A 펩티드, P2A 펩티드, 또는 GSG-P2A 펩티드를 포함할 수 있다. T2A 펩티드는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 아미노산 서열 또는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggacca (서열 번호 20)를 포함하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. E2A 펩티드는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 아미노산 서열 또는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-E2A 펩티드는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. F2A 펩티드는 VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 아미노산 서열 또는 VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 아미노산

서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-F2A 펩티드는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. P2A 펩티드는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 아미노산 서열 또는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-P2A 펩티드는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다.

[0134] 본 발명은 본 발명의 트랜스포존을 포함하는 조성물을 제공한다. 특정 실시양태에서, 조성물을 도입하는 방법은 트랜스포사제 효소를 코딩하는 서열을 포함하는 플라스미드를 포함하는 조성물을 추가로 포함할 수 있다. 트랜스포사제 효소를 코딩하는 서열은 mRNA 서열일 수 있다.

[0135] 본 발명의 트랜스포존은 피기백 트랜스포존을 포함할 수 있다. 본 발명의 트랜스포사제 효소는 피기백 트랜스포사제 또는 컴패티블 효소를 포함할 수 있다.

[0136] 본 발명은 본 발명의 CAR을 포함하는 벡터를 제공한다. 특정 실시양태에서, 벡터는 바이러스 벡터이다. 벡터는 재조합 벡터일 수 있다.

[0137] 본 발명의 바이러스 벡터는 레트로바이러스, 렌티바이러스, 아데노바이러스, 아데노 관련 바이러스 또는 이들의 임의의 조합으로부터 단리 또는 유래된 서열을 포함할 수 있다. 바이러스 벡터는 아데노 관련 바이러스(AAV)로부터 단리 또는 유래된 서열을 포함할 수 있다. 바이러스 벡터는 재조합 AAV(rAAV)를 포함할 수 있다. 본 발명의 예시적인 아데노 관련 바이러스 및 재조합 아데노 관련 바이러스는 항원에 특이적으로 결합하는 하나 이상의 서열 옆에 시스로 위치하는 2개 이상의 역전된 말단 반복(ITR: inverted terminal repeat) 서열을 포함한다. 본 발명의 예시적인 아데노 관련 바이러스 및 재조합 아데노 관련 바이러스는 모든 혈청형(예를 들어, AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8 및 AAV9)을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 예시적인 아데노 관련 바이러스 및 재조합 아데노 관련 바이러스는 하나의 혈청형의 게놈 및 다른 혈청형의 캡시드(예를 들어, AAV2/5, AAV-DJ 및 AAV-DJ8)를 함유하는 AAV 혼성체 및 자가 상보적 AAV(scAAV)를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 예시적인 아데노 관련 바이러스 및 재조합 아데노 관련 바이러스는 rAAV-LK03을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0138] 본 발명의 바이러스 벡터는 선별 유전자를 포함할 수 있다. 선별 유전자는 세포 생존능 및 생존에 필수적인 유전자 산물을 코딩할 수 있다. 선별 유전자는 선택적 세포 배양 조건에 의해 공격받을 때 세포능 및 생존에 필수적인 유전자 산물을 코딩할 수 있다. 선택적 세포 배양 조건은 세포 생존능 또는 생존에 유해한 화합물을 포함할 수 있으며 여기서 유전자 산물은 화합물에 내성을 부여한다. 예시적인 선별 유전자는 *neo*(네오마이신에 대한 내성을 부여함), DHFR(디히드로폴레이트 리덕타아제를 코딩하며 메토트렉세이트에 대한 내성을 부여함), TYMS(티미딜레이트 신테타아제를 코딩함), MGMT(O(6)-메틸구아닌-DNA 메틸트랜스퍼라제를 코딩함), 다약제 내성 유전자(MDR1), ALDH1(알데히드 디히드로게나아제 1 패밀리, 구성원 A1), FRANCF, RAD51C(RAD51 파라로그 C를 코딩함), GCS(글루코실세라미드 신타아제를 코딩함), 및 NKX2.2(NK2 호메오박스 2를 코딩함), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0139] 본 발명의 바이러스 벡터는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 벡터는 적어도 하나의 절단 펩티드를 포함할 수 있으며 상기 자가 절단 펩티드는 CAR과 선별 유전자 사이에 위치한다. 일부 실시양태에서, 벡터는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있으며 여기서 제1 자가 절단 펩티드는 CAR의 상류에 위치하고 제2 자가 절단 펩티드는 CAR의 하류에 위치한다. 자가 절단 펩티드는, 예를 들어, T2A 펩티드, GSG-T2A 펩티드, E2A 펩티드, GSG-E2A 펩티드, F2A 펩티드, GSG-F2A 펩티드, P2A 펩티드, 또는 GSG-P2A 펩티드를 포함할 수 있다. T2A 펩티드는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 아미노산 서열 또는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 아

미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggacca (서열 번호 20)를 포함하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. E2A 펩티드는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 아미노산 서열 또는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-E2A 펩티드는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. F2A 펩티드는 VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 서열 또는VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-F2A 펩티드는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 서열 또는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. P2A 펩티드는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 아미노산 서열 또는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-P2A 펩티드는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 서열 또는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다.

[0140] 본 발명은 본 발명의 CAR을 포함하는 벡터를 제공한다. 특정 실시양태에서, 벡터는 mRNA 벡터이다. 벡터는 재조합 mRNA 벡터일 수 있다. 본 발명의 T 세포는 T 세포와 본 발명의 CAR을 포함하는 mRNA 벡터를 접촉시키기 전에 증식될 수 있다. 그런 후, mRNA 벡터를 포함하는 T 세포인 변형된 T 세포를 대상체에게 투여할 수 있다.

[0141] 본 발명은 본 발명의 CAR을 포함하는 벡터를 제공한다. 특정 실시양태에서, 벡터는 나노입자이다. 본 발명의 예시적인 나노입자 벡터는 핵산(예를 들어, RNA, DNA, 합성 뉴클레오티드, 변형된 뉴클레오티드 또는 이들의 임의의 조합), 아미노산(L-아미노산, D-아미노산, 합성 아미노산, 변형된 아미노산, 또는 이들의 임의의 조합), 중합체(예를 들어, 폴리머좀), 미셀, 지질(예를 들어, 리포솜), 유기 분자(예를 들어, 탄소 원자, 시트, 섬유, 튜브), 무기 분자(예를 들어, 인산칼슘 또는 금) 또는 이들의 임의의 조합을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 나노입자 벡터는 수동적으로 또는 능동적으로 세포막을 가로 질러 운반될 수 있다.

[0142] 본 발명의 나노입자는 선별 유전자를 포함할 수 있다. 선별 유전자는 세포 생존능 및 생존에 필수적인 유전자 산물을 코딩할 수 있다. 선별 유전자는 선택적 세포 배양 조건에 의해 공격받을 때 세포 생존능 및 생존에 필수적인 유전자 산물을 코딩할 수 있다. 선택적 세포 배양 조건은 세포 생존능 또는 생존에 유해한 화합물을 포함할 수 있으며 여기서 유전자 산물은 화합물에 내성을 부여한다. 예시적인 선별 유전자는 *neo*(네오마이신에 대한 내성을 부여함), DHFR(디히드로폴레이트 리덕타아제를 코딩하며 메토트렉세이트에 대한 내성을 부여함), TYMS(티미딜레이트 신테타아제를 코딩함), MGMT(O(6)-메틸구아닌-DNA 메틸트랜스퍼라제를 코딩함), 다약제 내성 유전자(MDR1), ALDH1(알데히드 디히드로게나아제 1 패밀리, 구성원 A1), FRANCF, RAD51C(RAD51 파라로그 C를 코딩함), GCS(글루코실세라미드 신타아제를 코딩함), 및 NKX2.2(NK2 호메오박스 2를 코딩함), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0143] 본 발명의 나노입자 벡터는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 나노입자 벡터는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있으며 여기서 자가 절단 펩티드는 CAR과 나노입자 사이에 위치한다. 일부 실시양태에서, 나노입자 벡터는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있으며 여기서 제1 자가 절단 펩티드는 CAR의 상류에 위치하고 제2 자가 절단 펩티드는 CAR의 하류에 위치한다. 일부 실시양태에서, 나노입자 벡터는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있으며 여기서 제1 자가 절단 펩티드는 CAR과 나노입자 사이에 위치하고 제2 자가 절단 펩티드는 CAR의 하류에 위치한다. 일부 실시양태에서, 나노입자 벡터는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있으며 여기서 제1 자가 절단 펩티드는 CAR과 나노입자 사이에 위치하고 제2 자가 절단 펩티드는 CAR의 하류, 예를 들어 CAR과 선별 유전자 사이에 위치한다. 자가 절단 펩티드는, 예를 들어, T2A 펩티드, GSG-T2A 펩티드, E2A 펩티드, GSG-E2A 펩티드, F2A 펩티드, GSG-F2A 펩티드,

P2A 펩티드, 또는 GSG-P2A 펩티드를 포함할 수 있다. T2A 펩티드는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 서열 또는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 서열 또는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggacca (서열 번호 20)를 포함하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. E2A 펩티드는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 서열 또는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-E2A 펩티드는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 서열 또는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. F2A 펩티드는 VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 서열 또는 VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-F2A 펩티드는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 서열 또는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. P2A 펩티드는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 서열 또는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-P2A 펩티드는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 서열 또는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다.

[0144] 본원은 본 발명의 벡터를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0145] *CARTyrin*

[0146] 본 발명은 (a) 적어도 하나의 Centyrin을 포함하는 항원 인식 영역을 포함하는 엑토도메인; (b) 막 횡단 도메인, 및 (c) 적어도 하나의 보조 자극 도메인을 포함하는 엔도도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체를 제공한다. 본 명세서 전체에 걸쳐 사용되는 바와 같이, Centyrin을 포함하는 CAR을 CARTyrin으로 지칭한다. 특정 실시양태에서, 항원 인식 영역은 이중 특이적 또는 일렬의 CAR을 생산하기 위해 2개의 Centyrin을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 항원 인식 영역은 3중 특이적 CAR을 생산하기 위해 3개의 Centyrin을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 엑토도메인은 신호 펩티드를 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 특정 실시양태에서, 엑토도메인은 항원 인식 영역과 막 횡단 도메인 사이에 힌지를 추가로 포함할 수 있다.

[0147] 본 발명은 (a) 적어도 하나의 단백질 스캐폴드 또는 항체 모방체를 포함하는 항원 인식 영역을 포함하는 엑토도메인; (b) 막 횡단 도메인 및 (c) 적어도 하나의 보조 자극 도메인을 포함하는 엔도도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다. 특정 실시양태에서, 항원 인식 영역은 이중 특이적 또는 일렬의 CAR을 생산하기 위해 2개의 스캐폴드 단백질 또는 항체 모방체를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 항원 인식 영역은 3중 특이적 CAR을 생산하기 위해 3개의 단백질 스캐폴드 또는 항체 모방체를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 엑토도메인은 신호 펩티드를 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 특정 실시양태에서, 엑토도메인은 항원 인식 영역과 막 횡단 도메인 사이에 힌지를 추가로 포함할 수 있다.

[0148] 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 신호 펩티드는 인간 CD2, CD3δ, CD3ε, CD3γ, CD3ζ, CD4, CD8α, CD19, CD28, 4-1BB 또는 GM-CSFR 신호 펩티드를 코딩하는 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 신호 펩티드는 인간 CD8α 신호 펩티드를 코딩하는 서열을 포함할 수 있다. 인간 CD8α 신호 펩티드는 MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호 8)를 포함하는 아미노산 서열을 포함할 수 있다. 인간 CD8α 신

호 펩티드는 MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 번호 8)를 포함하는 아미노산 서열 또는 MALPVTALLLPLALLLHAARP (서열 8)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99%의 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. 인간 CD8α 신호 펩티드는 atggcactgccagtcaccgccctgctgctgcctctggctctgctgctgcacgcagctagacca (서열 번호 9)를 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩될 수 있다.

[0149] 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 막 횡단 도메인은 인간 CD2, CD3δ, CD3ε, CD3γ, CD3ζ, CD4, CD8α, CD19, CD28, 4-1BB 또는 GM-CSFR 막 횡단 도메인을 코딩하는 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 막 횡단 도메인은 인간 CD8α 막 횡단 도메인을 코딩하는 서열을 포함할 수 있다. CD8α 막 횡단 도메인은 IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (서열 번호 10)를 포함하는 아미노산 서열 또는 IYIWAPLAGTCGVLLLSLVITLYC (서열 번호 10)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. CD8α 막 횡단 도메인은 atctacatttgggcaccactggccgggacctgtggagtgctgctgctgagcctggtcatcacactgtactgc (서열 번호 11)를 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩될 수 있다.

[0150] 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 엔도도메인은 인간 CD3ζ 엔도도메인을 포함할 수 있다.

[0151] 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 적어도 하나의 보조 자극 도메인은 인간 4-1BB, CD28, CD40, ICOS, MyD88, OX-40 세포 내 세그먼트 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 적어도 하나의 보조 자극 도메인은 CD28 및/또는 4-1BB 보조 자극 도메인을 포함할 수 있다. CD28 보조 자극 도메인은 RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQ EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP PR (서열 번호 12)을 포함하는 아미노산 서열 또는 RVKFSRSADAPAYKQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGGKPRRKNPQ EGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALP PR (서열 번호 12)을 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. CD28 보조 자극 도메인은 cgcgtgaagtttagtcgatcagcagatgccccagcttacaaacagggacagaaccagctgtataacgagctgaatctgggccgccga gaggaatatgacgtgctggataagcggagaggacgcgaccccgaaatgggaggcaagcccaggcgcaaaaaccctcaggaagg cctgtataacgagctgcagaaggacaaaatggcagaagcctattctgagatcggcatgaaggggagcgacggagaggcaaagg gcacgatgggctgtaccagggactgagcaccgccacaaaggacacctatgatgctctgcatatgcaggcactgcctccaagg (서열 번호 13)를 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩될 수 있다. 4-1BB 보조 자극 도메인은 KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호 14)을 포함하는 아미노산 서열 또는 KRGRKKLLYIFKQPFMRPVQTTQEEDGCSCRFPEEEEGGCEL (서열 번호 14)을 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. 4-1BB 보조 자극 도메인은 aagagaggcaggaagaaactgctgtatattttcaaacagcccttcatgcgccccgtgcagactacccaggaggaagacgggtgctcc tgtcgattccctgaggaagaggaaggcgggtgtgagctg (서열 번호 15)를 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩될 수 있다. 4-1BB 보조 자극 도메인은 막 횡단 도메인과 CD28 보조 자극 도메인 사이에 위치될 수 있다.

[0152] 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 힌지는 인간 CD8α, IgG4 및/또는 CD4 서열로부터 유래된 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의 CAR의 특정 실시양태에서, 힌지는 인간 CD8α 서열로부터 유도된 서열을 포함할 수 있다. 힌지는 TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD (서열 번호 16)를 포함하는 인간 CD8α 아미노산 서열 또는 TTTPAPRPPTPAPTIASQPLSLRPEACRPAAGGAVHTRGLDFACD (서열 번호 16)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다.

인간 CD8α 힌지 아미노산 서열은 actaccacaccagcacctagaccaccaactccagctccaaccatcgcgagtcagccccctgagtctgagacctgaggcctgcaggcc agctgcaggaggagctgtgcacaccaggggcctggacttcgcctgcgac (서열 번호 17)를 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩될 수 있다.

[0153] 본 발명의 Centyrin은 단백질 스캐폴드를 포함할 수 있으며, 상기 스캐폴드는 항원에 특이적으로 결합할 수 있다. 본 발명의 Centyrin은 적어도 하나의 피브로넥틴 III 형(FN3) 도메인의 컨센서스 서열을 포함하는 단백질 스캐폴드를 포함할 수 있으며, 상기 스캐폴드는 항원에 특이적으로 결합할 수 있다. 적어도 하나의 피브로넥틴 III 형(FN3) 도메인은 인간 단백질로부터 유래될 수 있다. 인간 단백질은 테나신-C 일 수 있다. 컨센서스 서열은 LPAPKNLVVSEVTEDSLRLSWTAPDAAFDSFLIQYQESEKVGEAINLTVPGSERSYDL TGLKPGTEYTVSIYGVKGGHRSNPLSAEFTT (서열 번호 1) 또는 MLPAPKNLVVSEVTEDSLRLSWTAPDAAFDSFLIQYQESEKVGEAINLTVPGSERSYD LTGLKPGTEYTVSIYGVKGGHRSNPLSAEFTT (서열 번호 2)를 포함할 수 있다. 컨센서스 서열은 atgctgcctgcaccaaagaacctggtggtgtctcatgtgacagaggatagtgccagactgtcatggactgctcccgacgcagccttcg atagttttatcatcgtgtaccgggagaacatcgaaaccggcgaggccattgtcctgacagtgccagggtccgaacgctcttatgacctg acagatctgaagcccggaactgagtactatgtgcagatcgccggcgtcaaaggaggcaatatcagcttccctctgtccgcaatcttcac caca (서열 번호 3)를 포함하는 핵산에 의해 코딩될 수 있다. 컨센서스 서열은 (a) 컨센서스 서열의 위치 13 내지 16에서 아미노산 잔기 TEDS를 포함하거나 이로 이루어진 A-B 루프; (b) 컨센서스 서열의 위치 22 내지 28에서 아미노산 잔기 TAPDAAF를 포함하거나 이로 이루어진 B-C 루프; (c) 컨센서스 서열의 위치 38 내지 43에서 아미노산 잔기 SEKVGE를 포함하거나 이로 이루어진 C-D 루프; (d) 컨센서스 서열의 위치 51 내지 54에서 아미노산 잔기 GSER를 포함하거나 이로 이루어진 D-E 루프; (e) 컨센서스 서열의 위치 60 내지 64에서 아미노산 잔기 GLKPG를 포함하거나 이로 이루어진 E-F 루프; (f) 컨센서스 서열의 위치 75 내지 81에서 아미노산 잔기 KGGHRSN을 포함하거나 이로 이루어진 F-G 루프; 또는 (g) (a) 내지 (f)의 임의의 조합 내에 하나 이상의 위치에서 변형될 수 있다. 본 발명의 Centyrin은 적어도 5개의 피브로넥틴 III 형(FN3) 도메인, 적어도 10개의 피브로넥틴 III 형(FN3) 도메인 또는 적어도 15개의 피브로넥틴 III 형(FN3) 도메인을 포함할 수 있다. 스캐폴드는 10^{-9}M 이하, 10^{-10}M 이하, 10^{-11}M 이하, 10^{-12}M 이하, 10^{-13}M 이하, 10^{-14}M 이하 및 10^{-15}M 이하의 K_D로부터 선택된 적어도 하나의 친화도로 항원에 결합할 수 있다. K_D는 표면 플라스몬 공명에 의해 결정될 수 있다.

[0154] 본 발명은 본 발명의 CAR 및 적어도 하나의 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0155] 본 발명은 본 발명의 CAR을 포함하는 트랜스포존을 제공한다. 본 발명의 트랜스포존은 에피솜으로 유지되거나 재조합/변형된 세포의 게놈에 통합될 수 있다. 트랜스포존은 비바이러스 유전자 전달을 향상시키기 위해 트랜스포존 및 트랜스포사제를 이용하는 2가지 성분 피기백 시스템의 일부일 수 있다.

[0156] 본 발명의 트랜스포존은 트랜스포존을 발현하는 세포의 동정, 농축 및/또는 단리를 위한 선별 유전자를 포함할 수 있다. 예시적인 선별 유전자는 세포 생존능 및 생존에 필수적인 임의의 유전자 산물(예를 들어, 전사체, 단백질, 효소)을 코딩한다. 예시적인 선별 유전자는 선별 유전자에 의해 코딩된 유전자 산물의 부재하에서 세포가 민감한(또는 세포에 치명적일 수 있는) 약물 공격에 대한 내성을 부여하는데 필수적인 임의의 유전자 산물(예를 들어, 전사체, 단백질, 효소)을 코딩한다. 예시적인 선별 유전자는 선별 유전자의 부재하에서 세포 생존능 및/또는 생존에 필수적인 하나 이상의 영양소가 결여된 세포 배지에서 생존능 및/또는 생존에 필수적인 임의의 유전자 산물(예를 들어, 전사체, 단백질, 효소)을 코딩한다. 예시적인 선별 유전자는 *neo*(네오마이신에 대한 내성을 부여함), DHFR(디히드로폴레이트 리덕타아제를 코딩하며 메토트렉세이트에 대한 내성을 부여함), TYMS(티미딜레이트 신테타아제를 코딩함), MGMT(O(6)-메틸구아닌-DNA 메틸트랜스퍼라제를 코딩함), 다약제 내성 유전자(MDR1), ALDH1(알데히드 디히드로게나아제 1 패밀리, 구성원 A1), FRANCF, RAD51C(RAD51 파라로그 C를 코딩함), GCS(글루코실세라미드 신타아제를 코딩함), 및 NKX2.2(NK2 호메오박스 2를 코딩함)를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0157] 본 발명의 트랜스포존은, 예를 들어 하나 이상의 단백질 스캐폴드, 본 발명의 센트린 또는 CARTyrin과 본 발명의 선별 유전자 사이에 위치하는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드(들)를 포함할 수 있다. 적어도 하나의 자가 절단 펩티드는, 예를 들어 T2A 펩티드, GSG-T2A 펩티드, E2A 펩티드, GSG-E2A 펩티드, F2A 펩티드, GSG-F2A 펩티드, P2A 펩티드 또는 GSG-P2A 펩티드를 포함할 수 있다. T2A 펩티드는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 아미노산 서열 또는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggacca (서열 번호 20)를 포함하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. E2A 펩티드는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 아미노산 서열 또는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-E2A 펩티드는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. F2A 펩티드는 VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 아미노산 서열 또는 VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-F2A 펩티드는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. P2A 펩티드는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 아미노산 서열 또는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-P2A 펩티드는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다.

[0158] 본 발명의 트랜스포존은 제1 및 제2의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있으며, 제1 자가 절단 펩티드는, 예를 들어, 하나 이상의 단백질 스캐폴드, 본 발명의 센트린 또는 CARTyrin의 상류에 위치하며, 제2 자가 절단 펩티드는, 예를 들어, 하나 이상의 단백질 스캐폴드, 본 발명의 센트린 또는 CARTyrin의 서열의 하류에 위치한다. 제1 및/또는 제2 자가 절단 펩티드는, 예를 들어, T2A 펩티드, GSG-T2A 펩티드, E2A 펩티드, GSG-E2A 펩티드, F2A 펩티드, GSG-F2A 펩티드, P2A 펩티드, 또는 GSG-P2A 펩티드를 포함할 수 있다. T2A 펩티드는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 아미노산 서열 또는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggacca (서열 번호 20)를 포함하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. E2A 펩티드는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 아미노산 서열 또는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-E2A 펩티드는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95%

또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. F2A 펩티드는 VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 아미노산 서열 또는 VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-F2A 펩티드는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. P2A 펩티드는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 아미노산 서열 또는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-P2A 펩티드는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다.

[0159] 본 발명은 본 발명의 트랜스포존을 포함하는 조성물을 제공한다. 특정 실시양태에서, 조성물을 도입하는 방법은 트랜스포사제 효소를 코딩하는 서열을 포함하는 플라스미드를 포함하는 조성물을 추가로 포함할 수 있다. 트랜스포사제 효소를 코딩하는 서열은 mRNA 서열일 수 있다.

[0160] 본 발명의 트랜스포존은 피기백 트랜스포존을 포함할 수 있다. 본 발명의 트랜스포사제 효소는 피기백 트랜스포사제 또는 컴패티블 효소를 포함할 수 있다.

[0161] 본 발명은 본 발명의 CAR을 포함하는 벡터를 제공한다. 특정 실시양태에서, 벡터는 바이러스 벡터이다. 벡터는 재조합 벡터일 수 있다.

[0162] 본 발명의 바이러스 벡터는 레트로바이러스, 렌티바이러스, 아데노바이러스, 아데노 관련 바이러스 또는 이들의 임의의 조합으로부터 단리 또는 유래된 서열을 포함할 수 있다. 바이러스 벡터는 아데노 관련 바이러스(AAV)로부터 단리 또는 유래된 서열을 포함할 수 있다. 바이러스 벡터는 재조합 AAV(rAAV)를 포함할 수 있다. 본 발명의 예시적인 아데노 관련 바이러스 및 재조합 아데노 관련 바이러스는 단백질 스캐폴드, 본 발명의 센트린 또는 CARTyrin을 코딩하는 서열 옆에 시스로 위치하는 2개 이상의 역전된 말단 반복(ITR) 서열을 포함한다. 본 발명의 예시적인 아데노 관련 바이러스 및 재조합 아데노 관련 바이러스는 모든 혈청형(예를 들어, AAV1, AAV2, AAV3, AAV4, AAV5, AAV6, AAV7, AAV8 및 AAV9)을 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 예시적인 아데노 관련 바이러스 및 재조합 아데노 관련 바이러스는 하나의 혈청형의 게놈 및 다른 혈청형의 캡시드(예를 들어, AAV2/5, AAV-DJ 및 AAV-DJ8)를 함유하는 AAV 혼성체 및 자가 상보적 AAV(scAAV)를 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다. 본 발명의 예시적인 아데노 관련 바이러스 및 재조합 아데노 관련 바이러스는 rAAV-LK03을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0163] 본 발명의 바이러스 벡터는 선별 유전자를 포함할 수 있다. 선별 유전자는 세포 생존능 및 생존에 필수적인 유전자 산물을 코딩할 수 있다. 선별 유전자는 선택적 세포 배양 조건에 의해 공격받을 때 세포 생존능 및 생존에 필수적인 유전자 산물을 코딩할 수 있다. 선택적 세포 배양 조건은 세포 생존능 또는 생존에 유해한 화합물을 포함할 수 있으며 여기서 유전자 산물은 화합물에 내성을 부여한다. 예시적인 선별 유전자는 *neo*(네오마이신에 대한 내성을 부여함), DHFR(디히드로폴레이트 리덕타아제를 코딩하며 메토트렉세이트에 대한 내성을 부여함), TYMS(티미딜레이트 신테타아제를 코딩함), MGMT(O(6)-메틸구아닌-DNA 메틸트랜스퍼라제를 코딩함), 다약제 내성 유전자(MDR1), ALDH1(알데히드 디히드로게나아제 1 패밀리, 구성원 A1), FRANCF, RAD51C(RAD51 파라로그 C를 코딩함), GCS(글루코실세라미드 신타아제를 코딩함), 및 NKX2.2(NK2 호메오박스 2를 코딩함), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0164] 본 발명의 바이러스 벡터는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 벡터는 적어도 하나의 절단 펩티드를 포함할 수 있으며 상기 자가 절단 펩티드는 CAR과 선별 유전자 사이에 위치한다. 일부 실시양태에서, 벡터는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있으며 여기서 제1 자가 절단 펩티드는 CAR의 상류에 위치하고 제2 자가 절단 펩티드는 CAR의 하류에 위치한다. 자가 절단 펩티드는, 예를 들어, T2A 펩티드, GSG-T2A 펩티드, E2A 펩티드, GSG-E2A 펩티드, F2A 펩티드, GSG-F2A 펩티드, P2A 펩티드, 또는 GSG-P2A 펩티드를 포함할 수 있다. T2A 펩티드는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 아미노산 서열 또는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%,

95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggacca (서열 번호 20)를 포함하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. E2A 펩티드는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 아미노산 서열 또는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-E2A 펩티드는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 아미노산 서열 또는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. F2A 펩티드는 VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 서열 또는VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-F2A 펩티드는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 서열 또는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. P2A 펩티드는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 아미노산 서열 또는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-P2A 펩티드는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 서열 또는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다.

[0165] 본 발명은 본 발명의 CAR을 포함하는 벡터를 제공한다. 특정 실시양태에서, 벡터는 mRNA 벡터이다. 벡터는 재조합 mRNA 벡터일 수 있다. 본 발명의 T 세포는 T 세포와 본 발명의 CAR을 포함하는 mRNA 벡터를 접촉시키기 전에 증식될 수 있다. 그런 후, mRNA 벡터를 포함하는 T 세포인 변형된 T 세포를 대상체에게 투여할 수 있다.

[0166] 본 발명은 본 발명의 CAR을 포함하는 벡터를 제공한다. 특정 실시양태에서, 벡터는 나노입자이다. 본 발명의 예시적인 나노입자 벡터는 핵산(예를 들어, RNA, DNA, 합성 뉴클레오티드, 변형된 뉴클레오티드 또는 이들의 임의의 조합), 아미노산(L-아미노산, D-아미노산, 합성 아미노산, 변형된 아미노산, 또는 이들의 임의의 조합), 중합체(예를 들어, 폴리머좀), 미셀, 지질(예를 들어, 리포솜), 유기 분자(예를 들어, 탄소 원자, 시트, 섬유, 튜브), 무기 분자(예를 들어, 인산칼슘 또는 금) 또는 이들의 임의의 조합을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 나노입자 벡터는 수동적으로 또는 능동적으로 세포막을 가로 질러 운반될 수 있다.

[0167] 본 발명의 나노입자는 선별 유전자를 포함할 수 있다. 선별 유전자는 세포 생존능 및 생존에 필수적인 유전자 산물을 코딩할 수 있다. 선별 유전자는 선택적 세포 배양 조건에 의해 공격받을 때 세포 생존능 및 생존에 필수적인 유전자 산물을 코딩할 수 있다. 선택적 세포 배양 조건은 세포 생존능 또는 생존에 유해한 화합물을 포함할 수 있으며 여기서 유전자 산물은 화합물에 내성을 부여한다. 예시적인 선별 유전자는 *neo*(네오마이신에 대한 내성을 부여함), DHFR(디히드로폴레이트 리덕타아제를 코딩하며 메토트렉세이트에 대한 내성을 부여함), TYMS(티미딜레이트 신테타아제를 코딩함), MGMT(O(6)-메틸구아닌-DNA 메틸트랜스퍼라제를 코딩함), 다약제 내성 유전자(MDR1), ALDH1(알데히드 디히드로게나아제 1 패밀리, 구성원 A1), FRANCF, RAD51C(RAD51 파라로그 C를 코딩함), GCS(글루코실세라미드 신타아제를 코딩함), 및 NKX2.2(NK2 호메오박스 2를 코딩함), 또는 이들의 임의의 조합을 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0168] 본 발명의 나노입자 벡터는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있다. 일부 실시양태에서, 나노입자 벡터는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있으며 여기서 자가 절단 펩티드는 CAR과 나노입자 사이에 위치한다. 일부 실시양태에서, 나노입자 벡터는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있으며 여기서 제1 자가 절단 펩티드는 CAR의 상류에 위치하고 제2 자가 절단 펩티드는 CAR의 하류에 위치한다. 일부 실시양태에서, 나노입자 벡터는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있으며 여기서 제1 자가 절단 펩티드는 CAR과 나노입자 사이에 위치하고 제2 자가 절단 펩티드는 CAR의 하류에 위치한다. 일부 실시양태에서, 나노입자 벡

터는 적어도 하나의 자가 절단 펩티드를 포함할 수 있으며 여기서 제1 자가 절단 펩티드는 CAR과 나노입자 사이에 위치하고 제2 자가 절단 펩티드는 CAR의 하류, 예를 들어 CAR과 선별 유전자 사이에 위치한다. 자가 절단 펩티드는, 예를 들어, T2A 펩티드, GSG-T2A 펩티드, E2A 펩티드, GSG-E2A 펩티드, F2A 펩티드, GSG-F2A 펩티드, P2A 펩티드, 또는 GSG-P2A 펩티드를 포함할 수 있다. T2A 펩티드는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 서열 또는 EGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 18)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 서열 또는 GSGEGRGSLLTCGDVEENPGP (서열 번호 19)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-T2A 펩티드는 ggatctggagagggaaggggaagcctgctgacctgtggagacgtggaggaaaacccaggacca (서열 번호 20)를 포함하는 핵산 서열을 포함할 수 있다. E2A 펩티드는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 서열 또는 QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 21)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-E2A 펩티드는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 서열 또는 GSGQCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호 22)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. F2A 펩티드는 VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 서열 또는 VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 23)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-F2A 펩티드는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 서열 또는 GSGVKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호 24)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. P2A 펩티드는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 서열 또는 ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 25)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다. GSG-P2A 펩티드는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 서열 또는 GSGATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호 26)를 포함하는 아미노산 서열과 적어도 70%, 80%, 90%, 95% 또는 99% 동일성을 갖는 서열을 포함할 수 있다.

[0169] 본원은 본 발명의 벡터를 포함하는 조성물을 제공한다.

[0170] ***스캐폴드 단백질***

[0171] Centyrin은 본 발명의 단백질 스캐폴드의 한 예이다. 본 발명의 CAR의 항원 인식 영역은 적어도 하나의 단백질 스캐폴드를 포함할 수 있다.

[0172] 본 발명의 단백질 스캐폴드는 피브로넥틴 III 형(FN3) 반복 단백질, 코딩 또는 상보적인 핵산, 벡터, 숙주 세포, 조성물, 조합물, 제제, 장치 및 이들의 제조 및 사용 방법으로부터 유래될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 단백질 스캐폴드는 인간 테나신-C(이하, "테나신")의 다중 FN3 도메인의 컨센서스 서열로 구성된다. 추가의 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 단백질 스캐폴드는 15FN3 도메인의 컨센서스 서열이다. 본 발명의 단백질 스캐폴드는 다양한 분자, 예를 들어 세포 표적 단백질에 결합하도록 설계될 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 단백질 스캐폴드는 항원의 야생형 및/또는 변이체 형태의 에피토프에 결합하도록 설계될 수 있다.

[0173] 본 발명의 단백질 스캐폴드는 추가적인 분자 또는 모이어티, 예를 들어 항체의 Fc 영역, 알부민 결합 도메인 또는 반감기에 영향을 미치는 다른 모이어티를 포함할 수 있다. 추가의 실시양태에서, 본 발명의 단백질 스캐폴드는 단백질 스캐폴드를 코딩할 수 있는 핵산 분자에 결합될 수 있다.

[0174] 본 발명은 숙주 세포에서 다중 FN3 도메인의 컨센서스 서열에 기초하여 적어도 하나의 단백질 스캐폴드를 발현시키는 적어도 하나의 방법으로서, 적어도 하나의 단백질 스캐폴드가 검출 가능하고/거나 회수 가능한 양으로 발현되는 조건하에 본원에 기재된 바와 같은 숙주 세포를 배양하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0175] 본 발명은 (a) 다중 FN3 도메인의 컨센서스 서열 및/또는 본원에 기재된 바와 같은 코딩 핵산에 기초한 단백질

스캐폴드; 및 (b) 적합하고/거나 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 희석제를 포함하는 적어도 하나의 조성물을 제공한다.

[0176] 본 발명은 피브로넥틴 III 형(FN3) 반복 단백질, 바람직하게는 다중 FN3 도메인의 컨센서스 서열, 더 바람직하게는 인간 테나신으로부터의 다중 FN3 도메인의 컨센서스 서열에 기초한 단백질 스캐폴드의 라이브러리를 생성하는 방법을 제공한다. 라이브러리는 스캐폴드의 일부분, 예를 들어 루프 영역의 특정 위치에서 분자 내의 아미노산 또는 아미노산의 수를 (돌연변이에 의해) 변경하여 스캐폴드를 연속 생성함으로써 형성된다. 라이브러리는 단일 루프의 아미노산 조성을 변경함으로써 또는 다수의 루프 또는 스캐폴드 분자의 추가 위치를 동시에 변경함으로써 생성될 수 있다. 변경된 루프는 이에 따라 길어지거나 짧아질 수 있다. 이러한 라이브러리는 각 위치에서 가능한 모든 아미노산 또는 설계된 서브세트의 아미노산을 포함하도록 생성될 수 있다. 라이브러리 구성원은 시험관 내 또는 CIS 디스플레이(DNA, RNA, 리보솜 디스플레이 등), 효모, 세균 및 파지 디스플레이와 같은 디스플레이로 스크리닝하는 데 사용될 수 있다.

[0177] 본 발명의 단백질 스캐폴드는 환원 조건 하에서의 안정성 및 고농도에서의 용해도와 같은 향상된 생물물리학적 특성을 제공하며; 이들은 이. 콜라이(*E. coli*)와 같은 원핵생물 시스템, 효모와 같은 진핵생물 시스템 및 토끼 망상 적혈구 용해물 시스템과 같은 시험관 내 전사/번역 시스템에서 발현되고 폴딩될 수 있다.

[0178] 본 발명은 제한 없이 포유동물 유래 스캐폴드를 포함하는 피브로넥틴 III형(FN3)의 컨센서스 서열에 기초한 단리된 재조합 및/또는 합성 단백질 스캐폴드뿐 아니라 컨센서스 FN3 서열에 기초한 단백질 스캐폴드를 코딩하는 적어도 하나의 폴리뉴클레오티드를 포함하는 조성물 및 코딩 핵산 분자를 제공한다. 본 발명은 진단 및 치료 조성물, 방법 및 장치를 포함하여, 상기 핵산 및 단백질 스캐폴드의 제조 및 사용 방법을 추가로 포함하지만, 이에 제한되지는 않는다.

[0179] 본 발명의 단백질 스캐폴드는 국소, 경구로 또는 혈액-뇌 장벽을 통과하여 투여되는 능력, 포유동물 세포 발현 능력에 비해 자원의 기능으로서 단백질의 증가된 발현을 위해 다중 표적 또는 동일한 표적의 다중 에피토프에 결합하는 이중 특이적 또는 일렬의 분자로 조작되도록 허용하는 이. 콜라이에서 발현하는 능력, 약물, 중합체, 및 프로브에 접합될 수 있는 능력, 고농도로 제제화될 수 있는 능력, 및 질환 조직 및 종양에 효과적으로 침투하는 상기 분자의 능력과 같이, 종래의 치료법에 대한 이점을 제공한다.

[0180] 또한, 단백질 스캐폴드는 항체의 가변 영역을 모방하는 폴드와 관련한 항체의 많은 특성을 갖는다. 이 배향은 FN3 루프가 항체 상보성 결정 영역(CDR: complementarity determining region)과 유사하게 노출되도록 할 수 있다. 이들은 세포 표적에 결합할 수 있어야 하고, 특정 결합 또는 관련 특성을 개선하기 위해, 루프는 변경, 예를 들어, 친화도 성숙될 수 있다.

[0181] 본 발명의 단백질 스캐폴드의 6개의 루프 중 3개는 위상적으로 항체의 상보성 결정 영역(CDR 1 내지 3), 즉 항원 결합 영역에 해당하는 한편, 나머지 3개의 루프는 항체 CDR과 유사한 방식으로 표면에 노출된다. 이들 루프는 서열 번호 1의 잔기 13 내지 16, 22 내지 28, 38 내지 43, 51 내지 54, 60 내지 64 및 75 내지 81에 또는 대략 이들 잔기에 걸쳐있다. 바람직하게는, 잔기 22 내지 28, 51 내지 54 및 75 내지 81에서 또는 대략 이들 잔기에서 루프 영역은 결합 특이성 및 친화도를 위해 변경된다. 하나 이상의 이들 루프 영역은 골격 부분으로서 그의 서열을 유지하는 다른 루프 영역 및/또는 다른 가닥과 무작위 배정되어 라이브러리를 형성하고, 특정 단백질 표적에 대해 높은 친화도를 갖는 라이브러리로부터 강력한 결합체를 선택할 수 있다. 하나 이상의 루프 영역은 단백질과 항체 CDR 상호 작용과 유사하게 표적 단백질과 상호 작용할 수 있다.

[0182] 본 발명의 스캐폴드는 단쇄 항체(예를 들어, scFv)를 포함할 수 있다. 본 발명의 단쇄 항체는 항체의 3개의 경쇄 및 3개의 중쇄 CDR을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 단쇄 항체는 항체의 3개의 경쇄 및 3개의 중쇄 CDR을 포함하며, 상기 단쇄 항체의 상보성 결정 영역(CDR)은 인간 서열이다. 본 발명은 (a) 적어도 하나의 단쇄 항체(예를 들어, scFv)를 포함하는 항원 인식 영역을 포함하는 엑토도메인; (b) 막 횡단 도메인, 및 (c) 적어도 하나의 보조 자극 도메인을 포함하는 엔도도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다. 특정 실시양태에서, 항원 인식 영역은 이중 특이적 또는 일렬의 CAR을 생산하기 위해 2개의 단쇄 항체(예를 들어, 2개의 scFv)를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 항원 인식 영역은 3중 특이적 CAR을 생산하기 위해 3개의 단쇄 항체(예를 들어, 3개의 scFv)를 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 엑토도메인은 신호 펩티드를 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 특정 실시양태에서, 엑토도메인은 항원 인식 영역과 막 횡단 도메인 사이에 힌지를 추가로 포함할 수 있다.

[0183] 본 발명의 스캐폴드는 항체의 하나 이상의 단편(예를 들어, VHH)을 포함하는 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의

항체의 하나 이상의 단편을 포함하는 서열은 항체의 2개의 중쇄 가변 영역을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 서열은 항체의 2개의 중쇄 가변 영역을 포함하며, 상기 VHH의 상보성 결정 영역(CDR)은 인간 서열이다. 본 발명의 스캐폴드는 항체의 하나 이상의 단편(예를 들어, VHH)을 포함하는 서열을 포함할 수 있다. 본 발명은 (a) 항체의 하나 이상의 단편(예를 들어, VHH)을 포함하는 적어도 하나의 서열을 포함하는 항원 인식 영역을 포함하는 엑토도메인; (b) 막 횡단 도메인, 및 (c) 적어도 하나의 보조 자극 도메인을 포함하는 엔도도메인을 포함하는 키메라 항원 수용체(CAR)를 제공한다. 특정 실시양태에서, 항원 인식 영역은 이중 특이적 또는 일련의 CAR을 생산하기 위해 항체의 하나 이상의 단편(예를 들어, 2개의 VHH)을 포함하는 2개의 서열을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 항원 인식 영역은 3중 특이적 CAR을 생산하기 위해 항체의 하나 이상의 단편(예를 들어, 3개의 VHH)을 포함하는 3개의 서열을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 엑토도메인은 신호 펩티드를 추가로 포함할 수 있다. 대안적으로, 또는 부가적으로, 특정 실시양태에서, 엑토도메인은 항원 인식 영역과 막 횡단 도메인 사이에 힌지를 추가로 포함할 수 있다.

[0184] 본 발명의 스캐폴드는 항체 모방체를 포함할 수 있다.

[0185] 용어 "항체 모방체"는 표적 서열에 특이적으로 결합하고 자연 발생 항체와는 다른 구조를 갖는 유기 화합물을 기재함을 의미한다. 항체 모방체는 단백질, 핵산 또는 소분자를 포함할 수 있다. 본 발명의 항체 모방체가 특이적으로 결합하는 표적 서열은 항원일 수 있다. 항체 모방체는 우수한 용해도, 조직 침투력, 열과 효소에 대한 안정성(예를 들어, 효소 분해에 대한 내성) 및 낮은 생산 비용을 포함하지만 이에 제한되지 않는 항체보다 우수한 특성을 제공할 수 있다. 예시적인 항체 모방체는 애피바디, 애필린, 애피머, 애피틴, 알파바디, 안티칼린, 및 아비머(결합 활성(avidity) 다량체로도 공지됨), DARPin(Designed Ankyrin Repeat Protein: 설계된 안키린 반복 단백질), 피노머(Fynomer), 쿠니츠(Kunitz) 도메인 펩티드, 및 모노바디를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0186] 본 발명의 애피바디 분자는 디설피드 다리를 전혀 갖지 않는 하나 이상의 알파 나선을 포함하거나 이로 이루어진 단백질 스캐폴드를 포함한다. 바람직하게는, 본 발명의 애피바디 분자는 3개의 알파 나선을 포함하거나 이들로 이루어진다. 예를 들어, 본 발명의 애피바디 분자는 면역글로불린 결합 도메인을 포함할 수 있다. 본 발명의 애피바디 분자는 단백질 A의 Z 도메인을 포함할 수 있다.

[0187] 본 발명의 애필린 분자는 예를 들어 감마-B 크리스탈린 또는 유비퀴틴의 노출된 아미노산의 변형에 의해 생산된 단백질 스캐폴드를 포함한다. 애필린 분자는 기능적으로 항원에 대한 항체의 친화도를 모방하지만, 구조적으로 항체를 모방하지는 않는다. 애필린을 만드는 데 사용되는 임의의 단백질 스캐폴드에서, 적절하게 폴딩된 단백질 분자에서 용매 또는 가능한 결합 파트너에 접근 가능한 아미노산은 노출된 아미노산으로 간주한다. 이들 노출된 아미노산 중 임의의 하나 이상은 표적 서열 또는 항원에 특이적으로 결합하도록 변형될 수 있다.

[0188] 본 발명의 애피머 분자는 특정 표적 서열에 대한 고친화도 결합 부위를 제공하는 펩티드 루프를 나타내도록 조작된 고도로 안정한 단백질을 포함하는 단백질 스캐폴드를 포함한다. 본 발명의 예시적인 애피머 분자는 시스타틴 단백질 또는 이의 3차 구조를 기본으로 하는 단백질 스캐폴드를 포함한다. 본 발명의 예시적인 애피머 분자는 역 평행 베타-시트 상부에 놓인 알파-나선을 포함하는 공통의 3차 구조를 공유할 수 있다.

[0189] 본 발명의 애피틴 분자는 인공 단백질 스캐폴드를 포함하며, 그 구조는 예를 들어 DNA 결합 단백질(예를 들어, DNA 결합 단백질 Sac7d)로부터 유래될 수 있다. 본 발명의 애피틴은 항원의 전체 또는 일부일 수 있는 표적 서열에 선택적으로 결합한다. 본 발명의 예시적인 애피틴은 DNA 결합 단백질의 결합 표면상의 하나 이상의 아미노산 서열을 무작위 배정하고 그 결과 단백질을 리보솜 디스플레이 및 선별을 적용함으로써 제조된다. 본 발명의 애피틴의 표적 서열은 예를 들어 게놈에서 또는 펩티드, 단백질, 바이러스 또는 박테리아의 표면에서 발견될 수 있다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 애피틴 분자는 효소의 특이적 억제제로서 사용될 수 있다. 본 발명의 애피틴 분자는 내열성 단백질 또는 이의 유도체를 포함할 수 있다.

[0190] 본 발명의 알파바디 분자는 또한 세포 침투성 알파 바디(CPAB: Cell-Penetrating Alphabody)로 지칭될 수 있다. 본 발명의 알파바디 분자는 다양한 표적 서열(항원을 포함함)에 결합하는 작은 단백질(전형적으로 10 kDa 미만)을 포함한다. 알파바디 분자는 세포 내 표적 서열에 도달하고 결합할 수 있다. 구조적으로, 본 발명의 알파바디 분자는 단쇄 α 나선(자연 발생 코일형 코일(coiled-coil) 구조와 유사함)을 형성하는 인공 서열을 포함한다. 본 발명의 알파바디 분자는 표적 단백질에 특이적으로 결합하도록 변형된 하나 이상의 아미노산을 포함하는 단백질 스캐폴드를 포함할 수 있다. 분자의 결합 특이성에 관계없이, 본 발명의 알파바디 분자는 정확한 폴딩 및 열 안정성을 유지한다.

[0191] 본 발명의 안티칼린 분자는 단백질 또는 소분자의 표적 서열 또는 부위에 결합하는 인공 단백질을 포함한다. 본 발명의 안티칼린 분자는 인간 리포칼린으로부터 유래된 인공 단백질을 포함할 수 있다. 본 발명의 안티칼린 분자는 예를 들어 단클론 항체 또는 이의 단편 대신에 사용될 수 있다. 안티칼린 분자는 단클론 항체 또는 이의 단편보다 우수한 조직 침투 및 열 안정성을 나타낼 수 있다. 본 발명의 예시적인 안티칼린 분자는 약 20 kDa의 질량을 갖는 약 180개의 아미노산을 포함할 수 있다. 구조적으로, 본 발명의 안티칼린 분자는 루프 및 부착된 알파 나선에 의해 쌍으로 연결된 역 평행 β-가닥을 포함하는 배럴 구조를 포함한다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 안티칼린 분자는 루프 및 부착된 알파 나선에 의해 쌍으로 연결된 8개의 역 평행 β-가닥을 포함하는 배럴 구조를 포함한다.

[0192] 본 발명의 아비머 분자는 표적 서열(항원일 수도 있음)에 특이적으로 결합하는 인공 단백질을 포함한다. 본 발명의 아비머는 동일한 표적 내에 또는 별개의 표적들 내의 여러 결합 부위를 인식할 수 있다. 본 발명의 아비머가 하나 초과의 표적을 인식할 때, 아비머는 이중 특이적 항체의 기능을 모방한다. 인공 단백질 아비머는 각각 약 30 내지 35개 아미노산의 2개 이상의 펩티드 서열을 포함할 수 있다. 이들 펩티드는 하나 이상의 링커 펩티드를 통해 연결될 수 있다. 아비머의 하나 이상의 펩티드의 아미노산 서열은 막 수용체의 A 도메인으로부터 유래될 수 있다. 아비머는 경우에 따라 디설피드 결합 및/또는 칼슘을 포함할 수 있는 견고한 구조를 갖는다. 본 발명의 아비머는 항체와 비교하여 더 우수한 열 안정성을 나타낼 수 있다.

[0193] 본 발명의 DARPin(설계된 안키린 반복 단백질)은 표적 서열에 대해 높은 특이성 및 높은 친화도를 갖는 유전자 조작된, 재조합 또는 키메라 단백질을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 DARPin은 안키린 단백질로부터 유래되고, 경우에 따라, 안키린 단백질의 적어도 3개의 반복 모티프(반복적인 구조 단위로도 지칭됨)를 포함한다. 안키린 단백질은 고친화도 단백질-단백질 상호 작용을 매개한다. 본 발명의 DARPin은 큰 표적 상호 작용 표면을 포함한다.

[0194] 본 발명의 피노머는 인간 Fyn SH3 도메인으로부터 유래된 작은 결합 단백질(약 7 kDa)을 포함하고 항체와 동일한 친화도 및 동일한 특이성으로 표적 서열 및 분자에 결합하도록 조작된다.

[0195] 본 발명의 쿠니츠 도메인 펩티드는 쿠니츠 도메인을 포함하는 단백질 스캐폴드를 포함한다. 쿠니츠 도메인은 프로테아제 활성을 억제하기 위한 활성 부위를 포함한다. 구조적으로, 본 발명의 쿠니츠 도메인은 디설피드가 풍부한 알파+베타 폴드를 포함한다. 이 구조는 소 췌장 트립신 억제제에 의해 예시된다. 쿠니츠 도메인 펩티드는 특정 단백질 구조를 인식하고 경쟁적인 프로테아제 억제제로서 역할을 한다. 본 발명의 쿠니츠 도메인은 에칼란티드(인간 지방 단백질 관련 응고 억제제(LACI: lipoprotein-associated coagulation inhibitor)로부터 유래됨)를 포함할 수 있다.

[0196] 본 발명의 모노바디는 단쇄 항체와 크기가 유사한 작은 단백질(약 94개 아미노산을 포함하고 약 10 kDa의 질량을 가짐)이다. 이 유전적으로 조작된 단백질은 항원을 포함한 표적 서열에 특이적으로 결합한다. 본 발명의 모노바디는 하나 이상의 독특한 단백질 또는 표적 서열을 특이적으로 표적화할 수 있다. 바람직한 실시양태에서, 본 발명의 모노바디는 인간 피브로넥틴의 구조를 모방하는 단백질 스캐폴드, 더 바람직하게는 피브로넥틴의 10번째 세포 외 III형 도메인의 구조를 모방하는 단백질 스캐폴드를 포함한다. 피브로넥틴의 10번째 세포 외 III형 도메인 및 이의 모노바디 모방체는 배럴을 형성하는 7개의 베타 시트 및 항체의 3개의 상보성 결정 영역(CDR)에 상응하는 각각의 측면에 노출된 3개의 루프를 포함한다. 항체의 가변 도메인의 구조와는 대조적으로, 모노바디는 중앙 디설피드 결합뿐만 아니라 금속 이온에 대한 결합 부위가 전혀 없다. 다중 특이적 모노바디는 루프 BC 및 FG를 변형시킴으로써 최적화될 수 있다. 본 발명의 모노바디는 아드넥틴을 포함할 수 있다.

[0197] ***스캐폴드 단백질의 생산 및 생성***

[0198] 본 발명의 적어도 하나의 스캐폴드 단백질은 당 업계에 잘 공지된 바와 같이, 경우에 따라 세포주, 혼합 세포주, 불멸화 세포 또는 불멸화 세포의 클론 집단에 의해 생성될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Ausubel, et al., ed., Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, Inc., NY, N.Y. (1987-2001); Sambrook, et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989); Harlow and Lane, Antibodies, a Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, N.Y. (1989); Colligan, et al., eds., Current Protocols in Immunology, John Wiley & Sons, Inc., NY (1994-2001); Colligan et al., Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, N.Y., (1997-2001)]을 참조한다.

[0199] 스캐폴드 단백질로부터의 아미노산은 면역원성을 감소시키거나 결합 친화도, 온-레이트, 오프-레이트, 결합력, 특이성, 반감기, 안정성, 용해도 또는 임의의 다른 적절한 특성을 감소, 향상 또는 변형시키기 위해 변경, 첨가

및/또는 결실될 수 있다.

[0200] 경우에 따라, 스캐폴드 단백질은 항원에 대한 고친화도 및 다른 유리한 생물학적 특성을 유지하면서 조작될 수 있다. 이 목표를 달성하기 위해, 스캐폴드 단백질은 경우에 따라 부모 서열 및 조작된 서열의 3차원 모델을 사용하여 부모 서열 및 다양한 개념의 조작된 산물의 분석 공정에 의해 제조될 수 있다. 3차원 모델은 일반적으로 이용 가능하며 당업자에게는 익숙하다. 선택된 후보 서열의 가능한 3차원 입체형태 구조를 예시하고 디스플레이하고 가능한 면역원성을 측정할 수 있는 컴퓨터 프로그램을 이용할 수 있다(예를 들어, 캘리포니아주 몬로비아 소재의 젠코(Xencor, Inc.)의 이뮤노필터(Immunofilter) 프로그램). 이들 디스플레이를 조사하여 후보 서열의 작용에 있어 잔기의 가능한 역할의 분석, 즉 후보 스캐폴드 단백질의 그의 항원에 결합하는 능력에 영향을 미치는 잔기를 분석할 수 있다. 이러한 방식으로, 표적 항원(들)에 대한 친화도와 같은 원하는 특성이 달성되도록 부모 서열 및 기준 서열로부터 잔기를 선택하고 조합할 수 있다. 상기 절차에 대안적으로 또는 이에 부가하여, 다른 적절한 조작 방법이 사용될 수 있다.

[0201] ***피기백 트랜스포존 시스템***

[0202] 본 발명의 방법은 항원 수용체를 본 발명의 1차 인간 T 세포에 도입하는데 사용되는 방법에 관계없이 본 발명의 변형된 T_{SCM}을 생산한다. 본 발명의 방법은 본 발명의 항원 수용체 또는 치료 단백질을 피기백 트랜스포존 시스템을 사용하여 1차 인간 T 세포에 도입할 때 본 발명의 변형된 T_{SCM}의 더 큰 효능 및/또는 더 많은 존재량, 비율, 수율을 가진 본 발명의 변형된 T_{SCM}을 생산한다. 본 발명의 피기백 트랜스포존 시스템은 본 발명의 항원 수용체를 포함하는 피기백 트랜스포존을 포함할 수 있다. 바람직하게는, 1차 인간 T 세포는 본 발명의 항원 수용체를 포함하는 피기백 트랜스포존과 본 발명의 트랜스포사제를 동시에(또는 매우 가까운 시간 근접성으로) 접촉시킨다. 예를 들어, 트랜스포존과 트랜스포사제를 세포 내로 도입하기 전에 1차 인간 T 세포, 트랜스포존 및 트랜스포사제는 동일한 용기(예를 들어, 큐벳)에 포함된다 - 그러나 이들은 세포 없이 상호작용이 허용되지 않는다. 바람직하게는, 트랜스포존과 트랜스포사제를 세포 내로 도입하기 전에 1차 인간 T 세포는 본 발명의 항원 수용체를 포함하는 피기백 트랜스포존과 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제와 동시에 접촉된다. 특정의 바람직한 실시양태에서, 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제는 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제를 코딩하는 mRNA 서열이다.

[0203] 피기백 트랜스포존 및 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제에 관한 추가의 개시 내용은 국제 특허 공개 WO 2010/099296호, 미국 특허 제8,399,643호, 미국 특허 제9,546,382호, 미국 특허 제6,218,185호, 제6,551,825호, 미국 특허 제6,962,810호, 및 미국 특허 제7,105,343호에서 찾아볼 수 있으며, 이들의 내용은 각각 본원에 그 전문으로 참고로 포함된다.

[0204] 본 발명은 DNA 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드 구조물을 숙주 세포 내로 도입하는 방법을 제공한다. 바람직하게, 도입 단계는 피기백 트랜스포존 시스템에 의해 매개된다.

[0205] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 2개의 시스 조절 격리 인자가 측면에 위치한 항원 수용체 또는 치료 단백질을 코딩하는 서열을 갖는 플라스미드 DNA 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 피기백 트랜스포존이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포존이 피기백 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 피기백™ 또는 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제이다. 특정 실시양태에서, 특히, 트랜스포사제가 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제인 실시양태에서, 트랜스포사제를 코딩하는 서열은 mRNA 서열이다.

[0206] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포사제 효소는 피기백™(PB) 트랜스포사제 효소이다. 피기백(PB) 트랜스포사제 효소는 하기와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어질 수 있다:

```
  1 MGSSLDDEHI LSALLQSDDE LVGEDSDSEI SDHVSEDDVQ SDTEEAFIDE VHEVQPTSSG
 61 SEILDEQNVI EQPGSSLASN RILTLPQRTI RGKNKHCWST SKSTRRSRVS ALNIVRSQRG
121 PTRMCRNIYD PLLCFKLFFT DEIISEIVKW TNAEISLKRR ESMTGATFRD TNEDEIYAFF
181 GILVMTAVRK DNHMSTDDLF DRSLSMVYVS VMSRDRFDFL IRCLRMDDKS IRPTLRENDV
241 FTPVRKIWDL FIHQCIQNYT PGAHLTIDEQ LLGFRGRCPF RMYIPNKPSK YGIKILMMCD
301 SGYKYMINGM PYLGRGTQTN GVPLGEYYVK ELSKPVHGSC RNITCDNWFT SIPLAKNLLQ
361 EPYKLTIVGT VRSNKREIPE VLKNSRSRPV GTSMFCFDGP LTLVSYKPKP AKMVYLLSSC
421 DEDASINEST GKPQMVMYYN QTKGGVDTLD QMCSVMTCSR KTNRWPMALL YGMINIACIN
481 SFIIYSHNVS SKGEKVQSRK KFMRNLYMSL TSSFMRKRLE APTLKRYLRD NISNILPNEV
541 PGTSDDSTEE PVMKKRTYCT YCPSKIRRKA NASCKKCKKV ICREHNIDMC QSCF
```

[0207] (서열 번호 4).

[0208] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포사제 효소는 하기 서열의 위치 30, 165, 282, 또는 538 중 하나 이상에서 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 피기백™(PB) 트랜스포사제 효소이다:

```
  1 MGSSLDDEHI LSALLQSDDE LVGEDSDSEI SDHVSEDDVQ SDTEEAFIDE VHEVQPTSSG
 61 SEILDEQNVI EQPGSSLASN RILTLPQRTI RGKNKHCWST SKSTRRSRVS ALNIVRSQRG
121 PTRMCRNIYD PLLCFKLFFT DEIISEIVKW TNAEISLKRR ESMTGATFRD TNEDEIYAFF
181 GILVMTAVRK DNHMSTDDLF DRSLSMVYVS VMSRDRFDFL IRCLRMDDKS IRPTLRENDV
241 FTPVRKIWDL FIHQCIQNYT PGAHLTIDEQ LLGFRGRCPF RMYIPNKPSK YGIKILMMCD
301 SGYKYMINGM PYLGRGTQTN GVPLGEYYVK ELSKPVHGSC RNITCDNWFT SIPLAKNLLQ
361 EPYKLTIVGT VRSNKREIPE VLKNSRSRPV GTSMFCFDGP LTLVSYKPKP AKMVYLLSSC
421 DEDASINEST GKPQMVMYYN QTKGGVDTLD QMCSVMTCSR KTNRWPMALL YGMINIACIN
481 SFIIYSHNVS SKGEKVQSRK KFMRNLYMSL TSSFMRKRLE APTLKRYLRD NISNILPNEV
541 PGTSDDSTEE PVMKKRTYCT YCPSKIRRKA NASCKKCKKV ICREHNIDMC QSCF
```

[0209] (서열 번호 4).

[0210] 특정 실시양태에서, 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4의 서열의 위치 30, 165, 282, 또는 538 중 2개 이상에서 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 피기백™(PB) 트랜스포사제 효소이다. 특정 실시양태에서, 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4의 서열의 위치 30, 165, 282, 또는 538 중 3개 이상에서 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 피기백™(PB) 트랜스포사제 효소이다. 특정 실시양태에서, 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4의 서열의 하기 위치 30, 165, 282, 및 538 각각에서 아미노산 치환을 갖는 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어진 피기백™(PB) 트랜스포사제 효소이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4의 서열의 위치 30에서 아미노산 치환은 이소류신(I)에서 발린(V)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4의 서열의 위치 165에서 아미노산 치환은 글리신(G)에서 세린(S)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4의 서열의 위치 282에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4의 서열의 위치 538에서 아미노산 치환은 아스파라긴(N)에서 리신(K)으로의 치환이다.

[0211] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포사제 효소는 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제 효소이다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제 효소는 위치 30에서 아미노산 치환이 이소류신(I)에서 발린(V)으로의 치환이고, 위치 165에서 아미노산 치환이 글리신(G)에서 세린(S)으로의 치환이고, 위치 282에서 아미노산 치환이 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환이고, 위치 538에서 아미노산 치환이 아스파라긴(N)에서 리신(K)으로의 치환인 서열 번호 4의 서열의 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어질 수 있다. 특정 실시양태에서, 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제 효소는 하기와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 동일한 아미노산 서열을 포함하거나 이로 이루어질 수 있다:

```
  1 MGSSLDDEHI LSALLQSDDE LVGEDSDSEV SDHVSEDDVQ SDTEEAFIDE VHEVQPTSSG
 61 SEILDEQNVI EQPGSSLASN RILTLPQRTI RGKNKHCWST SKSTRRSRVS ALNIVRSQRG
121 PTRMCRNIYD PLLCFKLFFT DEIISEIVKW TNAEISLKRR ESMTSATFRD TNEDEIYAFF
181 GILVMTAVRK DNHMSTDDLF DRSLSMVYVS VMSRDRFDFL IRCLRMDDKS IRPTLRENDV
241 FTPVRKIWDL FIHQCIQNYT PGAHLTIDEQ LLGFRGRCPF RVYIPNKPSK YGIKILMMCD
301 SGTKYMINGM PYLGRGTQTN GVPLGEYYVK ELSKPVHGSC RNITCDNWFT SIPLAKNLLQ
361 EPYKLTIVGT VRSNKREIPE VLKNSRSRPV GTSMFCFDGP LTLVSYKPKP AKMVYLLSSC
421 DEDASINEST GKPQMVMYYN QTKGGVDTLD QMCSVMTCSR KTNRWPMALL YGMINIACIN
481 SFIIYSHNVS SKGEKVQSRK KFMRNLYMSL TSSFMRKRLE APTLKRYLRD NISNILPKEV
541 PGTSDDSTEE PVMKKRTYCT YCPSKIRRKA NASCKKCKKV ICREHNIDMC QSCF
```

(서열 번호 5).

[0212]

[0213] 트랜스포사제가 위치 30, 165, 282 및/또는 538에서 상기한 돌연변이를 포함하는 실시양태를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 피기백™ 또는 슈퍼 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 서열의 위치 3, 46, 82, 103, 119, 125, 177, 180, 185, 187, 200, 207, 209, 226, 235, 240, 241, 243, 258, 296, 298, 311, 315, 319, 327, 328, 340, 421, 436, 456, 470, 486, 503, 552, 570 및 591 중 하나 이상에서 아미노산 치환을 추가로 포함할 수 있다. 트랜스포사제가 위치 30, 165, 282 및/또는 538에서 상기한 돌연변이를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, 피기백™ 또는 슈퍼 피기백™ 트랜스포사제 효소는 위치 46, 119, 125, 177, 180, 185, 187, 200, 207, 209, 226, 235, 240, 241, 243, 296, 298, 311, 315, 319, 327, 328, 340, 421, 436, 456, 470, 485, 503, 552 및 570 중 하나 이상에서 아미노산 치환을 추가로 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 3에서 아미노산 치환은 세린(S)에서 아스파라긴(N)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 46에서 아미노산 치환은 알라닌(A)에서 세린(S)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 46에서 아미노산 치환은 알라닌(A)에서 트레오닌(T)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 82에서 아미노산 치환은 이소류신(I)에서 트립토판(W)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 103에서 아미노산 치환은 세린(S)에서 프롤린(P)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 119에서 아미노산 치환은 아르기닌(R)에서 프롤린(P)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 125에서 아미노산 치환은 시스테인(C)에서 알라닌(A)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 125에서 아미노산 치환은 시스테인(C)에서 류신(L)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 177에서 아미노산 치환은 티로신(Y)에서 리신(K)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 177에서 아미노산 치환은 티로신(Y)에서 히스티딘(H)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 180에서 아미노산 치환은 페닐알라닌(F)에서 류신(L)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 180에서 아미노산 치환은 페닐알라닌(F)에서 이소류신(I)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 180에서 아미노산 치환은 페닐알라닌(F)에서 발린(V)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 185에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 류신(L)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 187에서 아미노산 치환은 알라닌(A)에서 글리신(G)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 200에서 아미노산 치환은 페닐알라닌(F)에서 트립토판(W)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 207에서 아미노산 치환은 발린(V)에서 프롤린(P)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 209에서 아미노산 치환은 발린(V)에서 페닐알라닌(F)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 226에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 페닐알라닌(F)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 235에서 아미노산 치환은 류신(L)에서 아르기닌(R)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 240에서 아미노산 치환은 발린(V)에서 리신(K)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 241에서 아미노산 치환은 페닐알라닌(F)에서 류신(L)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 243에서 아미노산 치환은 프롤린(P)에서 리신(K)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 258에서 아미노산 치환은 아스파라긴(N)에서 세린(S)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 296에서 아미노산 치환은 류신(L)에서 트립토판(W)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 296에서 아미노산 치환은 류신(L)에서 티로신(Y)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 296에서 아미노산 치환은 류

신(L)에서 페닐알라닌(F)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 298에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 류신(L)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 298에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 알라닌(A)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 298에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 311에서 아미노산 치환은 프롤린(P)에서 이소류신(I)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 311에서 아미노산 치환은 프롤린(P)에서 발린으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 315에서 아미노산 치환은 아르기닌(R)에서 리신(K)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 319에서 아미노산 치환은 트레오닌(T)에서 글리신(G)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 327에서 아미노산 치환은 티로신(Y)에서 아르기닌(R)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 328에서 아미노산 치환은 티로신(Y)에서 발린(V)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 340에서 아미노산 치환은 시스테인(C)에서 글리신(G)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 340에서 아미노산 치환은 시스테인(C)에서 류신(L)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 421에서 아미노산 치환은 아스파르트산(D)에서 히스티딘(H)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 436에서 아미노산 치환은 발린(V)에서 이소류신(I)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 456에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 티로신(Y)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 470에서 아미노산 치환은 류신(L)에서 페닐알라닌(F)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 485에서 아미노산 치환은 세린(S)에서 리신(K)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 503에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 류신(L)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 503에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 이소류신(I)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 552에서 아미노산 치환은 발린(V)에서 리신(K)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 570에서 아미노산 치환은 알라닌(A)에서 트레오닌(T)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 591에서 아미노산 치환은 글루타민(Q)에서 프롤린(P)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 591에서 아미노산 치환은 글루타민(Q)에서 아르기닌(R)으로의 치환이다.

[0214] 트랜스포사제가 위치 30, 165, 282 및/또는 538에서 상기한 돌연변이를 포함하는 실시양태를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 서열의 위치 103, 194, 372, 375, 450, 509 및 570 중 하나 이상에서 아미노산 치환을 포함할 수 있거나 슈퍼 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 서열의 위치 103, 194, 372, 375, 450, 509 및 570 중 하나 이상에서 아미노산 치환을 추가로 포함할 수 있다. 트랜스포사제가 위치 30, 165, 282 및/또는 538에서 상기한 돌연변이를 포함하는 실시양태를 포함하는 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 서열의 위치 103, 194, 372, 375, 450, 509 및 570 중 2, 3, 4, 5, 6개 이상에서 아미노산 치환을 포함할 수 있거나 슈퍼 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 서열의 위치 103, 194, 372, 375, 450, 509 및 570 중 2, 3, 4, 5, 6개 이상에서 아미노산 치환을 추가로 포함할 수 있다. 트랜스포사제가 위치 30, 165, 282 및/또는 538에서 상기한 돌연변이를 포함하는 실시양태를 포함하는 특정 실시양태에서, 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 서열의 위치 103, 194, 372, 375, 450, 509 및 570에서 아미노산 치환을 포함할 수 있거나 슈퍼 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 서열의 위치 103, 194, 372, 375, 450, 509 및 570에서 아미노산 치환을 추가로 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 103에서 아미노산 치환은 세린(S)에서 프롤린(P)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 194에서 아미노산 치환은 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 372에서 아미노산 치환은 아르기닌(R)에서 알라닌(A)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 375에서 아미노산 치환은 리신(K)에서 알라닌(A)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 450에서 아미노산 치환은 아스파르트산(D)에서 아스파라긴(N)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 509에서 아미노산 치환은 세린(S)에서 글리신(G)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 서열 번호 4 또는 서열 번호 5의 위치 570에서 치환은 아스파라긴(N)에서 세린(S)으로의 치환이다. 특정 실시양태에서, 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4의 위치 194에서 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환을 포함할 수 있다. 피기백™ 트랜스포사제 효소가 서열 번호 4의 위치 194에서 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환을 포함하는 특정 실시양태에서, 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4 또는

서열 번호 5의 서열의 위치 372, 375 및 450에서 아미노산 치환을 추가로 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4의 위치 194에서 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환, 서열 번호 4의 위치 372에서 아르기닌(R)에서 알라닌(A)으로의 치환, 및 서열 번호 4의 위치 375에서 리신(K)에서 알라닌(A)으로의 치환을 포함할 수 있다. 특정 실시양태에서, 피기백™ 트랜스포사제 효소는 서열 번호 4의 위치 194에서 메티오닌(M)에서 발린(V)으로의 치환, 서열 번호 4의 위치 372에서 아르기닌(R)에서 알라닌(A)으로의 치환, 서열 번호 4의 위치 375에서 리신(K)에서 알라닌(A)으로의 치환 및 서열 번호 4의 위치 450에서 아스파르트산(D)에서 아스파라긴(N)으로의 치환을 포함할 수 있다.

[0215] "도입"은 폴리뉴클레오티드 구조물이 숙주 세포의 내부에 접근하는 방식으로 구조물을 공장에 제공하는 것을 의미한다. 단지 폴리뉴클레오티드 구조물이 숙주의 한 세포의 내부에 접근하기만 한다면, 본 발명의 방법은 폴리뉴클레오티드 구조물을 숙주 세포에 도입하는 특정 방법에 의존하지 않는다. 박테리아, 식물, 진균 및 동물에 폴리뉴클레오티드 구조물을 도입하는 방법은 당 업계에 잘 공지되어 있으며, 안정한 형질전환 방법, 일시적인 형질전환 방법 및 바이러스 매개 방법을 포함하지만 이에 제한되지는 않는다.

[0216] 본 명세서 전체에 걸쳐 사용되는 용어 "내인성"은 표적 유전자 또는 이것이 도입되는 숙주 세포와 자연적으로 관련된 핵산 또는 단백질 서열을 지칭한다.

[0217] "안정한 형질전환"은 공장에 도입된 폴리뉴클레오티드 구조물이 숙주의 게놈에 통합되어 그 자손에 유전될 수 있는 것을 의미한다.

[0218] "일시적 형질전환"은 숙주에 도입된 폴리뉴클레오티드 구조물이 숙주의 게놈에 통합되지 않는 것을 의미한다.

[0219] 바람직한 실시양태에서, 피기백 트랜스포존 시스템은 안정한 형질전환에 의해 외인성 서열을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T_{SCM} 또는 T_{CM}을 생성하는데 사용된다.

[0220] ***추가적인 트랜스포존 시스템***

[0221] 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 슬리핑 뷰티 트랜스포존이다. 특정 실시양태, 특히 트랜스포존이 슬리핑 뷰티 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 슬리핑 뷰티 트랜스포사제 또는 과활성 슬리핑 뷰트 트랜스포사제(SB100X)이다.

[0222] 본 발명은 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM}) 또는 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체 또는 치료 단백질을 포함하는 트랜스포존을 포함하는 트랜스포존 조성물 및 (b) 트랜스포사제 또는 트랜스포사제를 코딩하는 서열을 포함하는 트랜스포사제 조성물을 1차 인간 T 세포에 도입하여 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 변형된 T 세포가 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM}) 또는 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM}) 또는 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다. 본 발명은 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM}) 또는 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 방법으로서, (a) 항원 수용체를 포함하는 트랜스포존을 포함하는 트랜스포존 조성물 및 (b) 트랜스포사제 또는 트랜스포사제를 코딩하는 서열을 포함하는 트랜스포사제 조성물을 다수의 1차 인간 T 세포에 도입하여 다수의 변형된 T 세포를 생산하며, 상기 다수의 변형된 T 세포의 적어도 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 줄기 기억 T 세포(T_{SCM}) 또는 중심 기억 T 세포(T_{CM})의 하나 이상의 세포 표면 마커(들)를 발현함으로써 다수의 변형된 줄기 기억 T 세포(T_{SCM}) 또는 다수의 변형된 중심 기억 T 세포(T_{CM})를 생산하는 단계를 포함하는 방법을 제공한다.

[0223] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포존은 슬리핑 뷰티 트랜스포존이다. 특정 실시양태, 특히 트랜스포존이 슬리핑 뷰티 트랜스포존인 실시양태에서, 트랜스포사제는 슬리핑 뷰티 트랜스포사제 또는 과활성 슬리핑 뷰티 트랜스포사제(SB100X)이다.

[0224] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 슬리핑 뷰티 트랜스포사제 효소는 하기와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 동일한 아미노산 서열을 포함한다:

```
  1 MGKSKEISQD LRKKIVDLHK SGSSLGAISK RLKVPRSSVQ TIVRKYKHHG TTQPSYRSGR
 61 RRYLSPRDER TLVRKVQINP RTTAKDLVKM LEETGTKVSI STVKRVLYRH NLKGRSARKK
121 PLLQNRHKKA RLRFATAHGD KDRTFWRNVL WSDETKIELF GHNDHRYVWR KKGEACKPKN
181 TIPTVKHGGG SIMLWGCFAA GGTGALHKID GIMRKENYVD ILKQHLKTSV RKLKLGRKWV
241 FQMDNDPKHT SKVVAKWLKD NKVKVLEWPS QSPDLNPIEN LWAELKKRVR ARRPTNLTQL
301 HQLCQEEWAK IHPTYCGKLV EGYPKRLTQV KQFKGNATKY (서열 번호 6).
```

[0225]

[0226] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 과활성 슬리핑 뷰티(SB100X) 트랜스포사제 효소는 하기와 적어도 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트가 동일한 아미노산 서열을 포함한다:

```
  1 MGKSKEISQD LRKRIVDLHK SGSSLGAISK RLAVPRSSVQ TIVRKYKHHG TTQPSYRSGR
 61 RRYLSPRDER TLVRKVQINP RTTAKDLVKM LEETGTKVSI STVKRVLYRH NLKGHSARKK
121 PLLQNRHKKA RLRFATAHGD KDRTFWRNVL WSDETKIELF GHNDHRYVWR KKGEACKPKN
181 TIPTVKHGGG SIMLWGCFAA GGTGALHKID GIMDAVQYVD ILKQHLKTSV RKLKLGRKWV
241 FQHDNDPKHT SKVVAKWLKD NKVKVLEWPS QSPDLNPIEN LWAELKKRVR ARRPTNLTQL
301 HQLCQEEWAK IHPNYCGKLV EGYPKRLTQV KQFKGNATKY (서열 번호 7).
```

[0227]

[0228] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포사제는 헬리트론 트랜스포사제이다. 헬리트론 트랜스포사제는 300 내지 360만 년 전에 활성이 있던 박쥐 게놈의 고대 요소인 헬레이저 트랜스포존을 동원한다. 본 발명의 예시적인 헬레이저 트랜스포존은 Helibat1을 포함하며, 이는 하기를 포함하는 핵산 서열을 포함한다:

```
   1 TCCTATATAA TAAAAGAGAA ACATGCAAAT TGACCATCCC TCCGCTACGC TCAAGCCACG
  61 CCCACCAGCC AATCAGAAGT GACTATGCAA ATTAACCCAA CAAAGATGGC AGTTAAATTT
 121 GCATACGCAG GTGTCAAGCG CCCCAGGAGG CAACGGCGGC CGCGGGCTCC CAGGACCTTC
 181 GCTGGCCCCG GGAGGCGAGG CCGGCCGCGC CTAGCCACAC CCGCGGGCTC CCGGGACCTT
 241 CGCCAGCAGA GAGCAGAGCG GGAGAGCGGG CGGAGAGCGG GAGGTTTGGA GGACTTGGCA
 301 GAGCAGGAGG CCGCTGGACA TAGAGCAGAG CGAGAGAGAG GGTGGCTTGG AGGGCGTGGC
 361 TCCCTCTGTC ACCCCAGCTT CCTCATCACA GCTGTGGAAA CTGACAGCAG GGAGGAGGAA
 421 GTCCCACCCC CACAGAATCA GCCAGAATCA GCCGTTGGTC AGACAGCTCT CAGCGGCCTG
 481 ACAGCCAGGA CTCTCATTCA CCTGCATCTC AGACCGTGAC AGTAGAGAGG TGGGACTATG
 541 TCTAAAGAAC AACTGTTGAT ACAACGTAGC TCTGCAGCCG AAAGATGCCG GCGTTATCGA
 601 CAGAAAATGT CTGCAGAGCA ACGTGCGTCT GATCTTGAAA GAAGGCGGCG CCTGCAACAG
 661 AATGTATCTG AAGAGCAGCT ACTGGAAAAA CGTCGCTCTG AAGCCGAAAA ACAGCGGCGT
 721 CATCGACAGA AAATGTCTAA AGACCAACGT GCCTTTGAAG TTGAAAGAAG GCGGTGGCGA
 781 CGACAGAATA TGTCTAGAGA ACAGTCATCA ACAAGTACTA CCAATACCGG TAGGAACTGC
 841 CTTCTCAGCA AAAATGGAGT ACATGAGGAT GCAATTCTCG AACATAGTTG TGGTGGAATG
 901 ACTGTTCGAT GTGAATTTTG CCTATCACTA AATTTCTCTG ATGAAAAACC ATCCGATGGG
 961 AAATTTACTC GATGTTGTAG CAAAGGGAAA GTCTGTCCAA ATGATATACA TTTTCCAGAT
1021 TACCCGGCAT ATTTAAAAAG ATTAATGACA AACGAAGATT CTGACAGTAA AAATTTCATG
```

[0229]

1081 GAAAATATTC GTTCCATAAA TAGTTCTTTT GCTTTTGCTT CCATGGGTGC AAATATTGCA
1141 TCGCCATCAG GATATGGGCC ATACTGTTTT AGAATACACG GACAAGTTTA TCACCGTACT
1201 GGAACTTTAC ATCCTTCGGA TGGTGTTTCT CGGAAGTTTG CTCAACTCTA TATTTTGGAT
1261 ACAGCCGAAG CTACAAGTAA AAGATTAGCA ATGCCAGAAA ACCAGGGCTG CTCAGAAAGA
1321 CTCATGATCA ACATCAACAA CCTCATGCAT GAAATAAATG AATTAACAAA ATCGTACAAG
1381 ATGCTACATG AGGTAGAAAA GGAAGCCCAA TCTGAAGCAG CAGCAAAAGG TATTGCTCCC
1441 ACAGAAGTAA CAATGGCGAT TAAATACGAT CGTAACAGTG ACCCAGGTAG ATATAATTCT
1501 CCCCGTGTAA CCGAGGTTGC TGTCATATTC AGAAACGAAG ATGGAGAACC TCCTTTTGAA
1561 AGGGACTTGC TCATTCATTG TAAACCAGAT CCCAATAATC CAAATGCCAC TAAAATGAAA
1621 CAAATCAGTA TCCTGTTTCC TACATTAGAT GCAATGACAT ATCCTATTCT TTTTCCACAT
1681 GGTGAAAAAG GCTGGGGAAC AGATATTGCA TTAAGACTCA GAGACAACAG TGTAATCGAC
1741 AATAATACTA GACAAAATGT AAGGACACGA GTCACACAAA TGCAGTATTA TGGATTTCAT
1801 CTCTCTGTGC GGGACACGTT CAATCCTATT TTAAATGCAG GAAAATTAAC TCAACAGTTT
1861 ATTGTGGATT CATATTCAAA AATGGAGGCC AATCGGATAA ATTTCATCAA AGCAAACCAA
1921 TCTAAGTTGA GAGTTGAAAA ATATAGTGGT TTGATGGATT ATCTCAAATC TAGATCTGAA
1981 AATGACAATG TGCCGATTGG TAAAATGATA ATACTTCCAT CATCTTTTGA GGGTAGTCCC
2041 AGAAATATGC AGCAGCGATA TCAGGATGCT ATGGCAATTG TAACGAAGTA TGGCAAGCCC
2101 GATTTATTCA TAACCATGAC ATGCAACCCC AAATGGGCAG ATATTACAAA CAATTTACAA
2161 CGCTGGCAAA AAGTTGAAAA CAGACCTGAC TTGGTAGCCA GAGTTTTTAA TATTAAGCTG
2221 AATGCTCTTT TAAATGATAT ATGTAAATTC CATTTATTTG GCAAAGTAAT AGCTAAAATT
2281 CATGTCATTG AATTTCAGAA ACGCGGACTG CCTCACGCTC ACATATTATT GATATTAGAT
2341 AGTGAGTCCA AATTACGTTC AGAAGATGAC ATTGACCGTA TAGTTAAGGC AGAAATTCCA
2401 GATGAAGACC AGTGTCCTCG ACTTTTTCAA ATTGTAAAAT CAAATATGGT ACATGGACCA
2461 TGTGGAATAC AAAATCCAAA TAGTCCATGT ATGGAAAATG GAAAATGTTC AAAGGGATAT
2521 CCAAAAGAAT TTCAAAATGC GACCATTGGA AATATTGATG GATATCCCAA ATACAAACGA
2581 AGATCTGGTA GCACCATGTC TATTGGAAAT AAAGTTGTCG ATAACACTTG GATTGTCCCT
2641 TATAACCCGT ATTTGTGCCT TAAATATAAC TGTCATATAA ATGTTGAAGT CTGTGCATCA
2701 ATTAAAAGTG TCAAATATTT ATTTAAATAC ATCTATAAAG GGCACGATTG TGCAAATATT
2761 CAAATTTCTG AAAAAAATAT TATCAATCAT GACGAAGTAC AGGACTTCAT TGACTCCAGG
2821 TATGTGAGCG CTCCTGAGGC TGTTTGGAGA CTTTTTGCAA TGCGAATGCA TGACCAATCT
2881 CATGCAATCA CAAGATTAGC TATTCATTTG CCAAATGATC AGAATTTGTA TTTTCATACC
2941 GATGATTTTG CTGAAGTTTT AGATAGGGCT AAAAGGCATA ACTCGACTTT GATGGCTTGG
3001 TTCTTATTGA ATAGAGAAGA TTCTGATGCA CGTAATTATT ATTATTGGGA GATTCCACAG
3061 CATTATGTGT TTAATAATTC TTTGTGGACA AAACGCCGAA AGGGTGGGAA TAAAGTATTA
3121 GGTAGACTGT TCACTGTGAG CTTTAGAGAA CCAGAACGAT ATTACCTTAG ACTTTTGCTT
3181 CTGCATGTAA AAGGTGCGAT AAGTTTTGAG GATCTGCGAA CTGTAGGAGG TGTAACTTAT
3241 GATACATTTC ATGAAGCTGC TAAACACCGA GGATTATTAC TTGATGACAC TATCTGGAAA
3301 GATACGATTG ACGATGCAAT CATCCTTAAT ATGCCCAAAC AACTACGGCA ACTTTTTGCA
3361 TATATATGTG TGTTTGGATG TCCTTCTGCT GCAGACAAAT TATGGGATGA GAATAAATCT
[0230] 3421 CATTTTATTG AAGATTTCTG TTGGAAATTA CACCGAAGAG AAGGTGCCTG TGTGAACTGT

3481 GAAATGCATG CCCTTAACGA AATTCAGGAG GTATTCACAT TGCATGGAAT GAAATGTTCA
3541 CATTTCAAAC TTCCGGACTA TCCTTTATTA ATGAATGCAA ATACATGTGA TCAATTGTAC
3601 GAGCAACAAC AGGCAGAGGT TTTGATAAAT TCTCTGAATG ATGAACAGTT GGCAGCCTTT
3661 CAGACTATAA CTTCAGCCAT CGAAGATCAA ACTGTACACC CCAAATGCTT TTTCTTGGAT
3721 GGTCCAGGTG GTAGTGGAAA AACATATCTG TATAAAGTTT TAACACATTA TATTAGAGGT
3781 CGTGGTGGTA CTGTTTTACC CACAGCATCT ACAGGAATTG CTGCAAATTT ACTTCTTGGT
3841 GGAAGAACCT TTCATTCCCA ATATAAATTA CCAATTCCAT TAAATGAAAC TTCAATTTCT
3901 AGACTCGATA TAAAGAGTGA AGTTGCTAAA ACCATTAAAA AGGCCCAACT TCTCATTATT
3961 GATGAATGCA CCATGGCATC CAGTCATGCT ATAAACGCCA TAGATAGATT ACTAAGAGAA
4021 ATTATGAATT TGAATGTTGC ATTTGGTGGG AAAGTTCTCC TTCTCGGAGG GGATTTTCGA
4081 CAATGTCTCA GTATTGTACC ACATGCTATG CGATCGGCCA TAGTACAAAC GAGTTTAAAG
4141 TACTGTAATG TTTGGGGATG TTTCAGAAAG TTGTCTCTTA AAACAAATAT GAGATCAGAG
4201 GATTCTGCTT ATAGTGAATG GTTAGTAAAA CTTGGAGATG GCAAACTTGA TAGCAGTTTT
4261 CATTTAGGAA TGGATATTAT TGAAATCCCC CATGAAATGA TTTGTAACGG ATCTATTATT
4321 GAAGCTACCT TTGGAAATAG TATATCTATA GATAATATTA AAAATATATC TAAACGTGCA
4381 ATTCTTTGTC CAAAAAATGA GCATGTTCAA AAATTAAATG AAGAAATTTT GGATATACTT
4441 GATGGAGATT TTCACACATA TTTGAGTGAT GATTCCATTG ATTCAACAGA TGATGCTGAA
4501 AAGGAAAATT TTCCCATCGA ATTTCTTAAT AGTATTACTC CTTCGGGAAT GCCGTGTCAT
4561 AAATTAAAAT TGAAAGTGGG TGCAATCATC ATGCTATTGA GAAATCTTAA TAGTAAATGG
4621 GGTCTTTGTA ATGGTACTAG ATTTATTATC AAAAGATTAC GACCTAACAT TATCGAAGCT
4681 GAAGTATTAA CAGGATCTGC AGAGGGAGAG GTTGTTCTGA TTCCAAGAAT TGATTTGTCC
4741 CCATCTGACA CTGGCCTCCC ATTTAAATTA ATTCGAAGAC AGTTTCCCGT GATGCCAGCA
4801 TTTGCGATGA CTATTAATAA ATCACAAGGA CAAACTCTAG ACAGAGTAGG AATATTCCTA
4861 CCTGAACCCG TTTTCGCACA TGGTCAGTTA TATGTTGCTT TCTCTCGAGT TCGAAGAGCA
4921 TGTGACGTTA AAGTTAAAGT TGTAAATACT TCATCACAAG GGAAATTAGT CAAGCACTCT
4981 GAAAGTGTTT TTACTCTTAA TGTGGTATAC AGGGAGATAT TAGAATAAGT TTAATCACTT
5041 TATCAGTCAT TGTTTGCATC AATGTTGTTT TTATATCATG TTTTTGTTGT TTTTATATCA
5101 TGTCTTTGTT GTTGTTATAT CATGTTGTTA TTGTTTATTT ATTAATAAAT TTATGTATTA
5161 TTTTCATATA CATTTTACTC ATTTCCTTTC ATCTCTCACA CTTCTATTAT AGAGAAAGGG
5221 CAAATAGCAA TATTAAAATA TTTCCTCTAA TTAATTCCCT TTCAATGTGC ACGAATTTCG
[0231] 5281 TGCACCGGGC CACTAG (서열 번호 27).

[0232] 다른 트랜스포사제와 달리, 헬리트론 트랜스포사제는 RN아제 H 유사 촉매 도메인을 함유하지 않지만, 대신에 복제 개시 도메인(Rep) 및 DNA 헬리카제 도메인으로 구성된 RepHel 모티프를 포함한다. Rep 도메인은 HUH 슈퍼 패밀리 뉴클레아제의 뉴클레아제 도메인이다.

[0233] 본 발명의 예시적인 헬리트론 트랜스포사제는 하기를 포함하는 아미노산 서열을 포함한다:

```
   1 MSKEQLLIQR SSAAERCRRY RQKMSAEQRA SDLERRRRLQ QNVSEEQLLE KRRSEAEKQR
  61 RHRQKMSKDQ RAFEVERRRW RRQNMSREQS STSTTNTGRN CLLSKNGVHE DAILEHSCGG
 121 MTVRCEFCLS LNFSDEKPSD GKFTRCCSKG KVCPNDIHFP DYPAYLKRLM TNEDSDSKNF
 181 MENIRSINSS FAFASMGANI ASPSGYGPYC FRIHGQVYHR TGTLHPSDGV SRKFAQLYIL
 241 DTAEATSKRL AMPENQGCSE RLMININNLM HEINELTKSY KMLHEVEKEA QSEAAAKGIA
 301 PTEVTMAIKY DRNSDPGRYN SPRVTEVAVI FRNEDGEPPF ERDLLIHCKP DPNNPNATKM
 361 KQISILFPTL DAMTYPILFP HGEKGWGTDI ALRLRDNSVI DNNTRQNVRT RVTQMQYYGF
 421 HLSVRDTFNP ILNAGKLTQQ FIVDSYSKME ANRINFIKAN QSKLRVEKYS GLMDYLKSRS
 481 ENDNVPIGKM IILPSSFEGS PRNMQQRYQD AMAIVTKYGK PDLFITMTCN PKWADITNNL
 541 QRWQKVENRP DLVARVFNIK LNALLNDICK FHLFGKVIAK IHVIEFQKRG LPHAHILLIL
 601 DSESKLRSED DIDRIVKAEI PDEDQCPRLF QIVKSNMVHG PCGIQNPNSP CMENGKCSKG
 661 YPKEFQNATI GNIDGYPKYK RRSGSTMSIG NKVVDNTWIV PYNPYLCLKY NCHINVEVCA
 721 SIKSVKYLFK YIYKGHDCAN IQISEKNIIN HDEVQDFIDS RYVSAPEAVW RLFAMRMHDQ
 781 SHAITRLAIH LPNDQNLYFH TDDFAEVLDR AKRHNSTLMA WFLLNREDSD ARNYYYWEIP
 841 QHYVFNNSLW TKRRKGGNKV LGRLFTVSFR EPERYYLRLL LLHVKGAISF EDLRTVGGVT
 901 YDTFHEAAKH RGLLLDDTIW KDTIDDAIIL NMPKQLRQLF AYICVFGCPS AADKLWDENK
 961 SHFIEDFCWK LHRREGACVN CEMHALNEIQ EVFTLHGMKC SHFKLPDYPL LMNANTCDQL
1021 YEQQQAEVLI NSLNDEQLAA FQTITSAIED QTVHPKCFFL DGPGGSGKTY LYKVLTHYIR
1081 GRGGTVLPTA STGIAANLLL GGRTFHSQYK LPIPLNETSI SRLDIKSEVA KTIKKAQLLI
1141 IDECTMASSH AINAIDRLLR EIMNLNVAFG GKVLLLGGDF RQCLSIVPHA MRSAIVQTSL
1201 KYCNVWGCFR KLSLKTNMRS EDSAYSEWLV KLGDGKLDSS FHLGMDIIEI PHEMICNGSI
1261 IEATFGNSIS IDNIKNISKR AILCPKNEHV QKLNEEILDI LDGDFHTYLS DDSIDSTDDA
1321 EKENFPIEFL NSITPSGMPC HKLKLKVGAI IMLLRNLNSK WGLCNGTRFI IKRLRPNIIE
1381 AEVLTGSAEG EVVLIPRIDL SPSDTGLPFK LIRRQFPVMP AFAMTINKSQ GQTLDRVGIF
1441 LPEPVFAHGQ LYVAFSRVRR ACDVKVKVVN TSSQGKLVKH SESVFTLNVV YREILE
```

[0234] (서열 번호 28).

[0235] 헬리트론 전위에서, 트랜스포존의 3 '말단에 가까운 헤어핀은 종결 인자로서 기능을 한다. 그러나 이 헤어핀은 트랜스포스포사제에 의해 우회되어, 측면 서열의 형질도입을 초래할 수 있다. 또한, 헬레이저 전위는 공유적으로 폐쇄된 원형의 중간체를 생성한다. 또한, 헬리트론 전위는 표적 부위 중복이 없을 수 있다. 헬레이저 서열에서, 트랜스포사제는 LTS 및 RTS라고 명명된 좌측 및 우측 말단 서열이 측면에 위치한다. 이들 서열은 보존된 5'-TC/CTAG-3' 모티프로 종결된다. 헤어핀 종결 구조를 형성할 잠재력을 가진 19 bp 회문 염기 서열은 RTS의 11개 뉴클레오티드 상류에 위치하며, 서열 GTGCACGAATTTCGTGCACCGGGCCACTAG (서열 번호 29)로 이루어진다.

[0236] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 트랜스포사제는 Tol2 트랜스포사제이다. Tol2 트랜스포존은 메다카 어류의 게놈으로부터 단리 또는 유래될 수 있으며, hAT 패밀리의 트랜스포존과 유사할 수 있다. 본 발명의 예시적인 Tol2 트랜스포존은 약 4.7 킬로베이스를 포함하는 서열에 의해 코딩되고, 4개의 엑손을 함유하는 Tol2 트랜스포사제 코딩 유전자를 함유한다. 본 발명의 예시적인 Tol2 트랜스포사제는 하기를 포함하는 아미노산 서열을 포함한다:

```
   1 MEEVCDSSAA ASSTVQNQPQ DQEHPWPYLR EFFSLSGVNK DSFKMKCVLC LPLNKEISAF
  61 KSSPSNLRKH IERMHPNYLK NYSKLTAQKR KIGTSTHASS SKQLKVDSVF PVKHVSPVTV
 121 NKAILRYYIQ GLHPFSTVDL PSFKELISTL QPGISVITRP TLRSKIAEAA LIMKQKVTAA
 181 MSEVEWIATT TDCWTARRKS FIGVTAHWIN PGSLERHSAA LACKRLMGSH TFEVLASAMN
 241 DIHSEYEIRD KVVCTTTDSG SNFMKAFRVF GVENNDIETE ARRCESDDTD SEGCGEGSDG
 301 VEFQDASRVL DQDDGFEFQL PKHQKCACHL LNLVSSVDAQ KALSNEHYKK LYRSVFGKCQ
 361 ALWNKSSRSA LAAEAVESES RLQLLRPNQT RWNSTFMAVD RILQICKEAG EGALRNICTS
 421 LEVPMFNPAE MLFLTEWANT MRPVAKVLDI LQAETNTQLG WLLPSVHQLS LKLQRLHHSL
 481 RYCDPLVDAL QQGIQTRFKH MFEDPEIIAA AILLPKFRTS WTNDETIIKR GMDYIRVHLE
 541 PLDHKKELAN SSSDDEDFFA SLKPTTHEAS KELDGYLACV SDTRESLLTF PAICSLSIKT
 601 NTPLPASAAC ERLFSTAGLL FSPKRARLDT NNFENQLLLK LNLRFYNFE
```

[0237] (서열 번호 30).

[0238] 역전된 반복 서열, 말단 가까운 서열 및 Tol2 트랜스포사제를 포함하는 본 발명의 예시적인 Tol2 트랜스포존은 하기를 포함하는 핵산 서열에 의해 코딩된다:

[0239]

```
   1 CAGAGGTGTA AAGTACTTGA GTAATTTTAC TTGATTACTG TACTTAAGTA TTATTTTTGG
  61 GGATTTTTAC TTTACTTGAG TACAATTAAA AATCAATACT TTTACTTTTA CTTAATTACA
 121 TTTTTTTAGA AAAAAAAGTA CTTTTTACTC CTTACAATTT TATTTACAGT CAAAAAGTAC
 181 TTATTTTTTG GAGATCACTT CATTCTATTT TCCCTTGCTA TTACCAAACC AATTGAATTG
 241 CGCTGATGCC CAGTTTAATT TAAATGTTAT TTATTCTGCC TATGAAAATC GTTTTCACAT
 301 TATATGAAAT TGGTCAGACA TGTTCATTGG TCCTTTGGAA GTGACGTCAT GTCACATCTA
 361 TTACCACAAT GCACAGCACC TTGACCTGGA AATTAGGGAA ATTATAACAG TCAATCAGTG
 421 GAAGAAAATG GAGGAAGTAT GTGATTCATC AGCAGCTGCG AGCAGCACAG TCCAAAATCA
 481 GCCACAGGAT CAAGAGCACC CGTGGCCGTA TCTTCGCGAA TTCTTTTCTT TAAGTGGTGT
 541 AAATAAAGAT TCATTCAAGA TGAAATGTGT CCTCTGTCTC CCGCTTAATA AAGAAATATC
 601 GGCCTTCAAA AGTTCGCCAT CAAACCTAAG GAAGCATATT GAGGTAAGTA CATTAAGTAT
 661 TTTGTTTTAC TGATAGTTTT TTTTTTTTTT TTTTTTTTTT TTTTGGGTG TGCATGTTTT
 721 GACGTTGATG GCGCGCCTTT TATATGTGTA GTAGGCCTAT TTTCACTAAT GCATGCGATT
 781 GACAATATAA GGCTCACGTA ATAAAATGCT AAAATGCATT TGTAATTGGT AACGTTAGGT
 841 CCACGGGAAA TTTGGCGCCT ATTGCAGCTT TGAATAATCA TTATCATTCC GTGCTCTCAT
 901 TGTGTTTGAA TTCATGCAAA ACACAAGAAA ACCAAGCGAG AAATTTTTTT CCAAACATGT
 961 TGTATTGTCA AAACGGTAAC ACTTTACAAT GAGGTTGATT AGTTCATGTA TTAACTAACA
1021 TTAAATAACC ATGAGCAATA CATTTGTTAC TGTATCTGTT AATCTTTGTT AACGTTAGTT
1081 AATAGAAATA CAGATGTTCA TTGTTTGTTC ATGTTAGTTC ACAGTGCATT AACTAATGTT
1141 AACAAGATAT AAAGTATTAG TAAATGTTGA AATTAACATG TATACGTGCA GTTCATTATT
1201 AGTTCATGTT AACTAATGTA GTTAACTAAC GAACCTTATT GTAAAAGTGT TACCATCAAA
1261 ACTAATGTAA TGAAATCAAT TCACCCTGTC ATGTCAGCCT TACAGTCCTG TGTTTTTGTC
```

1321 AATATAATCA GAAATAAAAT TAATGTTTGA TTGTCACTAA ATGCTACTGT ATTTCTAAAA
1381 TCAACAAGTA TTTAACATTA TAAAGTGTGC AATTGGCTGC AAATGTCAGT TTTATTAAAG
1441 GGTTAGTTCA CCCAAAAATG AAAATAATGT CATTAATGAC TCGCCCTCAT GTCGTTCCAA
1501 GCCCGTAAGA CCTCCGTTCA TCTTCAGAAC ACAGTTTAAG ATATTTTAGA TTTAGTCCGA
1561 GAGCTTTCTG TGCCTCCATT GAGAATGTAT GTACGGTATA CTGTCCATGT CCAGAAAGGT
1621 AATAAAAACA TCAAAGTAGT CCATGTGACA TCAGTGGGTT AGTTAGAATT TTTTGAAGCA
1681 TCGAATACAT TTTGGTCCAA AAATAACAAA ACCTACGACT TTATTCGGCA TTGTATTCTC
1741 TTCCGGGTCT GTTGTCAATC CGCGTTCACG ACTTCGCAGT GACGCTACAA TGCTGAATAA
1801 AGTCGTAGGT TTTGTTATTT TTGGACCAAA ATGTATTTTC GATGCTTCAA ATAATTCTAC
1861 CTAACCCACT GATGTCACAT GGACTACTTT GATGTTTTTA TTACCTTTCT GGACATGGAC
1921 AGTATACCGT ACATACATTT TCAGTGGAGG GACAGAAAGC TCTCGGACTA AATCTAAAAT
1981 ATCTTAAACT GTGTTCCGAA GATGAACGGA GGTGTTACGG GCTTGGAACG ACATGAGGGT
2041 GAGTCATTAA TGACATCTTT TCATTTTTGG GTGAACTAAC CCTTTAATGC TGTAATCAGA
2101 GAGTGTATGT GTAATTGTTA CATTTATTGC ATACAATATA AATATTTATT TGTTGTTTTT
2161 ACAGAGAATG CACCCAAATT ACCTCAAAAA CTACTCTAAA TTGACAGCAC AGAAGAGAAA
2221 GATCGGGACC TCCACCCATG CTTCCAGCAG TAAGCAACTG AAAGTTGACT CAGTTTTCCC
2281 AGTCAAACAT GTGTCTCCAG TCACTGTGAA CAAAGCTATA TTAAGGTACA TCATTCAAGG
2341 ACTTCATCCT TTCAGCACTG TTGATCTGCC ATCATTTAAA GAGCTGATTA GTACACTGCA
2401 GCCTGGCATT TCTGTCATTA CAAGGCCTAC TTTACGCTCC AAGATAGCTG AAGCTGCTCT
2461 GATCATGAAA CAGAAAGTGA CTGCTGCCAT GAGTGAAGTT GAATGGATTG CAACCACAAC
2521 GGATTGTTGG ACTGCACGTA GAAAGTCATT CATTGGTGTA ACTGCTCACT GGATCAACCC
2581 TGGAAGTCTT GAAAGACATT CCGCTGCACT TGCCTGCAAA AGATTAATGG GCTCTCATAC
2641 TTTTGAGGTA CTGGCCAGTG CCATGAATGA TATCCACTCA GAGTATGAAA TACGTGACAA
2701 GGTTGTTTGC ACAACCACAG ACAGTGGTTC CAACTTTATG AAGGCTTTCA GAGTTTTTGG
2761 TGTGGAAAAC AATGATATCG AGACTGAGGC AAGAAGGTGT GAAAGTGATG ACACTGATTC
2821 TGAAGGCTGT GGTGAGGGAA GTGATGGTGT GGAATTCCAA GATGCCTCAC GAGTCCTGGA
2881 CCAAGACGAT GGCTTCGAAT TCCAGCTACC AAAACATCAA AAGTGTGCCT GTCACTTACT
2941 TAACCTAGTC TCAAGCGTTG ATGCCCAAAA AGCTCTCTCA AATGAACACT ACAAGAAACT
3001 CTACAGATCT GTCTTTGGCA AATGCCAAGC TTTATGGAAT AAAAGCAGCC GATCGGCTCT
3061 AGCAGCTGAA GCTGTTGAAT CAGAAAGCCG GCTTCAGCTT TTAAGGCCAA ACCAAACGCG
3121 GTGGAATTCA ACTTTTATGG CTGTTGACAG AATTCTTCAA ATTTGCAAAG AAGCAGGAGA
3181 AGGCGCACTT CGGAATATAT GCACCTCTCT TGAGGTTCCA ATGTAAGTGT TTTTCCCCTC
3241 TATCGATGTA AACAAATGTG GGTTGTTTTT GTTTAATACT CTTTGATTAT GCTGATTTCT
3301 CCTGTAGGTT TAATCCAGCA GAAATGCTGT TCTTGACAGA GTGGGCCAAC ACAATGCGTC
3361 CAGTTGCAAA AGTACTCGAC ATCTTGCAAG CGGAAACGAA TACACAGCTG GGGTGGCTGC
3421 TGCCTAGTGT CCATCAGTTA AGCTTGAAAC TTCAGCGACT CCACCATTCT CTCAGGTACT
3481 GTGACCCACT TGTGGATGCC CTACAACAAG GAATCCAAAC ACGATTCAAG CATATGTTTG
3541 AAGATCCTGA GATCATAGCA GCTGCCATCC TTCTCCCTAA ATTTCGGACC TCTTGGACAA
3601 ATGATGAAAC CATCATAAAA CGAGGTAAAT GAATGCAAGC AACATACACT TGACGAATTC

[0240] 3661 TAATCTGGGC AACCTTTGAG CCATACCAAA ATTATTCTTT TATTTATTTA TTTTTGCACT

3721 TTTTAGGAAT GTTATATCCC ATCTTTGGCT GTGATCTCAA TATGAATATT GATGTAAAGT
3781 ATTCTTGCAG CAGGTTGTAG TTATCCCTCA GTGTTTCTTG AAACCAAACT CATATGTATC
3841 ATATGTGGTT TGGAAATGCA GTTAGATTTT ATGCTAAAAT AAGGGATTTG CATGATTTTA
3901 GATGTAGATG ACTGCACGTA AATGTAGTTA ATGACAAAAT CCATAAAATT TGTTCCCAGT
3961 CAGAAGCCCC TCAACCAAAC TTTTCTTTGT GTCTGCTCAC TGTGCTTGTA GGCATGGACT
4021 ACATCAGAGT GCATCTGGAG CCTTTGGACC ACAAGAAGGA ATTGGCCAAC AGTTCATCTG
4081 ATGATGAAGA TTTTTTCGCT TCTTTGAAAC CGACAACACA TGAAGCCAGC AAAGAGTTGG
4141 ATGGATATCT GGCCTGTGTT TCAGACACCA GGGAGTCTCT GCTCACGTTT CCTGCTATTT
4201 GCAGCCTCTC TATCAAGACT AATACACCTC TTCCCGCATC GGCTGCCTGT GAGAGGCTTT
4261 TCAGCACTGC AGGATTGCTT TTCAGCCCCA AAAGAGCTAG GCTTGACACT AACAATTTTG
4321 AGAATCAGCT TCTACTGAAG TTAAATCTGA GGTTTTACAA CTTTGAGTAG CGTGTACTGG
4381 CATTAGATTG TCTGTCTTAT AGTTTGATAA TTAAATACAA ACAGTTCTAA AGCAGGATAA
4441 AACCTTGTAT GCATTTCATT TAATGTTTTT TGAGATTAAA AGCTTAAACA AGAATCTCTA
4501 GTTTTCTTTC TTGCTTTTAC TTTTACTTCC TTAATACTCA AGTACAATTT TAATGGAGTA
4561 CTTTTTTACT TTTACTCAAG TAAGATTCTA GCCAGATACT TTTACTTTTA ATTGAGTAAA
4621 ATTTTCCCTA AGTACTTGTA CTTTCACTTG AGTAAAATTT TTGAGTACTT TTTACACCTC

[0241] 4681 TG (서열 번호 31).

[0242] ***상동 재조합***

[0243] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 본 발명의 변형된 CAR-T_{SCM} 또는 CAR-T_{CM}은 상동 재조합에 의해 항원 수용체를 본 발명의 1차 인간 T 세포에 도입함으로써 생산된다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 상동 재조합은 본 발명의 게놈 편집 조성물 또는 구조물에 의해 유도되는 단일 또는 이중 가닥 절단에 의해 유도된다. 본 발명의 상동 재조합 방법은 게놈 서열에 본 발명의 게놈 편집 조성물 또는 구조물을 접촉시켜 서열에 하나 이상의 절단을 유도하고 외인성 공여 서열 조성물에 게놈 서열 내 진입 지점을 제공하는 단계를 포함한다. 본 발명의 공여 서열 조성물은 세포의 천연 DNA 복구 기구에 의해 유도된 진입 지점에서 게놈 서열에 통합된다.

[0244] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 상동 재조합은 본 발명의 항원 수용체 및/또는 공여 서열 조성물을 코딩하는 서열을 "게놈 세이프 하버(genomic safe harbor)" 부위에 도입한다. 특정 실시양태에서, 포유동물 게놈 서열은 게놈 세이프 하버 부위를 포함한다. 특정 실시양태에서, 영장류 게놈 서열은 게놈 세이프 하버 부위를 포함한다. 특정 실시양태에서, 인간 게놈 서열은 게놈 세이프 하버 부위를 포함한다.

[0245] 게놈 세이프 하버 부위는 반드시 새로 삽입된 유전 요소가 신뢰성 있게 기능을 하고(예를 들어, 치료 유효한 발현 수준으로 발현되고) 숙주 생물체에 위험을 일으키는 해로운 변화를 숙주 게놈에 일으키지 않게 하는 방식으로 새로운 유전 물질의 통합을 수용할 수 있다. 가능한 게놈 세이프 하버는 인간 알부민 유전자의 인트론 서열, 아데노 관련 바이러스 부위 1(AAVS1), 염색체 19 상의 AAV 바이러스의 자연 발생적 통합 부위, 케모카인(C-C 모티프) 수용체 5(*CCR5*) 유전자의 부위 및 마우스 Rosa26 유전자좌의 인간 오르토 로그 부위를 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

[0246] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 상동 재조합은 본 발명의 항원 수용체 및/또는 공여 서열 조성물을 코딩하는 서열을 내인성 T 세포 수용체 또는 주요 조직 적합성 복합체(MHC: major histocompatibility complex) 중 하나 이상의 구성요소를 코딩하는 서열에 도입한다. 특정 실시양태에서, 내인성 T 세포 수용체 또는 MHC를 코딩하는 게놈 서열 내에 상동 재조합을 유도하는 것은 내인성 유전자를 파괴하고, 경우에 따라 내인성 유전자의 코딩 서열의 일부분을 본 발명의 공여 서열 조성물로 대체시킨다. 특정 실시양태에서, 내인성 T 세포 수용체 또는 MHC를 코딩하는 게놈 서열 내에 상동 재조합을 유도하는 것은 내인성 유전자를 파괴하고, 경우에 따라 내인성 유전자의 전체 코딩 서열을 본 발명의 공여 서열 조성물로 대체시킨다. 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 상동 재조합에 의한 본 발명의 항원 수용체 또는 공여 서열 조성물을 코딩하는 서열의 도입은 항원 수용체를 내인성 T 세포 프로모터에 작동 가능하게 연결시킨다. 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 상동 재조합에 의한 본 발명의 항원 수용체 또는 공여 서열 조성물을 코딩하는 서열의 도입은 항원 수용체 또는 치료 단백질을 전사 또는 번역 조절 요소에 작동 가능하게 연결시킨다. 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 상동 재조합에 의한 본 발명의 항원 수용체 또는 공여 서열 조성물을 코딩하는 서열의 도입은 항원 수용체 또는 치료 단백질을 전사 조절 요소에 작동 가능하게 연결시킨다. 특정 실시양태에서, 전사 조절 요소는 내인성 T 세포 5'UTR을 포함한다.

[0247] 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 다수의 T 세포 중 적어도 하나의 1차 T 세포의 게놈 서열과 접촉한다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 다수의 T 세포 중 1차 T 세포의 일부분의 게놈 서열과 접촉한다. 특정 실시양태에서, 1차 T 세포의 일부분은 다수의 T 세포 중 총 1차 T 세포 수의 적어도 1%, 2%, 5%, 7%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 99% 또는 이들 사이의 임의의 퍼센트이다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 다수의 T 세포 중 각각의 1차 T 세포의 게놈 서열과 접촉한다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 단일 가닥 절단을 유도한다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 이중 가닥 절단을 유도한다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 도입 단계는 공여 서열 조성물을 추가로 포함한다. 특정 실시양태에서, 공여 서열 조성물은 항원 수용체를 코딩하는 서열을 포함한다. 특정 실시양태에서, 공여 서열 조성물은 항원 수용체, 5' 게놈 서열 및 3 '게놈 서열을 코딩하는 서열을 포함하며, 상기 5' 게놈 서열은 게놈 편집 조성물에 의해 유도된 절단 지점의 5'에 있는 1차 T 세포의 게놈 서열과 상동이거나 동일하고 상기 3' 게놈 서열은 게놈 편집 조성물에 의해 유도된 절단 지점의 3'에 있는 1차 T 세포의 게놈 서열과 상동이거나 동일하다. 특정 실시양태에서, 5' 게놈 서열 및/또는 3' 게놈 서열은 적어도 50 bp, 100 bp, 적어도 200 bp, 적어도 300 bp, 적어도 400 bp, 적어도 500 bp, 적어도 600 bp, 적어도 700 bp, 적어도 800 bp, 적어도 900 bp, 적어도 1000 bp, 적어도 1100 bp, 적어도 1200 bp, 적어도 1300 bp, 적어도 1400, 또는 적어도 1500 bp, 적어도 1600 bp, 적어도 1700 bp, 적어도 1800 bp, 적어도 1900 bp, 적어도 2000 bp 길이 또는 종점

을 포함하여 이들 중 임의의 염기쌍(bp) 길이를 포함한다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물 및 공여 서열 조성물은 게놈 서열과 동시에 또는 순차적으로 접촉된다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물 및 공여 서열 조성물은 게놈 서열과 순차적으로 접촉되고, 게놈 편집 조성물이 먼저 제공된다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 DAN 결합 도메인을 코딩하는 서열 및 뉴클레아제 도메인을 코딩하는 서열을 포함한다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 DNA 결합 도메인 및 뉴클레아제 도메인을 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, DNA 결합 도메인은 가이드 RNA(gRNA)를 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, DNA 결합 도메인은 TALEN의 DNA 결합 도메인을 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, DNA 결합 도메인은 ZFN의 DNA 결합 도메인을 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 Cas9 뉴클레아제 또는 이의 서열을 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 불활성 Cas9(서열 번호 33, 위치 10에서 아스파르트산(D)에서 알라닌(A)으로의 치환(D10A) 및 위치 840에서 히스티딘(H)에서 알라닌(A)으로의 치환(H840A)을 포함)를 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 짧은 불활성 Cas9(서열 번호 32, 위치 10에서 아스파르트산(D)에서 알라닌(A)으로의 치환(D10A) 및 위치 540의 아스파라긴(N)에서 알라닌(A)으로의 치환(N540A)을 포함)를 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함하거나 추가로 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, IIS형 엔도뉴클레아제는 AciI, Mn1I, AlwI, BbvI, BccI, BceAI, BsmAI, BsmFI, BspCNI, BsrI, BtsCI, HgaI, HphI, HpyAV, MboI1, My1I, PleI, SfaNI, AcuI, BciVI, BfuAI, BmgBI, BmrI, BpmI, BpuEI, BsaI, BseRI, BsgI, BsmI, BspMI, BsrBI, BsrBI, BsrDI, BtgZI, BtsI, EarI, EciI, MmeI, NmeAIII, BbvCI, Bpu10I, BspQI, SapI, BaeI, BsaXI, CspCI, BfiI, MboII, Acc36I, FokI 또는 Clo051을 포함한다. 특정 실시양태에서, IIS형 엔도뉴클레아제는 Clo051을 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 TALEN 또는 이의 뉴클레아제 도메인을 포함하거나 추가로 포함한다. 게놈 편집 조성물의 특정 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 ZFN 또는 이의 뉴클레아제 도메인을 포함하거나 추가로 포함한다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물은 게놈 서열 내 절단을 유도하고, 공여 서열 조성물은 1차 T 세포의 내인성 DNA 복구 기전을 사용하여 삽입된다. 상동 재조합을 포함하는 도입 단계의 특정 실시양태에서, 공여 서열 조성물의 삽입은 게놈 편집 조성물의 DNA 결합 부위를 제거함으로써 게놈 편집 조성물의 추가 활성을 방지한다.

[0248] 본 발명의 상동 재조합 방법의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물 또는 구조물의 뉴클레아제 도메인은 1차 인간 T 세포의 게놈 서열 내 한정된 위치에서 절단을 도입할 수 있고, 동종 이량체 또는 이종 이량체를 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나 이로 이루어질 수 있다. 특정 실시양태에서, 뉴클레아제는 엔도뉴클레아제이다. 동종 이량체 또는 이종 이량체를 포함하는 이펙터 분자를 비롯한 이펙터 분자는 Cas9, Cas9 뉴클레아제 도메인 또는 이의 단편을 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나 이로 이루어질 수 있다. 특정 실시양태에서, Cas9는 촉매 불활성이거나 "불활성화된" Cas9(dCas9)이다. 특정 실시양태에서, Cas9는 Cas9의 촉매 불활성 또는 "불활성화된" 뉴클레아제 도메인이다. 특정 실시양태에서, dCas9는 본원에서 "작은" dCas9 또는 dSaCas9로 지칭되는, 전장의 촉매 불활성화된 Cas9로부터 유래된 더 짧은 서열에 의해 코딩된다.

[0249] 특정 실시양태에서, 불활성된 작은 Cas9(dSaCas9)는 활성의 뉴클레아제에 작동 가능하게 연결된다. 특정 실시양태에서, 본 발명은 DNA 결합 도메인 및 분자 뉴클레아제를 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나 이로 이루어진 융합 단백질을 제공하며, 상기 뉴클레아제는 작은 불활성화된 Cas9(dSaCas9)를 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 dSaCas9는 촉매 부위를 불활성화하는 돌연변이 D10A 및 N580A(밑줄 및 굵은체)를 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 dSaCas9는 하기 아미노산 서열을 포함한다:

```
1    MKRNYILGLA IGITSVGYGI IDYETRDVID AGVRLFKEAN VENNEGRRSK RGARRLKRRR
61   RHRIQRVKKL LFDYNLLTDH SELSGINPYE ARVKGLSQKL SEEEFSAALL HLAKRRGVHN
121  VNEVEEDTGN ELSTKEQISR NSKALEEKYV AELQLERLKK DGEVRGSINR FKTSDYVKEA
181  KQLLKVQKAY HQLDQSFIDT YIDLLETRRT YYEGPGEGSP FGWKDIKEWY EMLMGHCTYF
241  PEELRSVKYA YNADLYNALN DLNNLVITRD ENEKLEYYEK FQIIENVFKQ KKKPTLKQIA
301  KEILVNEEDI KGYRVTSTGK PEFTNLKVYH DIKDITARKE IIENAELLDQ IAKILTIYQS
361  SEDIQEELTN LNSELTQEEI EQISNLKGYT GTHNLSLKAI NLILDELWHT NDNQIAIFNR
421  LKLVPKKVDL SQQKEIPTTL VDDFILSPVV KRSFIQSIKV INAIIKKYGL PNDIIIELAR
481  EKNSKDAQKM INEMQKRNRQ TNERIEEIIR TTGKENAKYL IEKIKLHDMQ EGKCLYSLEA
541  IPLEDLLNNP FNYEVDHIIP RSVSFDNSFN NKVLVKQEEA SKKGNRTPFQ YLSSSDSKIS
601  YETFKKHILN LAKGKGRISK TKKEYLLEER DINRFSVQKD FINRNLVDTR YATRGLMNLL
661  RSYFRVNNLD VKVKSINGGF TSFLRRKWKF KKERNKGYKH HAEDALIIAN ADFIFKEWKK
721  LDKAKKVMEN QMFEEKQAES MPEIETEQEY KEIFITPHQI KHIKDFKDYK YSHRVDKKPN
781  RELINDTLYS TRKDDKGNTL IVNNLNGLYD KDNDKLKKLI NKSPEKLLMY HHDPQTYQKL
841  KLIMEQYGDE KNPLYKYYEE TGNYLTKYSK KDNGPVIKKI KYYGNKLNAH LDITDDYPNS
901  RNKVVKLSLK PYRFDVYLDN GVYKFVTVKN LDVIKKENYY EVNSKCYEEA KKLKKISNQA
961  EFIASFYNND LIKINGELYR VIGVNNDLLN RIEVNMIDIT YREYLENMND KRPPRIIKTI
1021 ASKTQSIKKY STDILGNLYE VKSKKHPQII KKG
```

(서열 번호 32).

[0250]

[0251] 특정 실시양태에서, 본 발명의 dCas9는 스태필로코쿠스 피오제네스(Staphyloccocus pyogenes)로부터 단리 또는 유래된 dCas9를 포함한다. 특정 실시양태에서, dCas9는 촉매 부위를 불활성화하는 dCas9의 아미노산 서열의 위치 10 및 840에서 치환을 갖는 dCas9를 포함한다. 특정 실시양태에서, 이들 치환은 D10A 및 H840A이다. 특정 실시양태에서, dCas9의 아미노산 서열은 하기 서열을 포함한다:

```
1    XDKKYSIGLA IGTNSVGWAV ITDEYKVPSK KFKVLGNTDR HSIKKNLIGA LLFDSGETAE
61   ATRLKRTARR RYTRRKNRIC YLQEIFSNEM AKVDDSFFHR LEESFLVEED KKHERHPIFG
121  NIVDEVAYHE KYPTIYHLRK KLVDSTDKAD LRLIYLALAH MIKFRGHFLI EGDLNPDNSD
181  VDKLFIQLVQ TYNQLFEENP INASGVDAKA ILSARLSKSR RLENLIAQLP GEKKNGLFGN
241  LIALSLGLTP NFKSNFDLAE DAKLQLSKDT YDDDLDNLLA QIGDQYADLF LAAKNLSDAI
301  LLSDILRVNT EITKAPLSAS MIKRYDEHHQ DLTLLKALVR QQLPEKYKEI FFDQSKNGYA
361  GYIDGGASQE EFYKFIKPIL EKMDGTEELL VKLNREDLLR KQRTFDNGSI PHQIHLGELH
421  AILRRQEDFY PFLKDNREKI EKILTFRIPY YVGPLARGNS RFAWMTRKSE ETITPWNFEE
481  VVDKGASAQS FIERMTNFDK NLPNEKVLPK HSLLYEYFTV YNELTKVKYV TEGMRKPAFL
541  SGEQKKAIVD LLFKTNRKVT VKQLKEDYFK KIECFDSVEI SGVEDRFNAS LGTYHDLLKI
601  IKDKDFLDNE ENEDILEDIV LTLTLFEDRE MIEERLKTYA HLFDDKVMKQ LKRRRYTGWG
661  RLSRKLINGI RDKQSGKTIL DFLKSDGFAN RNFMQLIHDD SLTFKEDIQK AQVSGQGDSL
721  HEHIANLAGS PAIKKGILQT VKVVDELVKV MGRHKPENIV IEMARENQTT QKGQKNSRER
781  MKRIEEGIKE LGSQILKEHP VENTQLQNEK LYLYYLQNGR DMYVDQELDI NRLSDYDVDA
841  IVPQSFLKDD SIDNKVLTRS DKNRGKSDNV PSEEVVKKMK NYWRQLLNAK LITQRKFDNL
901  TKAERGGLSE LDKAGFIKRQ LVETRQITKH VAQILDSRMN TKYDENDKLI REVKVITLKS
961  KLVSDFRKDF QFYKVREINN YHHAHDAYLN AVVGTALIKK YPKLESEFVY GDYKVYDVRK
1021 MIAKSEQEIG KATAKYFFYS NIMNFFKTEI TLANGEIRKR PLIETNGETG EIVWDKGRDF
1081 ATVRKVLSMP QVNIVKKTEV QTGGFSKESI LPKRNSDKLI ARKKDWDPKK YGGFDSPTVA
1141 YSVLVVAKVE KGKSKKLKSV KELLGITIME RSSFEKNPID FLEAKGYKEV KKDLIIKLPK
1201 YSLFELENGR KRMLASAGEL QKGNELALPS KYVNFLYLAS HYEKLKGSPE DNEQKQLFVE
1261 QHKHYLDEII EQISEFSKRV ILADANLDKV LSAYNKHRDK PIREQAENII HLFTLTNLGA
1321 PAAFKYFDTT IDRKRYTSTK EVLDATLIHQ SITGLYETRI DLSQLGGD
```

(서열 번호 33).

[0252]

[0253] 본 발명의 특정 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 dCas9 또는 dSaCas9 및 IIS형 엔도뉴클레아제를 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나 이로 이루어질 수 있다. 본원의 특정 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 AciI, Mn1I, AlwI, BbvI, BccI, BceAI, BsmAI, BsmFI, BspCNI, BsrI, BtsCI, HgaI, HphI, HpyAV, Mbo1I, My1I, PleI, SfaNI, AcuI, BciVI, BfuAI, BmgBI, BmrI, BpmI, BpuEI, BsaI, BseRI, BsgI, BsmI, BspMI, BsrBI, BsrBI, BsrDI, BtgZI, BtsI, EarI, EciI, MmeI, NmeAIII, BbvCI, Bpu10I, BspQI, SapI, BaeI, BsaXI, CspCI, BfiI, MboII, Acc36I, FokI 또는 Clo051을 포함하지만 이에 제한되지는 않는 IIS형 엔도뉴클레아제 및 dSaCas9를 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나 이로 이루어질 수 있다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 뉴클레아제 도메인은 dSaCas9 및 Clo051을 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나 이로 이루어질 수 있다. 예시적인 Clo051 뉴클레아제 도메인은 하기의 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지

거나 이로 이루어질 수 있다:

EGIKSNISLLKDELRGQISHISHEYLSLIDLAFDSKQNRLFEMKVLELLVNEYGFKGRH
LGGSRKPDGIVYSTTLEDNFGIIVDTKAYSEGYSLPISQADEMERYVRENSNRDEEVN
PNKWWENFSEEVKKYYFVFISGSFKGKFEEQLRRLSMTTGVNGSAVNVVNLLLGAE
[0254] KIRSGEMTIEELERAMFNNSEFILKY (서열 번호 34).

[0255] 예시적인 dCas9-Clo051 뉴클레아제 도메인은 하기 아미노산 서열을 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나 이로 이루어질 수 있다(Clo051 서열은 밑줄, 링커는 굵은 기울임체, dCas9 서열은 기울임체로 나타냄):

MAPKKKRKVEGIKSNISLLKDELRGQISHISHEYLSLIDLAFDSKQNRLFEMKVLELL
VNEYGFKGRHLGGSRKPDGIVYSTTLEDNFGIIVDTKAYSEGYSLPISQADEMERYVR
ENSNRDEEVNPNKWWENFSEEVKKYYFVFISGSFKGKFEEQLRRLSMTTGVNGSAV
NVVNLLLGAEKIRSGEMTIEELERAMFNNSEFILKY***GGGGS***DKKYSIGLAIGTNSVGWA
VITDEYKVPSKKFKVLGNTDRHSIKKNLIGALLFDSGETAEATRLKRTARRRYTRRKNRICY
LQEIFSNEMAKVDDSFFHRLEESFLVEEDKKHERHPIFGNIVDEVAYHEKYPTIYHLRKKL
VDSTDKADLRLIYLALAHMIKFRGHFLIEGDLNPDNSDVDKLFIQLVQTYNQLFEENPINA
SGVDAKAILSARLSKSRRLENLIAQLPGEKKNGLFGNLIALSLGLTPNFKSNFDLAEDAKLQ
LSKDTYDDDLDNLLAQIGDQYADLFLAAKNLSDAILLSDILRVNTEITKAPLSASMIKRYDE
HHQDLTLLKALVRQQLPEKYKEIFFDQSKNGYAGYIDGGASQEEFYKFIKPILEKMDGTE
ELLVKLNREDLLRKQRTFDNGSIPHQIHLGELHAILRRQEDFYPFLKDNREKIEKILTFRIP
YYVGPLARGNSRFAWMTRKSEETITPWNFEEVVDKGASAQSFIERMTNFDKNLPNEKVLP
KHSLLYEYFTVYNELTKVKYVTEGMRKPAFLSGEQKKAIVDLLFKTNRKVTVKQLKEDYF
KKIECFDSVEISGVEDRFNASLGTYHDLLKIIKDKDFLDNEENEDILEDIVLTLTLFEDREM
IEERLKTYAHLFDDKVMKQLKRRRYTGWGRLSRKLINGIRDKQSGKTILDFLKSDGFANR
NFMQLIHDDSLTFKEDIQKAQVSGQGDSLHEHIANLAGSPAIKKGILQTVKVVDELVKVM
GRHKPENIVIEMARENQTTQKGQKNSRERMKRIEEGIKELGSQILKEHPVENTQLQNEKL
YLYYLQNGRDMYVDQELDINRLSDYDVDAIVPQSFLKDDSIDNKVLTRSDKNRGKSDNVP
SEEVVKKMKNYWRQLLNAKLITQRKFDNLTKAERGGLSELDKAGFIKRQLVETRQITKHV
AQILDSRMNTKYDENDKLIREVKVITLKSKLVSDFRKDFQFYKVREINNYHHAHDAYLNAV
VGTALIKKYPKLESEFVYGDYKVYDVRKMIAKSEQEIGKATAKYFFYSNIMNFFKTEITLAN
GEIRKRPLIETNGETGEIVWDKGRDFATVRKVLSMPQVNIVKKTEVQTGGFSKESILPKRN
SDKLIARKKDWDPKKYGGFDSPTVAYSVLVVAKVEKGKSKKLKSVKELLGITIMERSSFEK
NPIDFLEAKGYKEVKKDLIIKLPKYSLFELENGRKRMLASAGELQKGNELALPSKYVNFLY
LASHYEKLKGSPEDNEQKQLFVEQHKHYLDEIIEQISEFSKRVILADANLDKVLSAYNKHR
DKPIREQAENIIHLFTLTNLGAPAAFKYFDTTIDRKRYTSTKEVLDATLIHQSITGLYETRIDL
SQLGGDGSPKKKRKVSS (서열 번호 40).

[0256]

[0257] 특정 실시양태에서, 1차 인간 T 세포의 게놈 DNA 내 한정된 위치에서 절단을 도입할 수 있는 뉴클레아제는 동종 이량체 또는 이종 이량체를 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나 이로 이루어질 수 있다. 본 발명의 게놈 편집 조성물 또는 구조물의 뉴클레아제 도메인은 전사 활성화제 유사 이펙터 뉴클레아제(TALEN)로부터 단리, 유래 또는 재조합된 뉴클레아제 도메인을 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나 이로 이루어질 수 있다. TALEN은 예정된 DNA 서열 또는 개별 핵산에 결합하는 디자이너 단백질을 만드는 방법을 제공하는 프로그램 가능한 DNA 결합 도메인을 가진 전사 인자이다. 모듈 DNA 결합 도메인은 전사 활성화제 유사(TAL: transcriptional activator-like) 단백질, 또는 더 구체적으로 전사 활성화제 유사 이펙터 뉴클레아제(TALEN)에서 확인되어 관심의 DNA 서열에 결합하는 합성 전사 인자의 새로운(de novo) 생성을 가능하게 하며, 바람직할 경우, 단백질 또는 폴리펩티드 상에 존재하는 제2 도메인이 DNA와 관련된 활성을 수행할 수 있게 한다. TAL 단백질은 생물체 산토모나스(*Xanthomonas*)와 랄스토니아(*Ralstonia*)에서 유래하였다.

[0258] 본 발명의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물 또는 구조물의 뉴클레아제 도메인은 TALEN 및 IIS형 엔도뉴클레아제로부터 단리, 유도 또는 재조합된 뉴클레아제 도메인을 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나 이로 이루어질 수 있다. 본 발명의 특정 실시양태에서, IIS형 엔도뉴클레아제는 AciI, Mn1I, AlwI, BbvI, BccI,

BceAI, BsmAI, BsmFI, BspCNI, BsrI, BtsCI, HgaI, HphI, HpyAV, MboII, MylI, PleI, SfaNI, AcuI, BciVI, BfuAI, BmgBI, BmrI, BpmI, BpuEI, BsaI, BseRI, BsgI, BsmI, BspMI, BsrBI, BsrBI, BsrDI, BtgZI, BtsI, EarI, EciI, MmeI, NmeAIII, BbvCI, Bpu10I, BspQI, SapI, BaeI, BsaXI, CspCI, BfiI, MboII, Acc36I, FokI 또는 Clo051을 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나 이로 이루어질 수 있다. 본 발명의 특정 실시양태에서, IIS형 엔도뉴클레아제는 Clo051(서열 번호 34)을 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나 이로 이루어질 수 있다.

[0259] 본 발명의 특정 실시양태에서, 게놈 편집 조성물 또는 구조물의 뉴클레아제 도메인은 아연 핑거 뉴클레아제(ZFN) 및 IIS형 엔도뉴클레아제로부터 단리, 유래 또는 재조합된 뉴클레아제 도메인을 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나 이로 이루어질 수 있다. 본 발명의 특정 실시양태에서, IIS형 엔도뉴클레아제는 AciI, MnlI, AlwI, BbvI, BccI, BceAI, BsmAI, BsmFI, BspCNI, BsrI, BtsCI, HgaI, HphI, HpyAV, MboII, MylI, PleI, SfaNI, AcuI, BciVI, BfuAI, BmgBI, BmrI, BpmI, BpuEI, BsaI, BseRI, BsgI, BsmI, BspMI, BsrBI, BsrBI, BsrDI, BtgZI, BtsI, EarI, EciI, MmeI, NmeAIII, BbvCI, Bpu10I, BspQI, SapI, BaeI, BsaXI, CspCI, BfiI, MboII, Acc36I, FokI 또는 Clo051을 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나 이로 이루어질 수 있다. 본 발명의 특정 실시양태에서, IIS형 엔도뉴클레아제는 Clo051(서열 번호 34)을 포함하거나, 이로 본질적으로 이루어지거나 이로 이루어질 수 있다.

[0260] 본원의 게놈 편집 조성물 또는 구조물의 특정 실시양태에서, DNA 결합 도메인 및 뉴클레아제 도메인은 공유적으로 결합될 수 있다. 예를 들어, 융합 단백질은 DNA 결합 도메인 및 뉴클레아제 도메인을 포함할 수 있다. 본 발명의 게놈 편집 조성물 또는 구조물의 특정 실시양태에서, DNA 결합 도메인 및 뉴클레아제 도메인은 비공유 결합을 통해 작동 가능하게 연결될 수 있다.

[0261] **변형된 T 세포로부터의 분비 단백질**

[0262] 본 발명의 조성물 및 방법의 특정 실시양태에서, 변형된 T 세포는 치료 단백질을 발현한다. 본 발명의 치료 단백질은 분비 단백질을 포함한다. 바람직하게는, 치료와 관련하여, 치료 단백질은 분비 인간 단백질을 포함하는 인간 단백질이다. 본 발명의 CAR-T 세포에 의해 발현되거나 분비될 때, CAR-T 세포 및 이로부터 분비된 치료 단백질을 포함하는 조합물은 단일 요법으로 간주할 수 있다. 그러나 본 발명의 CAR-T 세포는 제2 약제와의 병용 요법으로 투여될 수 있다. 본 발명의 변형된 T 세포에 의해 발현되거나 분비될 수 있는 인간 분비 단백질의 데이터베이스는 proteinatlas.org/search/protein_class:Predicted%20secreted%20proteins에서 확인될 수 있으며, 그 내용은 본원에 참고로 포함된다. 예시적인 인간 분비 단백질을 제공하지만, 표 1에서의 인간 분비 단백질에 제한되지 않는다.

[0263] <표 1>

예시적인 인간 분비 단백질

유전자	Ensembl 번호	유전자 설명
A1BG	ENSG00000121410	알파-1-B 당단백질
A2M	ENSG00000175899	알파-2-마크로글로불린
A2ML1	ENSG00000166535	알파-2-마크로글로불린 유사 1
A4GNT	ENSG00000118017	알파-1,4-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라아제
AADACL2	ENSG00000197953	아릴아세트아미드 디아세틸라아제 유사 2
AANAT	ENSG00000129673	아르알킬아민 N-아세틸트랜스퍼라아제
ABCG1	ENSG00000160179	ATP-결합 카세트, 서브 패밀리 G (WHITE), 구성원 1
ABHD1	ENSG00000143994	Ab히드롤라아제 도메인 함유 1
ABHD10	ENSG00000144827	Ab히드롤라아제 도메인 함유 10
ABHD14A	ENSG00000248487	Ab히드롤라아제 도메인 함유 14A
ABHD15	ENSG00000168792	Ab히드롤라아제 도메인 함유 15
ABI3BP	ENSG00000154175	ABI 패밀리, 구성원 3 (NESH) 결합 단백질
AC008641.1	ENSG00000279109	

[0264]

AC009133.22	ENSG00000277669	
AC009491.2	ENSG00000279664	
AC011513.3	ENSG00000267881	
AC136352.5	ENSG00000277666	
AC145212.4	ENSG00000277400	MaFF 상호작용 단백질
AC233755.1	ENSG00000275063	
ACACB	ENSG00000076555	아세틸 CoA 카르복실라아제 베타
ACAN	ENSG00000157766	아그레칸
ACE	ENSG00000159640	안지오텐신 I 전환 효소
ACHE	ENSG00000087085	아세틸콜린에스테라제 (Yt 혈액형)
ACP2	ENSG00000134575	산 포스파타아제 2, 리소좀
ACP5	ENSG00000102575	산 포스파타아제 5, 타르트레이트 내성
ACP6	ENSG00000162836	산 포스파타아제 6, 리소포스파티드
ACPP	ENSG00000014257	산 포스파타아제, 전립선
ACR	ENSG00000100312	아크로신
ACRBP	ENSG00000111644	아크로신 결합 단백질
ACRV1	ENSG00000134940	선체 소포 단백질 1
ACSF2	ENSG00000167107	아실 CoA 신테타아제 패밀리 구성원 2
ACTL10	ENSG00000182584	액틴 유사 10
ACVR1	ENSG00000115170	액티빈 A 수용체, I형
ACVR1C	ENSG00000123612	액티빈 A 수용체, IC형
ACVRL1	ENSG00000139567	액티빈 A 수용체 II 형 유사 1
ACYP1	ENSG00000119640	아실포스파타아제 1, 적혈구(일반)형
ACYP2	ENSG00000170634	아실포스파타아제 2, 근육형
ADAM10	ENSG00000137845	ADAM 메탈로펩티다아제 도메인 10
ADAM12	ENSG00000148848	ADAM 메탈로펩티다아제 도메인 12
ADAM15	ENSG00000143537	ADAM 메탈로펩티다아제 도메인 15
ADAM17	ENSG00000151694	ADAM 메탈로펩티다아제 도메인 17
ADAM18	ENSG00000168619	ADAM 메탈로펩티다아제 도메인 18
ADAM22	ENSG00000008277	ADAM 메탈로펩티다아제 도메인 22
ADAM28	ENSG00000042980	ADAM 메탈로펩티다아제 도메인 28
ADAM29	ENSG00000168594	ADAM 메탈로펩티다아제 도메인 29
ADAM32	ENSG00000197140	ADAM 메탈로펩티다아제 도메인 32
ADAM33	ENSG00000149451	ADAM 메탈로펩티다아제 도메인 33
ADAM7	ENSG00000069206	ADAM 메탈로펩티다아제 도메인 7
ADAM8	ENSG00000151651	ADAM 메탈로펩티다아제 도메인 8
ADAM9	ENSG00000168615	ADAM 메탈로펩티다아제 도메인 9
ADAMDEC1	ENSG00000134028	ADAM 유사, 데시신 1
ADAMTS1	ENSG00000154734	트롬보스폰딘 1형 모티프 1을 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS10	ENSG00000142303	트롬보스폰딘 1형 모티프 10을 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS12	ENSG00000151388	트롬보스폰딘 1형 모티프 12를 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS13	ENSG00000160323	트롬보스폰딘 1형 모티프 13을 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS14	ENSG00000138316	트롬보스폰딘 1형 모티프 14를 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제

[0265]

ADAMTS15	ENSG00000166106	트롬보스폰딘 1형 모티프 15를 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS16	ENSG00000145536	트롬보스폰딘 1형 모티프 16을 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS17	ENSG00000140470	트롬보스폰딘 1형 모티프 17을 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS18	ENSG00000140873	트롬보스폰딘 1형 모티프 18을 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS19	ENSG00000145808	트롬보스폰딘 1형 모티프 19를 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS2	ENSG00000087116	트롬보스폰딘 1형 모티프 2를 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS20	ENSG00000173157	트롬보스폰딘 1형 모티프 20을 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS3	ENSG00000156140	트롬보스폰딘 1형 모티프 3을 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS5	ENSG00000154736	트롬보스폰딘 1형 모티프 5를 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS6	ENSG00000049192	트롬보스폰딘 1형 모티프 6을 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS7	ENSG00000136378	트롬보스폰딘 1형 모티프 7을 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS8	ENSG00000134917	트롬보스폰딘 1형 모티프 8을 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTS9	ENSG00000163638	트롬보스폰딘 1형 모티프 9를 갖는 ADAM 메탈로펩티다아제
ADAMTSL1	ENSG00000178031	ADAMTS 유사 1
ADAMTSL2	ENSG00000197859	ADAMTS 유사 2
ADAMTSL3	ENSG00000156218	ADAMTS 유사 3
ADAMTSL4	ENSG00000143382	ADAMTS 유사 4
ADAMTSL5	ENSG00000185761	ADAMTS 유사 5
ADCK1	ENSG00000063761	AarF 도메인 함유 키나아제 1
ADCYAP1	ENSG00000141433	아데닐레이트 시클라아제 활성화 폴리펩티드 1 (뇌하수체)
ADCYAP1R1	ENSG00000078549	아데닐레이트 시클라아제 활성화 폴리펩티드 1 (뇌하수체) 수용체 I 형
ADGRA3	ENSG00000152990	부착(adhesion) G 단백질 결합 수용체 A3
ADGRB2	ENSG00000121753	부착 G 단백질 결합 수용체 B2
ADGRD1	ENSG00000111452	부착 G 단백질 결합 수용체 D1
ADGRE3	ENSG00000131355	부착 G 단백질 결합 수용체 E3
ADGRE5	ENSG00000123146	부착 G 단백질 결합 수용체 E5
ADGRF1	ENSG00000153292	부착 G 단백질 결합 수용체 F1
ADGRG1	ENSG00000205336	부착 G 단백질 결합 수용체 G1
ADGRG5	ENSG00000159618	부착 G 단백질 결합 수용체 G5
ADGRG6	ENSG00000112414	부착 G 단백질 결합 수용체 G6
ADGRV1	ENSG00000164199	부착 G 단백질 결합 수용체 V1
ADI1	ENSG00000182551	아시레덕톤 디옥시게나아제 1
ADIG	ENSG00000182035	아디포게닌
ADIPOQ	ENSG00000181092	아디포넥틴, C1Q 및 콜라겐 도메인 함유
ADM	ENSG00000148926	아드레노메듈린
ADM2	ENSG00000128165	아드레노메듈린 2
ADM5	ENSG00000224420	아드레노메듈린 5 (추정)
ADPGK	ENSG00000159322	ADP 의존성 글루코키나아제
ADPRHL2	ENSG00000116863	ADP-리보실히드롤라아제 유사 2
AEBP1	ENSG00000106624	AE 결합 단백질 1
AFM	ENSG00000079557	아파민
AFP	ENSG00000081051	알파-태아단백질
AGA	ENSG00000038002	아스파르틸글루코사미니다아제

[0266]

[0267]

AGER	ENSG00000204305	최종 당화 산물(Advanced glycosylation end product) 특이적 수용체
AGK	ENSG00000006530	아실글리세롤 키나아제
AGPS	ENSG00000018510	알킬글리세론 포스페이트 신타아제
AGR2	ENSG00000106541	전방 그래디언트(Anterior gradient) 2, 단백질 디설피드 이소머라아제 패밀리 구성원
AGR3	ENSG00000173467	전방 그래디언트 3, 단백질 디설피드 이소머라아제 패밀리 구성원
AGRN	ENSG00000188157	아그린
AGRP	ENSG00000159723	아구티(Agouti) 관련 신경펩티드
AGT	ENSG00000135744	안지오텐시노겐 (세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 A, 구성원 8)
AGTPBP1	ENSG00000135049	ATP/GTP 결합 단백질 1
AGTRAP	ENSG00000177674	안지오텐신 II 수용체 관련 단백질
AHCYL2	ENSG00000158467	아데노실호모시스테이나아제 유사 2
AHSG	ENSG00000145192	알파-2-HS-당단백질
AIG1	ENSG00000146416	안드로겐 유도성 1
AK4	ENSG00000162433	아데닐레이트 키나아제 4
AKAP10	ENSG00000108599	A 키나아제 (PRKA) 고정(anchor) 단백질 10
AKR1C1	ENSG00000187134	알돌-케토 리덕타아제 패밀리 1, 구성원 C1
AL356289.1	ENSG00000279096	
AL589743.1	ENSG00000279508	
ALAS2	ENSG00000158578	5'-아미노레불리네이트 신타아제 2
ALB	ENSG00000163631	알부민
ALDH9A1	ENSG00000143149	알데히드 디히드로게나제 9 패밀리, 구성원 A1
ALDOA	ENSG00000149925	알돌라아제 A, 프룩토오스 이인산
ALG1	ENSG00000033011	ALG1, 키토비오실디포스포돌리콜 베타-만노실트랜스퍼라아제
ALG5	ENSG00000120697	ALG5, 돌리킬-포스페이트 베타-글루코실트랜스퍼라아제
ALG9	ENSG00000086848	ALG9, 알파-1,2-만노실트랜스퍼라아제
ALKBH1	ENSG00000100601	AlkB 상동체 1, 히스톤 H2A 디옥시게나아제
ALKBH5	ENSG00000091542	AlkB 상동체 5, RNA 디메틸라아제
ALPI	ENSG00000163295	알칼리 포스파타아제, 장
ALPL	ENSG00000162551	알칼리 포스파타아제, 간/뼈/신장
ALPP	ENSG00000163283	알칼리 포스파타아제, 태반
ALPPL2	ENSG00000163286	알칼리 포스파타아제, 태반 유사 2
AMBN	ENSG00000178522	아멜로블라스틴 (법랑질 기질단백질)
AMBP	ENSG00000106927	알파-1-마이크로글로불린/비쿠닌 전구체
AMELX	ENSG00000125363	아멜로제닌, X 연관
AMELY	ENSG00000099721	아멜로제닌, Y 연관
AMH	ENSG00000104899	항-뮬러리안 호르몬
AMICA1	ENSG00000160593	부착 분자, CXADR 항원 1과 상호작용함
AMPD1	ENSG00000116748	아데노신 모노포스페이트 디아미나아제 1
AMTN	ENSG00000187689	아멜로틴
AMY1A	ENSG00000237763	아밀라아제, 알파 1A (타액)
AMY1B	ENSG00000174876	아밀라아제, 알파 1B (타액)
AMY1C	ENSG00000187733	아밀라아제, 알파 1C (타액)

AMY2A	ENSG00000243480	아밀라아제, 알파 2A (췌장)
AMY2B	ENSG00000240038	아밀라아제, 알파 2B (췌장)
ANG	ENSG00000214274	안지오제닌, 리보뉴클레아제, RNase A 패밀리, 5
ANGEL1	ENSG00000013523	앤젤(Angel) 상동체 1 (초파리)
ANGPT1	ENSG00000154188	안지오포이에틴 1
ANGPT2	ENSG00000091879	안지오포이에틴 2
ANGPT4	ENSG00000101280	안지오포이에틴 4
ANGPTL1	ENSG00000116194	안지오포이에틴 유사 1
ANGPTL2	ENSG00000136859	안지오포이에틴 유사 2
ANGPTL3	ENSG00000132855	안지오포이에틴 유사 3
ANGPTL4	ENSG00000167772	안지오포이에틴 유사 4
ANGPTL5	ENSG00000187151	안지오포이에틴 유사 5
ANGPTL6	ENSG00000130812	안지오포이에틴 유사 6
ANGPTL7	ENSG00000171819	안지오포이에틴 유사 7
ANK1	ENSG00000029534	안키린 1, 적혈구
ANKDD1A	ENSG00000166839	안키린 반복 및 사멸 도메인 함유 1A
ANKRD54	ENSG00000100124	안키린 반복 도메인 54
ANKRD60	ENSG00000124227	안키린 반복 도메인 60
ANO7	ENSG00000146205	아녹타민 7
ANOS1	ENSG00000011201	아노스민 1
ANTXR1	ENSG00000169604	탄저균 독소 수용체 1
AOAH	ENSG00000136250	아실옥시아실 히드롤라아제 (호중구)
AOC1	ENSG00000002726	아민 옥시다아제, 구리 함유 1
AOC2	ENSG00000131480	아민 옥시다아제, 구리 함유 2 (망막 특이적)
AOC3	ENSG00000131471	아민 옥시다아제, 구리 함유 3
AP000721.4	ENSG00000256100	
AP000866.1	ENSG00000279342	
APBB1	ENSG00000166313	아밀로이드 베타 (A4) 전구 단백질 결합, 패밀리 B, 구성원 1 (Fe65)
APCDD1	ENSG00000154856	선종성 결장 폴립증 하향 조절성 1
APCS	ENSG00000132703	아밀로이드 P 요소, 혈청
APELA	ENSG00000248329	아펠린 수용체 초기 내인성 리간드
APLN	ENSG00000171388	아펠린
APLP2	ENSG00000084234	아밀로이드 베타 (A4) 전구체 유사 단백질 2
APOA1	ENSG00000118137	아포리포단백질 A-I
APOA1BP	ENSG00000163382	아포리포단백질 A-I 결합 단백질
APOA2	ENSG00000158874	아포리포단백질 A-II
APOA4	ENSG00000110244	아포리포단백질 A-IV
APOA5	ENSG00000110243	아포리포단백질 A-V
APOB	ENSG00000084674	아포리포단백질 B
APOC1	ENSG00000130208	아포리포단백질 C-I
APOC2	ENSG00000234906	아포리포단백질 C-II
APOC3	ENSG00000110245	아포리포단백질 C-III
APOC4	ENSG00000267467	아포리포단백질 C-IV

[0268]

APOC4-APOC2	ENSG00000224916	APOC4-APOC2 번역초과(readthrough) MD 후보)
APOD	ENSG00000189058	아포리포단백질 D
APOE	ENSG00000130203	아포리포단백질 E
APOF	ENSG00000175336	아포리포단백질 F
APOH	ENSG00000091583	아포리포단백질 H (베타-2-당단백질 I)
APOL1	ENSG00000100342	아포리포단백질 L, 1
APOL3	ENSG00000128284	아포리포단백질 L, 3
APOM	ENSG00000204444	아포리포단백질 M
APOOL	ENSG00000155008	아포리포단백질 O 유사
ARCN1	ENSG00000095139	아르카인(Archain) 1
ARFIP2	ENSG00000132254	ADP-리보실화 인자 상호작용 단백질 2
ARHGAP36	ENSG00000147256	Rho GTP아제 활성화 단백질 36
ARHGAP6	ENSG00000047648	Rho GTP아제 활성화 단백질 6
ARHGEF4	ENSG00000136002	Rho 구아닌 뉴클레오티드 교환 인자 (GEF) 4
ARL16	ENSG00000214087	ADP 리보실화 인자 유사 16
ARMC5	ENSG00000140691	아르마딜로 반복 함유 5
ARNTL	ENSG00000133794	아릴 탄화수소 수용체 핵 전좌체(translocator) 유사
ARSA	ENSG00000100299	아릴설파타아제 A
ARSB	ENSG00000113273	아릴설파타아제 B
ARSE	ENSG00000157399	아릴설파타아제 E (점상연골형성 장애증 1)
ARSG	ENSG00000141337	아릴설파타아제 G
ARSI	ENSG00000183876	아릴설파타아제 패밀리, 구성원 I
ARSK	ENSG00000164291	아릴설파타아제 패밀리, 구성원 K
ART3	ENSG00000156219	ADP-리보실트랜스퍼라아제 3
ART4	ENSG00000111339	ADP-리보실트랜스퍼라아제 4 (돔브록(Dombrock) 혈액형)
ART5	ENSG00000167311	ADP-리보실트랜스퍼라아제 5
ARTN	ENSG00000117407	아르테민
ASAH1	ENSG00000104763	N-아실스핑고신 아미도히드롤라아제 (산 세라미다아제) 1
ASAH2	ENSG00000188611	N-아실스핑고신 아미도히드롤라아제 (비-리소좀 세라미다아제) 2
ASCL1	ENSG00000139352	아캐트 스큐트(Achaete-scute) 패밀리 bHLH 전사 인자 1
ASIP	ENSG00000101440	아구티 신호전달 단백질
ASPN	ENSG00000106819	아스포린
ASTL	ENSG00000188886	아스타신 유사 메탈로-엔도펩티다아제 (M12 패밀리)
ATAD5	ENSG00000176208	ATP아제 패밀리, AAA 도메인 함유 5
ATAT1	ENSG00000137343	알파 튜불린 아세틸트랜스퍼라아제 1
ATG2A	ENSG00000110046	자가 포식 관련 2A
ATG5	ENSG00000057663	자가 포식 관련 5
ATMIN	ENSG00000166454	ATM 인터랙터(interactor)
ATP13A1	ENSG00000105726	ATP아제 13A1형
ATP5F1	ENSG00000116459	ATP 신타아제, H+ 수송, 미토콘드리아 Fo 복합체, 서브유닛 B1
ATP6AP1	ENSG00000071553	ATP아제, H+ 수송, 리소좀 보조 단백질 1
ATP6AP2	ENSG00000182220	ATP아제, H+ 수송, 리소좀 보조 단백질 2
ATPAF1	ENSG00000123472	ATP 신타아제 미토콘드리아 F1 복합체 어셈블리 인자 1

[0269]

AUH	ENSG00000148090	AU RNA 결합 단백질/에노일-CoA 히드라타아제
AVP	ENSG00000101200	아르기닌 바소프레신
AXIN2	ENSG00000168646	액신 2
AZGP1	ENSG00000160862	알파-2-당단백질 1, 아연 결합
AZU1	ENSG00000172232	아주로시딘 1
B2M	ENSG00000166710	베타-2-마이크로글로불린
B3GALNT1	ENSG00000169255	베타-1,3-N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라아제 1 (글로보시드 혈액형)
B3GALNT2	ENSG00000162885	베타-1,3-N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라아제 2
B3GALT1	ENSG00000172318	UDP-Gal:베타GlcNAc 베타 1,3-갈락토실트랜스퍼라아제, 폴리펩티드 1
B3GALT4	ENSG00000235863	UDP-Gal:베타GlcNAc 베타 1,3-갈락토실트랜스퍼라아제, 폴리펩티드 4
B3GALT5	ENSG00000183778	UDP-Gal:베타GlcNAc 베타 1,3-갈락토실트랜스퍼라아제, 폴리펩티드 5
B3GALT6	ENSG00000176022	UDP-Gal:베타Gal 베타 1,3-갈락토실트랜스퍼라아제 폴리펩티드 6
B3GAT3	ENSG00000149541	베타-1,3-글루쿠로닐트랜스퍼라아제 3
B3GLCT	ENSG00000187676	베타 3-글루코실트랜스퍼라아제
B3GNT3	ENSG00000179913	UDP-GlcNAc:베타Gal 베타-1,3-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라아제 3
B3GNT4	ENSG00000176383	UDP-GlcNAc:베타Gal 베타-1,3-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라아제 4
B3GNT6	ENSG00000198488	UDP-GlcNAc:베타Gal 베타-1,3-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라아제 6
B3GNT7	ENSG00000156966	UDP-GlcNAc:베타Gal 베타-1,3-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라아제 7
B3GNT8	ENSG00000177191	UDP-GlcNAc:베타Gal 베타-1,3-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라아제 8
B3GNT9	ENSG00000237172	UDP-GlcNAc:베타Gal 베타-1,3-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라아제 9
B4GALNT1	ENSG00000135454	베타-1,4-N-아세틸-갈락토사미닐 트랜스퍼라아제 1
B4GALNT3	ENSG00000139044	베타-1,4-N-아세틸-갈락토사미닐 트랜스퍼라아제 3
B4GALNT4	ENSG00000182272	베타-1,4-N-아세틸-갈락토사미닐 트랜스퍼라아제 4
B4GALT4	ENSG00000121578	UDP-Gal:베타GlcNAc 베타 1,4-갈락토실트랜스퍼라아제, 폴리펩티드 4
B4GALT5	ENSG00000158470	UDP-Gal:베타GlcNAc 베타 1,4-갈락토실트랜스퍼라아제, 폴리펩티드 5
B4GALT6	ENSG00000118276	UDP-Gal:베타GlcNAc 베타 1,4-갈락토실트랜스퍼라아제, 폴리펩티드 6
B4GAT1	ENSG00000174684	베타-1,4-글루쿠로닐트랜스퍼라아제 1
B9D1	ENSG00000108641	B9 단백질 도메인 1
BACE2	ENSG00000182240	베타-부위 APP-절단 효소 2
BAGE5	ENSG00000279973	B 흑색종 항원 패밀리, 구성원 5
BCAM	ENSG00000187244	기저 세포 부착 분자 (루더런(Lutheran) 혈액형)
BCAN	ENSG00000132692	브레비칸
BCAP29	ENSG00000075790	B 세포 수용체 관련 단백질 29
BCAR1	ENSG00000050820	유방암 항-에스트로겐 내성 1
BCHE	ENSG00000114200	부티릴콜린에스테라아제
BCKDHB	ENSG00000083123	분지쇄 케토산 디히드로게나제 E1, 베타 폴리펩티드
BDNF	ENSG00000176697	뇌유래 신경 영양 인자

[0270]

BGLAP	ENSG00000242252	뼈 감마-카르복시글루타메이트 (gla) 단백질
BGN	ENSG00000182492	비글리칸
BLVRB	ENSG00000090013	빌리베르딘 리덕타아제 B
BMP1	ENSG00000168487	골형성 단백질 1
BMP10	ENSG00000163217	골형성 단백질 10
BMP15	ENSG00000130385	골형성 단백질 15
BMP2	ENSG00000125845	골형성 단백질 2
BMP3	ENSG00000152785	골형성 단백질 3
BMP4	ENSG00000125378	골형성 단백질 4
BMP6	ENSG00000153162	골형성 단백질 6
BMP7	ENSG00000101144	골형성 단백질 7
BMP8A	ENSG00000183682	골형성 단백질 8a
BMP8B	ENSG00000116985	골형성 단백질 8b
BMPER	ENSG00000164619	BMP 결합 내피 조절인자
BNC1	ENSG00000169594	바소뉴클린 1
BOC	ENSG00000144857	BOC 세포 부착 관련, 종양유전자 조절성
BOD1	ENSG00000145919	세포 분열에서 염색체의 2배향(biorientation) 1
BOLA1	ENSG00000178096	BolA 패밀리 구성원 1
BPI	ENSG00000101425	살균/투과성 증가 단백질
BPIFA1	ENSG00000198183	BPI 폴드 함유 패밀리 A, 구성원 1
BPIFA2	ENSG00000131050	BPI 폴드 함유 패밀리 A, 구성원 2
BPIFA3	ENSG00000131059	BPI 폴드 함유 패밀리 A, 구성원 3
BPIFB1	ENSG00000125999	BPI 폴드 함유 패밀리 B, 구성원 1
BPIFB2	ENSG00000078898	BPI 폴드 함유 패밀리 B, 구성원 2
BPIFB3	ENSG00000186190	BPI 폴드 함유 패밀리 B, 구성원 3
BPIFB4	ENSG00000186191	BPI 폴드 함유 패밀리 B, 구성원 4
BPIFB6	ENSG00000167104	BPI 폴드 함유 패밀리 B, 구성원 6
BPIFC	ENSG00000184459	BPI 폴드 함유 패밀리 C
BRF1	ENSG00000185024	BRF1, RNA 폴리머라아제 III 전사 개시 인자 90 kDa 서브유닛
BRINP1	ENSG00000078725	골형성 단백질/레티노산 유도성 신경-특이적 1
BRINP2	ENSG00000198797	골형성 단백질/레티노산 유도성 신경-특이적 2
BRINP3	ENSG00000162670	골형성 단백질/레티노산 유도성 신경-특이적 3
BSG	ENSG00000172270	바시긴(Ok 혈액형)
BSPH1	ENSG00000188334	정자 단백질 상동체 1의 결합제
BST1	ENSG00000109743	골수 간질세포 항원 1
BTBD17	ENSG00000204347	BTB (POZ) 도메인 함유 17
BTD	ENSG00000169814	비오티니다아제
BTN2A2	ENSG00000124508	부티로필린, 서브패밀리 2, 구성원 A2
BTN3A1	ENSG00000026950	부티로필린, 서브패밀리 3, 구성원 A1
BTN3A2	ENSG00000186470	부티로필린, 서브패밀리 3, 구성원 A2
BTN3A3	ENSG00000111801	부티로필린, 서브패밀리 3, 구성원 A3
C10orf10	ENSG00000165507	염색체 10 오픈 리딩 프레임 10
C10orf99	ENSG00000188373	염색체 10 오픈 리딩 프레임 99

[0271]

[0272]

C11orf1	ENSG00000137720	염색체 11 오픈 리딩 프레임 1
C11orf24	ENSG00000171067	염색체 11 오픈 리딩 프레임 24
C11orf45	ENSG00000174370	염색체 11 오픈 리딩 프레임 45
C11orf94	ENSG00000234776	염색체 11 오픈 리딩 프레임 94
C12orf10	ENSG00000139637	염색체 12 오픈 리딩 프레임 10
C12orf49	ENSG00000111412	염색체 12 오픈 리딩 프레임 49
C12orf73	ENSG00000204954	염색체 12 오픈 리딩 프레임 73
C12orf76	ENSG00000174456	염색체 12 오픈 리딩 프레임 76
C14orf80	ENSG00000185347	염색체 14 오픈 리딩 프레임 80
C14orf93	ENSG00000100802	염색체 14 오픈 리딩 프레임 93
C16orf89	ENSG00000153446	염색체 16 오픈 리딩 프레임 89
C16orf90	ENSG00000215131	염색체 16 오픈 리딩 프레임 90
C17orf67	ENSG00000214226	염색체 17 오픈 리딩 프레임 67
C17orf75	ENSG00000108666	염색체 17 오픈 리딩 프레임 75
C17orf99	ENSG00000187997	염색체 17 오픈 리딩 프레임 99
C18orf54	ENSG00000166845	염색체 18 오픈 리딩 프레임 54
C19orf47	ENSG00000160392	염색체 19 오픈 리딩 프레임 47
C19orf70	ENSG00000174917	염색체 19 오픈 리딩 프레임 70
C19orf80	ENSG00000130173	염색체 19 오픈 리딩 프레임 80
C1GALT1	ENSG00000106392	코어 1 신타아제, 당단백질-N-아세틸갈락토사민 3-베타-갈락토실트랜스퍼라아제 1
C1orf127	ENSG00000175262	염색체 1 오픈 리딩 프레임 127
C1orf159	ENSG00000131591	염색체 1 오픈 리딩 프레임 159
C1orf198	ENSG00000119280	염색체 1 오픈 리딩 프레임 198
C1orf234	ENSG00000227868	염색체 1 오픈 리딩 프레임 234
C1orf54	ENSG00000118292	염색체 1 오픈 리딩 프레임 54
C1orf56	ENSG00000143443	염색체 1 오픈 리딩 프레임 56
C1QA	ENSG00000173372	보체 성분 1, q 서브 구성요소, A쇄
C1QB	ENSG00000173369	보체 성분 1, q 서브 구성요소, B쇄
C1QC	ENSG00000159189	보체 성분 1, q 서브 구성요소, C쇄
C1QL1	ENSG00000131094	보체 성분 1, q 서브 구성요소 유사 1
C1QL2	ENSG00000144119	보체 성분 1, q 서브 구성요소 유사 2
C1QL3	ENSG00000165985	보체 성분 1, q 서브 구성요소 유사 3
C1QL4	ENSG00000186897	보체 성분 1, q 서브 구성요소 유사 4
C1QTNF1	ENSG00000173918	C1q 및 종양 괴사 인자 관련 단백질 1
C1QTNF2	ENSG00000145861	C1q 및 종양 괴사 인자 관련 단백질 2
C1QTNF3	ENSG00000082196	C1q 및 종양 괴사 인자 관련 단백질 3
C1QTNF4	ENSG00000172247	C1q 및 종양 괴사 인자 관련 단백질 4
C1QTNF5	ENSG00000223953	C1q 및 종양 괴사 인자 관련 단백질 5
C1QTNF7	ENSG00000163145	C1q 및 종양 괴사 인자 관련 단백질 7
C1QTNF8	ENSG00000184471	C1q 및 종양 괴사 인자 관련 단백질 8
C1QTNF9	ENSG00000240654	C1q 및 종양 괴사 인자 관련 단백질 9
C1QTNF9B	ENSG00000205863	C1q 및 종양 괴사 인자 관련 단백질 9B

C1R	ENSG00000159403	보체 성분 1, r 서브 구성요소
C1RL	ENSG00000139178	보체 성분 1, r 서브 구성요소 유사
C1S	ENSG00000182326	보체 성분 1, s 서브 구성요소
C2	ENSG00000166278	보체 성분 2
C21orf33	ENSG00000160221	염색체 21 오픈 리딩 프레임 33
C21orf62	ENSG00000205929	염색체 21 오픈 리딩 프레임 62
C22orf15	ENSG00000169314	염색체 22 오픈 리딩 프레임 15
C22orf46	ENSG00000184208	염색체 22 오픈 리딩 프레임 46
C2CD2	ENSG00000157617	C2 칼슘 의존성 도메인 함유 2
C2orf40	ENSG00000119147	염색체 2 오픈 리딩 프레임 40
C2orf66	ENSG00000187944	염색체 2 오픈 리딩 프레임 66
C2orf69	ENSG00000178074	염색체 2 오픈 리딩 프레임 69
C2orf78	ENSG00000187833	염색체 2 오픈 리딩 프레임 78
C3	ENSG00000125730	보체 성분 3
C3orf33	ENSG00000174928	염색체 3 오픈 리딩 프레임 33
C3orf58	ENSG00000181744	염색체 3 오픈 리딩 프레임 58
C4A	ENSG00000244731	보체 성분 4A (로저스 혈액형)
C4B	ENSG00000224389	보체 성분 4B (치도(Chido) 혈액형)
C4BPA	ENSG00000123838	보체 성분 4 결합 단백질, 알파
C4BPB	ENSG00000123843	보체 성분 4 결합 단백질, 베타
C4orf26	ENSG00000174792	염색체 4 오픈 리딩 프레임 26
C4orf48	ENSG00000243449	염색체 4 오픈 리딩 프레임 48
C5	ENSG00000106804	보체 성분 5
C5orf46	ENSG00000178776	염색체 5 오픈 리딩 프레임 46
C6	ENSG00000039537	보체 성분 6
C6orf120	ENSG00000185127	염색체 6 오픈 리딩 프레임 120
C6orf15	ENSG00000204542	염색체 6 오픈 리딩 프레임 15
C6orf25	ENSG00000204420	염색체 6 오픈 리딩 프레임 25
C6orf58	ENSG00000184530	염색체 6 오픈 리딩 프레임 58
C7	ENSG00000112936	보체 성분 7
C7orf57	ENSG00000164746	염색체 7 오픈 리딩 프레임 57
C7orf73	ENSG00000243317	염색체 7 오픈 리딩 프레임 73
C8A	ENSG00000157131	보체 성분 8, 알파 폴리펩티드
C8B	ENSG00000021852	보체 성분 8, 베타 폴리펩티드
C8G	ENSG00000176919	보체 성분 8, 감마 폴리펩티드
C9	ENSG00000113600	보체 성분 9
C9orf47	ENSG00000186354	염색체 9 오픈 리딩 프레임 47
CA10	ENSG00000154975	탄산 무수화효소 X
CA11	ENSG00000063180	탄산 무수화효소 XI
CA6	ENSG00000131686	탄산 무수화효소 VI
CA9	ENSG00000107159	탄산 무수화효소 IX
CABLES1	ENSG00000134508	Cdk5 및 Abl 효소 기질 1
CABP1	ENSG00000157782	칼슘 결합 단백질 1

[0273]

CACNA2D1	ENSG00000153956	칼슘 통로, 전압 의존성, 알파 2/델타 서브유닛 1
CACNA2D4	ENSG00000151062	칼슘 통로, 전압 의존성, 알파 2/델타 서브유닛 4
CADM3	ENSG00000162706	세포 부착 분자 3
CALCA	ENSG00000110680	칼시토닌 관련 폴리펩티드 알파
CALCB	ENSG00000175868	칼시토닌 관련 폴리펩티드 베타
CALCR	ENSG00000004948	칼시토닌 수용체
CALCRL	ENSG00000064989	칼시토닌 수용체 유사
CALR	ENSG00000179218	칼레티쿨린
CALR3	ENSG00000269058	칼레티쿨린 3
CALU	ENSG00000128595	칼루메닌
CAMK2D	ENSG00000145349	칼슘/칼모듈린 의존성 단백질 키나아제 II 델타
CAMP	ENSG00000164047	카텔리시딘 항균 펩티드
CANX	ENSG00000127022	칼넥신
CARKD	ENSG00000213995	탄수화물 키나아제 도메인 함유
CARM1	ENSG00000142453	보조활성자 관련 아르기닌 메틸트랜스퍼라아제 1
CARNS1	ENSG00000172508	카르노신 신타아제 1
CARTPT	ENSG00000164326	CART 프로프리펩티드
CASQ1	ENSG00000143318	칼세퀘스트린(calsequestrin) 1 (빠른 연축, 골격근)
CASQ2	ENSG00000118729	칼세퀘스트린 2 (심근)
CATSPERG	ENSG00000099338	캐스퍼(Catsper) 통로 보조 서브유닛 감마
CBLN1	ENSG00000102924	세레벨린 1 전구체
CBLN2	ENSG00000141668	세레벨린 2 전구체
CBLN3	ENSG00000139899	세레벨린 3 전구체
CBLN4	ENSG00000054803	세레벨린 4 전구체
CCBE1	ENSG00000183287	콜라겐 및 칼슘 결합 EGF 도메인 1
CCDC108	ENSG00000181378	코일드 코일 도메인 함유 108
CCDC112	ENSG00000164221	코일드 코일 도메인 함유 112
CCDC129	ENSG00000180347	코일드 코일 도메인 함유 129
CCDC134	ENSG00000100147	코일드 코일 도메인 함유 134
CCDC149	ENSG00000181982	코일드 코일 도메인 함유 149
CCDC3	ENSG00000151468	코일드 코일 도메인 함유 3
CCDC80	ENSG00000091986	코일드 코일 도메인 함유 80
CCDC85A	ENSG00000055813	코일드 코일 도메인 함유 85A
CCDC88B	ENSG00000168071	코일드 코일 도메인 함유 88B
CCER2	ENSG00000262484	코일드 코일 글루타메이트 풍부 단백질 2
CCK	ENSG00000187094	콜레시스토키닌
CCL1	ENSG00000108702	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 1
CCL11	ENSG00000172156	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 11
CCL13	ENSG00000181374	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 13
CCL14	ENSG00000276409	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 14
CCL15	ENSG00000275718	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 15
CCL16	ENSG00000275152	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 16
CCL17	ENSG00000102970	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 17

[0274]

CCL18	ENSG00000275385	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 18 (폐 및 활성화 조절성)
CCL19	ENSG00000172724	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 19
CCL2	ENSG00000108691	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 2
CCL20	ENSG00000115009	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 20
CCL21	ENSG00000137077	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 21
CCL22	ENSG00000102962	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 22
CCL23	ENSG00000274736	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 23
CCL24	ENSG00000106178	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 24
CCL25	ENSG00000131142	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 25
CCL26	ENSG00000006606	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 26
CCL27	ENSG00000213927	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 27
CCL28	ENSG00000151882	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 28
CCL3	ENSG00000277632	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 3
CCL3L3	ENSG00000276085	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 3 유사 3
CCL4	ENSG00000275302	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 4
CCL4L2	ENSG00000276070	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 4 유사 2
CCL5	ENSG00000271503	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 5
CCL7	ENSG00000108688	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 7
CCL8	ENSG00000108700	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 8
CCNB1IP1	ENSG00000100814	사이클린 B1 상호작용 단백질 1, E3 유비퀴틴 단백질 리가아제
CCNL1	ENSG00000163660	사이클린 L1
CCNL2	ENSG00000221978	사이클린 L2
CD14	ENSG00000170458	CD14 분자
CD160	ENSG00000117281	CD160 분자
CD164	ENSG00000135535	CD164 분자, 시알로뮤신
CD177	ENSG00000204936	CD177 분자
CD1E	ENSG00000158488	CD1e 분자
CD2	ENSG00000116824	CD2 분자
CD200	ENSG00000091972	CD200 분자
CD200R1	ENSG00000163606	CD200 수용체 1
CD22	ENSG00000012124	CD22 분자
CD226	ENSG00000150637	CD226 분자
CD24	ENSG00000272398	CD24 분자
CD276	ENSG00000103855	CD276 분자
CD300A	ENSG00000167851	CD300a 분자
CD300LB	ENSG00000178789	CD300 분자 유사 패밀리 구성원 b
CD300LF	ENSG00000186074	CD300 분자 유사 패밀리 구성원 f
CD300LG	ENSG00000161649	CD300 분자 유사 패밀리 구성원 g
CD3D	ENSG00000167286	CD3d 분자, 델타 (CD3-TCR 복합체)
CD4	ENSG00000010610	CD4 분자
CD40	ENSG00000101017	CD40 분자, TNF 수용체 슈퍼패밀리 구성원 5
CD44	ENSG00000026508	CD44 분자 (인디안 혈액형)
CD48	ENSG00000117091	CD48 분자

[0275]

CD5	ENSG00000110448	CD5 분자
CD55	ENSG00000196352	CD55 분자, 보체의 디코이 촉진 인자 (크로머 혈액형)
CD59	ENSG00000085063	CD59 분자, 보체 조절 단백질
CD5L	ENSG00000073754	CD5 분자 유사
CD6	ENSG00000013725	CD6 분자
CD68	ENSG00000129226	CD68 분자
CD7	ENSG00000173762	CD7 분자
CD79A	ENSG00000105369	CD79a 분자, 면역글로불린 관련 알파
CD80	ENSG00000121594	CD80 분자
CD86	ENSG00000114013	CD86 분자
CD8A	ENSG00000153563	CD8a 분자
CD8B	ENSG00000172116	CD8b 분자
CD99	ENSG00000002586	CD99 분자
CDC23	ENSG00000094880	세포 분열 주기 23
CDC40	ENSG00000168438	세포 분열 주기 40
CDC45	ENSG00000093009	세포 분열 주기 45
CDCP1	ENSG00000163814	CUB 도메인 함유 단백질 1
CDCP2	ENSG00000157211	CUB 도메인 함유 단백질 2
CDH1	ENSG00000039068	카드헤린(Cadherin) 1, 1형
CDH11	ENSG00000140937	카드헤린 11, 2형, OB-카드헤린(골모세포)
CDH13	ENSG00000140945	카드헤린 13
CDH17	ENSG00000079112	카드헤린 17, LI 카드헤린(간-장)
CDH18	ENSG00000145526	카드헤린 18, 2형
CDH19	ENSG00000071991	카드헤린 19, 2형
CDH23	ENSG00000107736	카드헤린 관련 23
CDH5	ENSG00000179776	카드헤린 5, 2형 (혈관 내피)
CDHR1	ENSG00000148600	카드헤린 관련 패밀리 구성원 1
CDHR4	ENSG00000187492	카드헤린 관련 패밀리 구성원 4
CDHR5	ENSG00000099834	카드헤린 관련 패밀리 구성원 5
CDKN2A	ENSG00000147889	사이클린 의존성 키나아제 억제제 2A
CDNF	ENSG00000185267	뇌 도파민 신경영양 인자
CDON	ENSG00000064309	세포 부착 관련, 종양유전자 조절성
CDSN	ENSG00000204539	코르네오데스모신
CEACAM16	ENSG00000213892	암배아 항원 관련 세포 부착 분자 16
CEACAM18	ENSG00000213822	암배아 항원 관련 세포 부착 분자 18
CEACAM19	ENSG00000186567	암배아 항원 관련 세포 부착 분자 19
CEACAM5	ENSG00000105388	암배아 항원 관련 세포 부착 분자 5
CEACAM7	ENSG00000007306	암배아 항원 관련 세포 부착 분자 7
CEACAM8	ENSG00000124469	암배아 항원 관련 세포 부착 분자 8
CECR1	ENSG00000093072	묘안 증후군 염색체 영역, 후보 1
CECR5	ENSG00000069998	묘안 증후군 염색체 영역, 후보 5
CEL	ENSG00000170835	카르복실 에스테르 리파아제
CELA2A	ENSG00000142615	키모트립신 유사 엘라스타아제 패밀리, 구성원 2A

[0276]

CELA2B	ENSG00000215704	키모트립신 유사 엘라스타아제 패밀리, 구성원 2B
CELA3A	ENSG00000142789	키모트립신 유사 엘라스타아제 패밀리, 구성원 3A
CELA3B	ENSG00000219073	키모트립신 유사 엘라스타아제 패밀리, 구성원 3B
CEMIP	ENSG00000103888	세포 이동(migration) 유도 단백질, 히알루로난 결합
CEP89	ENSG00000121289	중심체 단백질 89kDa
CER1	ENSG00000147869	케르베로스(Cerberus) 1, DAN 패밀리 BMP 작용제
CERCAM	ENSG00000167123	뇌 내피세포 부착 분자
CERS1	ENSG00000223802	세라미드 신타아제 1
CES1	ENSG00000198848	카르복실에스테라아제 1
CES3	ENSG00000172828	카르복실에스테라아제 3
CES4A	ENSG00000172824	카르복실에스테라아제 4A
CES5A	ENSG00000159398	카르복실에스테라아제 5A
CETP	ENSG00000087237	콜레스테릴 에스테르 전달 단백질, 혈장
CFB	ENSG00000243649	보체 인자 B
CFC1	ENSG00000136698	크립토, FRL-1, 잠재성 패밀리 1
CFC1B	ENSG00000152093	크립토, FRL-1, 잠재성 패밀리 1B
CFD	ENSG00000197766	보체 인자 D (아딥신)
CFDP1	ENSG00000153774	두개 안면 발생 단백질 1
CFH	ENSG00000000971	보체 인자 H
CFHR1	ENSG00000244414	보체 인자 H 관련 1
CFHR2	ENSG00000080910	보체 인자 H 관련 2
CFHR3	ENSG00000116785	보체 인자 H 관련 3
CFHR4	ENSG00000134365	보체 인자 H 관련 4
CFHR5	ENSG00000134389	보체 인자 H 관련 5
CFI	ENSG00000205403	보체 인자 I
CFP	ENSG00000126759	보체 인자 프로페르딘
CGA	ENSG00000135346	당단백질 호르몬, 알파 폴리펩티드
CGB	ENSG00000104827	융모성 생식선 자극호르몬, 베타 폴리펩티드
CGB1	ENSG00000267631	융모성 생식선 자극호르몬, 베타 폴리펩티드 1
CGB2	ENSG00000104818	융모성 생식선 자극호르몬, 베타 폴리펩티드 2
CGB5	ENSG00000189052	융모성 생식선 자극호르몬, 베타 폴리펩티드 5
CGB7	ENSG00000196337	융모성 생식선 자극호르몬, 베타 폴리펩티드 7
CGB8	ENSG00000213030	융모성 생식선 자극호르몬, 베타 폴리펩티드 8
CGREF1	ENSG00000138028	EF-핸드 도메인 1을 가진 세포 성장 조절인자
CH507-9B2.3	ENSG00000280071	
CHAD	ENSG00000136457	콘드로어드헤린
CHADL	ENSG00000100399	콘드로어드헤린 유사
CHEK2	ENSG00000183765	관문 키나아제 2
CHGA	ENSG00000100604	크로모그라닌 A
CHGB	ENSG00000089199	크로모그라닌 B
CHI3L1	ENSG00000133048	키티나아제 3 유사 1 (연골 당단백질-39)
CHI3L2	ENSG00000064886	키티나아제 3 유사 2
CHIA	ENSG00000134216	키티나아제, 산성

[0277]

CHID1	ENSG00000177830	키티나아제 도메인 함유 1
CHIT1	ENSG00000133063	키티나아제 1 (키토트리오시다아제)
CHL1	ENSG00000134121	세포 부착 분자 L1 유사
CHN1	ENSG00000128656	키메린 1
CHPF	ENSG00000123989	콘드로이틴 중합 인자
CHPF2	ENSG00000033100	콘드로이틴 중합 인자 2
CHRD	ENSG00000090539	코르딘
CHRDL1	ENSG00000101938	코르딘 유사 1
CHRDL2	ENSG00000054938	코르딘 유사 2
CHRNA2	ENSG00000120903	콜린성 수용체, 니코틴, 알파 2 (신경)
CHRNA5	ENSG00000169684	콜린성 수용체, 니코틴, 알파 5 (신경)
CHRNB1	ENSG00000170175	콜린성 수용체, 니코틴, 베타 1 (근육)
CHRND	ENSG00000135902	콜린성 수용체, 니코틴, 델타 (근육)
CHST1	ENSG00000175264	탄수화물 (케라탄 설페이트 Gal-6) 설포트랜스퍼라아제 1
CHST10	ENSG00000115526	탄수화물 설포트랜스퍼라아제 10
CHST11	ENSG00000171310	탄수화물 (콘드로이틴 4) 설포트랜스퍼라아제 11
CHST13	ENSG00000180767	탄수화물 (콘드로이틴 4) 설포트랜스퍼라아제 13
CHST4	ENSG00000140835	탄수화물 (N-아세틸글루코사민 6-O) 설포트랜스퍼라아제 4
CHST5	ENSG00000135702	탄수화물 (N-아세틸글루코사민 6-O) 설포트랜스퍼라아제 5
CHST6	ENSG00000183196	탄수화물 (N-아세틸글루코사민 6-O) 설포트랜스퍼라아제 6
CHST7	ENSG00000147119	탄수화물 (N-아세틸글루코사민 6-O) 설포트랜스퍼라아제 7
CHST8	ENSG00000124302	탄수화물 (N-아세틸갈락토사민 4-0) 설포트랜스퍼라아제 8
CHSY1	ENSG00000131873	콘드로이틴 설페이트 신타아제 1
CHSY3	ENSG00000198108	콘드로이틴 설페이트 신타아제 3
CHTF8	ENSG00000168802	염색체 전달 정확도 인자 8
CILP	ENSG00000138615	연골 중간층단백질, 뉴클레오티드 피로포스포히드롤라아제
CILP2	ENSG00000160161	연골 중간층단백질 2
CIRH1A	ENSG00000141076	간경변, 상염색체 열성 1A (시르힌(cirhin))
CKLF	ENSG00000217555	케모카인 유사 인자
CKMT1A	ENSG00000223572	크레아틴 키나아제, 미토콘드리아 1A
CKMT1B	ENSG00000237289	크레아틴 키나아제, 미토콘드리아 1B
CLCA1	ENSG00000016490	염소 통로 보조 1
CLCF1	ENSG00000175505	카디오트로핀 유사 사이토카인 인자 1
CLDN15	ENSG00000106404	클라우딘 15
CLDN7	ENSG00000181885	클라우딘 7
CLDND1	ENSG00000080822	클라우딘 도메인 함유 1
CLEC11A	ENSG00000105472	C형 렉틴 도메인 패밀리 11, 구성원 A
CLEC16A	ENSG00000038532	C형 렉틴 도메인 패밀리 16, 구성원 A
CLEC18A	ENSG00000157322	C형 렉틴 도메인 패밀리 18, 구성원 A
CLEC18B	ENSG00000140839	C형 렉틴 도메인 패밀리 18, 구성원 B
CLEC18C	ENSG00000157335	C형 렉틴 도메인 패밀리 18, 구성원 C
CLEC19A	ENSG00000261210	C형 렉틴 도메인 패밀리 19, 구성원 A
CLEC2B	ENSG00000110852	C형 렉틴 도메인 패밀리 2, 구성원 B

[0278]

CLEC3A	ENSG00000166509	C형 렉틴 도메인 패밀리 3, 구성원 A
CLEC3B	ENSG00000163815	C형 렉틴 도메인 패밀리 3, 구성원 B
CLGN	ENSG00000153132	칼메긴
CLN5	ENSG00000102805	세로이드 지질갈색소증, 신경 5
CLPS	ENSG00000137392	코리파아제, 췌장
CLPSL1	ENSG00000204140	코리파아제 유사 1
CLPSL2	ENSG00000196748	코리파아제 유사 2
CLPX	ENSG00000166855	카제인 용해성(Caseinolytic) 미토콘드리아 기질 펩티다아제 샤페론 서브유닛
CLSTN3	ENSG00000139182	칼신테닌 3
CLU	ENSG00000120885	클루스테린
CLUL1	ENSG00000079101	클루스테린 유사 1 (망막)
CMA1	ENSG00000092009	키마아제 1, 비만세포
CMPK1	ENSG00000162368	시티딘 모노포스페이트 (UMP-CMP) 키나아제 1, 시토졸
CNBD1	ENSG00000176571	시클릭 뉴클레오티드 결합 도메인 함유 1
CNDP1	ENSG00000150656	카르노신 디펩티다아제 1 (메탈로펩티다아제 M20 패밀리)
CNPY2	ENSG00000257727	캐노피 FGF 신호전달 조절 인자 2
CNPY3	ENSG00000137161	캐노피 FGF 신호전달 조절 인자 3
CNPY4	ENSG00000166997	캐노피 FGF 신호전달 조절 인자 4
CNTFR	ENSG00000122756	섬모체 신경영양 인자 수용체
CNTN1	ENSG00000018236	콘택틴 1
CNTN2	ENSG00000184144	콘택틴 2 (축삭)
CNTN3	ENSG00000113805	콘택틴 3 (형질세포종 관련)
CNTN4	ENSG00000144619	콘택틴 4
CNTN5	ENSG00000149972	콘택틴 5
CNTNAP2	ENSG00000174469	콘택틴 관련 단백질 유사 2
CNTNAP3	ENSG00000106714	콘택틴 관련 단백질 유사 3
CNTNAP3B	ENSG00000154529	콘택틴 관련 단백질 유사 3B
COASY	ENSG00000068120	CoA 신타아제
COCH	ENSG00000100473	코클린(Cochlin)
COG3	ENSG00000136152	올리고머 골지 복합체 3의 구성요소
COL10A1	ENSG00000123500	콜라겐, X형, 알파 1
COL11A1	ENSG00000060718	콜라겐, XI형, 알파 1
COL11A2	ENSG00000204248	콜라겐, XI형, 알파 2
COL12A1	ENSG00000111799	콜라겐, XII형, 알파 1
COL14A1	ENSG00000187955	콜라겐, XIV형, 알파 1
COL15A1	ENSG00000204291	콜라겐, XV형, 알파 1
COL16A1	ENSG00000084636	콜라겐, XVI형, 알파 1
COL18A1	ENSG00000182871	콜라겐, XVIII형, 알파 1
COL19A1	ENSG00000082293	콜라겐, XIX형, 알파 1
COL1A1	ENSG00000108821	콜라겐, I형, 알파 1
COL1A2	ENSG00000164692	콜라겐, I형, 알파 2
COL20A1	ENSG00000101203	콜라겐, XX형, 알파 1
COL21A1	ENSG00000124749	콜라겐, XXI형, 알파 1

[0279]

COL22A1	ENSG00000169436	콜라겐, XXII형, 알파 1
COL24A1	ENSG00000171502	콜라겐, XXIV형, 알파 1
COL26A1	ENSG00000160963	콜라겐, XXVI형, 알파 1
COL27A1	ENSG00000196739	콜라겐, XXVII형, 알파 1
COL28A1	ENSG00000215018	콜라겐, XXVIII형, 알파 1
COL2A1	ENSG00000139219	콜라겐, II형, 알파 1
COL3A1	ENSG00000168542	콜라겐, III형, 알파 1
COL4A1	ENSG00000187498	콜라겐, IV형, 알파 1
COL4A2	ENSG00000134871	콜라겐, IV형, 알파 2
COL4A3	ENSG00000169031	콜라겐, IV형, 알파 3 (굿파스쳐 항원)
COL4A4	ENSG00000081052	콜라겐, IV형, 알파 4
COL4A5	ENSG00000188153	콜라겐, IV형, 알파 5
COL4A6	ENSG00000197565	콜라겐, IV형, 알파 6
COL5A1	ENSG00000130635	콜라겐, V형, 알파 1
COL5A2	ENSG00000204262	콜라겐, V형, 알파 2
COL5A3	ENSG00000080573	콜라겐, V형, 알파 3
COL6A1	ENSG00000142156	콜라겐, VI형, 알파 1
COL6A2	ENSG00000142173	콜라겐, VI형, 알파 2
COL6A3	ENSG00000163359	콜라겐, VI형, 알파 3
COL6A5	ENSG00000172752	콜라겐, VI형, 알파 5
COL6A6	ENSG00000206384	콜라겐, VI형, 알파 6
COL7A1	ENSG00000114270	콜라겐, VII형, 알파 1
COL8A1	ENSG00000144810	콜라겐, VIII형, 알파 1
COL8A2	ENSG00000171812	콜라겐, VIII형, 알파 2
COL9A1	ENSG00000112280	콜라겐, IX형, 알파 1
COL9A2	ENSG00000049089	콜라겐, IX형, 알파 2
COL9A3	ENSG00000092758	콜라겐, IX형, 알파 3
COLEC10	ENSG00000184374	콜렉틴 서브 패밀리 구성원 10 (C형 렉틴)
COLEC11	ENSG00000118004	콜렉틴 서브 패밀리 구성원 11
COLGALT1	ENSG00000130309	콜라겐 베타(1-O)갈락토실트랜스퍼라아제 1
COLGALT2	ENSG00000198756	콜라겐 베타(1-O)갈락토실트랜스퍼라아제 2
COLQ	ENSG00000206561	비대칭 아세틸콜린에스테라제의 콜라겐 유사 꼬리 서브유닛(동종삼량체의 단일 가닥)
COMP	ENSG00000105664	연골 올리고머 기질 단백질
COPS6	ENSG00000168090	COP9 시그날로좀 서브유닛 6
COQ6	ENSG00000119723	조효소 Q6 모노옥시게나아제
CORT	ENSG00000241563	코르티스타틴
CP	ENSG00000047457	세룰로플라스민(페록시다아제)
CPA1	ENSG00000091704	카르복시펩티다아제 A1 (췌장)
CPA2	ENSG00000158516	카르복시펩티다아제 A2 (췌장)
CPA3	ENSG00000163751	카르복시펩티다아제 A3 (비만세포)
CPA4	ENSG00000128510	카르복시펩티다아제 A4
CPA6	ENSG00000165078	카르복시펩티다아제 A6

[0280]

CPAMD8	ENSG00000160111	C3 및 PZP 유사, 알파-2-마크로글로불린 도메인 함유 8
CPB1	ENSG00000153002	카르복시펩티다아제 B1 (조직)
CPB2	ENSG00000080618	카르복시펩티다아제 B2 (혈장)
CPE	ENSG00000109472	카르복시펩티다아제 E
CPM	ENSG00000135678	카르복시펩티다아제 M
CPN1	ENSG00000120054	카르복시펩티다아제 N, 폴리펩티드 1
CPN2	ENSG00000178772	카르복시펩티다아제 N, 폴리펩티드 2
CPO	ENSG00000144410	카르복시펩티다아제 O
CPQ	ENSG00000104324	카르복시펩티다아제 Q
CPVL	ENSG00000106066	카르복시펩티다아제, 난황생성 유사
CPXM1	ENSG00000088882	카르복시펩티다아제 X (M14 패밀리), 구성원 1
CPXM2	ENSG00000121898	카르복시펩티다아제 X (M14 패밀리), 구성원 2
CPZ	ENSG00000109625	카르복시펩티다아제 Z
CR1L	ENSG00000197721	보체 성분 (3b/4b) 수용체 1 유사
CRB2	ENSG00000148204	크럼스(Crumbs) 패밀리 구성원 2
CREG1	ENSG00000143162	E1A-자극성 유전자 1의 세포 억제인자
CREG2	ENSG00000175874	E1A-자극성 유전자 2의 세포 억제인자
CRELD1	ENSG00000163703	시스테인 풍부 EGF 유사 도메인(cystein rich with EGF-like domain) 1
CRELD2	ENSG00000184164	시스테인 풍부 EGF 유사 도메인 2
CRH	ENSG00000147571	부신피질 자극 호르몬 방출 호르몬
CRHBP	ENSG00000145708	부신피질 자극 호르몬 방출 호르몬 결합 단백질
CRHR1	ENSG00000120088	부신피질 자극 호르몬 방출 호르몬 수용체 1
CRHR2	ENSG00000106113	부신피질 자극 호르몬 방출 호르몬 수용체 2
CRISP1	ENSG00000124812	시스테인 풍부 분비 단백질 1
CRISP2	ENSG00000124490	시스테인 풍부 분비 단백질 2
CRISP3	ENSG00000096006	시스테인 풍부 분비 단백질 3
CRISPLD2	ENSG00000103196	시스테인 풍부 분비 단백질 LCCL 도메인 함유 2
CRLF1	ENSG00000006016	사이토카인 수용체 유사 인자 1
CRP	ENSG00000132693	C-반응성 단백질, 펜트랙신 관련
CRTAC1	ENSG00000095713	연골 산성 단백질 1
CRTAP	ENSG00000170275	연골 관련 단백질
CRY2	ENSG00000121671	크립토크롬 서카디안 클락(Cryptochrome circadian clock) 2
CSAD	ENSG00000139631	시스테인 설핀산 디카르복실라아제
CSF1	ENSG00000184371	집락 자극 인자 1 (대식세포)
CSF1R	ENSG00000182578	집락 자극 인자 1 수용체
CSF2	ENSG00000164400	집락 자극 인자 2 (과립구-대식세포)
CSF2RA	ENSG00000198223	집락 자극 인자 2 수용체, 알파, 저친화성 (과립구-대식세포)
CSF3	ENSG00000108342	집락 자극 인자 3 (과립구)
CSGALNACT1	ENSG00000147408	콘드로이틴 설페이트 N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라아제 1
CSH1	ENSG00000136488	융모성 소마토맘모트로핀 호르몬 1 (태반 락토겐)
CSH2	ENSG00000213218	융모성 소마토맘모트로핀호르몬 2
CSHL1	ENSG00000204414	융모성 소마토맘모트로핀호르몬 유사 1
CSN1S1	ENSG00000126545	카제인 알파 1

[0281]

CSN2	ENSG00000135222	카제인 베타
CSN3	ENSG00000171209	카베인 카파
CST1	ENSG00000170373	시스타틴 SN
CST11	ENSG00000125831	시스타틴 11
CST2	ENSG00000170369	시스타틴 SA
CST3	ENSG00000101439	시스타틴 C
CST4	ENSG00000101441	시스타틴 S
CST5	ENSG00000170367	시스타틴 D
CST6	ENSG00000175315	시스타틴 E/M
CST7	ENSG00000077984	시스타틴 F (류코시스타틴)
CST8	ENSG00000125815	시스타틴 8 (시스타틴 관련 정소상체 특이적)
CST9	ENSG00000173335	시스타틴 9 (테스타틴)
CST9L	ENSG00000101435	시스타틴 9 유사
CSTL1	ENSG00000125823	시스타틴 유사 1
CT55	ENSG00000169551	암/정소 항원 55
CTB-60B18.6	ENSG00000267335	
CTBS	ENSG00000117151	키토비아제, 디-N-아세틸-
CTD-2313N18.7	ENSG00000225805	
CTD-2370N5.3	ENSG00000265118	
CTGF	ENSG00000118523	결합조직 성장 인자
CTHRC1	ENSG00000164932	콜라겐 삼중 나선 반복 함유 1
CTLA4	ENSG00000163599	세포독성 T-림프구 관련 단백질 4
CTNS	ENSG00000040531	시스티노신, 리소좀 시스틴 운반체
CTRB1	ENSG00000168925	키모트립시노겐 B1
CTRB2	ENSG00000168928	키모트립시노겐 B2
CTRC	ENSG00000162438	키모트립신 C (칼레크린)
CTRL	ENSG00000141086	키모트립신 유사
CTSA	ENSG00000064601	카텝신 A
CTSB	ENSG00000164733	카텝신 B
CTSC	ENSG00000109861	카텝신 C
CTSD	ENSG00000117984	카텝신 D
CTSE	ENSG00000196188	카텝신 E
CTSF	ENSG00000174080	카텝신 F
CTSG	ENSG00000100448	카텝신 G
CTSH	ENSG00000103811	카텝신 H
CTSK	ENSG00000143387	카텝신 K
CTSL	ENSG00000135047	카텝신 L
CTSO	ENSG00000256043	카텝신 O
CTSS	ENSG00000163131	카텝신 S
CTSV	ENSG00000136943	카텝신 V
CTSW	ENSG00000172543	카텝신 W
CTSZ	ENSG00000101160	카텝신 Z
CUBN	ENSG00000107611	큐빌린 (내인성 인자-코발라민 수용체)

[0282]

CUTA	ENSG00000112514	CutA 이가 양이온 내성(tolerance) 상동체 (이. 콜라이(E. coli))
CX3CL1	ENSG00000006210	케모카인 (C-X3-C 모티프) 리간드 1
CXADR	ENSG00000154639	콕사키(Coxsackie) 바이러스 및 아데노바이러스 수용체
CXCL1	ENSG00000163739	케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 1 (흑색종 성장 촉진 활성, 알파)
CXCL10	ENSG00000169245	케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 10
CXCL11	ENSG00000169248	케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 11
CXCL12	ENSG00000107562	케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 12
CXCL13	ENSG00000156234	케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 13
CXCL14	ENSG00000145824	케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 14
CXCL17	ENSG00000189377	케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 17
CXCL2	ENSG00000081041	케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 2
CXCL3	ENSG00000163734	케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 3
CXCL5	ENSG00000163735	케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 5
CXCL6	ENSG00000124875	케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 6
CXCL8	ENSG00000169429	케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 8
CXCL9	ENSG00000138755	케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 9
CXorf36	ENSG00000147113	염색체 X 오픈 리딩 프레임 36
CYB5D2	ENSG00000167740	시토크롬 b5 도메인 함유 2
CYHR1	ENSG00000187954	시스테인/히스티딘 풍부 1
CYP17A1	ENSG00000148795	시토크롬 P450, 패밀리 17, 서브패밀리 A, 폴리펩티드 1
CYP20A1	ENSG00000119004	시토크롬 P450, 패밀리 20, 서브패밀리 A, 폴리펩티드 1
CYP21A2	ENSG00000231852	시토크롬 P450, 패밀리 21, 서브패밀리 A, 폴리펩티드 2
CYP26B1	ENSG00000003137	시토크롬 P450, 패밀리 26, 서브패밀리 B, 폴리펩티드 1
CYP2A6	ENSG00000255974	시토크롬 P450, 패밀리 2, 서브패밀리 A, 폴리펩티드 6
CYP2A7	ENSG00000198077	시토크롬 P450, 패밀리 2, 서브패밀리 A, 폴리펩티드 7
CYP2B6	ENSG00000197408	시토크롬 P450, 패밀리 2, 서브패밀리 B, 폴리펩티드 6
CYP2C18	ENSG00000108242	시토크롬 P450, 패밀리 2, 서브패밀리 C, 폴리펩티드 18
CYP2C19	ENSG00000165841	시토크롬 P450, 패밀리 2, 서브패밀리 C, 폴리펩티드 19
CYP2C8	ENSG00000138115	시토크롬 P450, 패밀리 2, 서브패밀리 C, 폴리펩티드 8
CYP2C9	ENSG00000138109	시토크롬 P450, 패밀리 2, 서브패밀리 C, 폴리펩티드 9
CYP2E1	ENSG00000130649	시토크롬 P450, 패밀리 2, 서브패밀리 E, 폴리펩티드 1
CYP2F1	ENSG00000197446	시토크롬 P450, 패밀리 2, 서브패밀리 F, 폴리펩티드 1
CYP2J2	ENSG00000134716	시토크롬 P450, 패밀리 2, 서브패밀리 J, 폴리펩티드 2
CYP2R1	ENSG00000186104	시토크롬 P450, 패밀리 2, 서브패밀리 R, 폴리펩티드 1
CYP2S1	ENSG00000167600	시토크롬 P450, 패밀리 2, 서브패밀리 S, 폴리펩티드 1
CYP2W1	ENSG00000073067	시토크롬 P450, 패밀리 2, 서브패밀리 W, 폴리펩티드 1
CYP46A1	ENSG00000036530	시토크롬 P450, 패밀리 46, 서브패밀리 A, 폴리펩티드 1
CYP4F11	ENSG00000171903	시토크롬 P450, 패밀리 4, 서브패밀리 F, 폴리펩티드 11
CYP4F2	ENSG00000186115	시토크롬 P450, 패밀리 4, 서브패밀리 F, 폴리펩티드 2
CYR61	ENSG00000142871	시스테인 풍부, 혈관형성 유도인자, 61
CYTL1	ENSG00000170891	사이토카인 유사 1
D2HGDH	ENSG00000180902	D-2-히드록시글루타레이트 디히드로게나제
DAG1	ENSG00000173402	디스트로글리칸 1 (디스트로핀 관련 당단백질 1)

[0283]

DAND5	ENSG00000179284	DAN 도메인 패밀리 구성원 5, BMP 작용제
DAO	ENSG00000110887	D-아미노-산 옥시다아제
DAZAP2	ENSG00000183283	DAZ 관련 단백질 2
DBH	ENSG00000123454	도파민 베타-히드록실라아제 (도파민 베타-모노옥시게나아제)
DBNL	ENSG00000136279	드레브린 유사
DCD	ENSG00000161634	덤시딘(Dermcidin)
DCN	ENSG00000011465	데코린
DDIAS	ENSG00000165490	DNA 손상 유도성 아폽토시스 억제인자
DDOST	ENSG00000244038	돌리킬-디포스포리포사카라이드-단백질 글리코실트랜스퍼라아제 서브유닛 (비촉매성)
DDR1	ENSG00000204580	디스코이딘 도메인 수용체 티로신 키나아제 1
DDR2	ENSG00000162733	디스코이딘 도메인 수용체 티로신 키나아제 2
DDT	ENSG00000099977	D-도파크롬 토토머라아제
DDX17	ENSG00000100201	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 박스 헬리카아제 17
DDX20	ENSG00000064703	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 박스 폴리펩티드 20
DDX25	ENSG00000109832	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 박스 헬리카아제 25
DDX28	ENSG00000182810	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 박스 폴리펩티드 28
DEAF1	ENSG00000177030	DEAF1 전사 인자
DEF8	ENSG00000140995	차별 발현되는 FDCP 8 상동체 (마우스)
DEFA1	ENSG00000206047	디펜신, 알파 1
DEFA1B	ENSG00000240247	디펜신, 알파 1B
DEFA3	ENSG00000239839	디펜신, 알파 3, 호중구 특이적
DEFA4	ENSG00000164821	디펜신, 알파 4, 코르티코스타틴
DEFA5	ENSG00000164816	디펜신, 알파 5, 파네스 세포 특이적
DEFA6	ENSG00000164822	디펜신, 알파 6, 파네스 세포 특이적
DEFB1	ENSG00000164825	디펜신, 베타 1
DEFB103A	ENSG00000176797	디펜신, 베타 103A
DEFB103B	ENSG00000177243	디펜신, 베타 103B
DEFB104A	ENSG00000176782	디펜신, 베타 104A
DEFB104B	ENSG00000177023	디펜신, 베타 104B
DEFB105A	ENSG00000186562	디펜신, 베타 105A
DEFB105B	ENSG00000186599	디펜신, 베타 105B
DEFB106A	ENSG00000186579	디펜신, 베타 106A
DEFB106B	ENSG00000187082	디펜신, 베타 106B
DEFB107A	ENSG00000186572	디펜신, 베타 107A
DEFB107B	ENSG00000198129	디펜신, 베타 107B
DEFB108B	ENSG00000184276	디펜신, 베타 108B
DEFB110	ENSG00000203970	디펜신, 베타 110
DEFB113	ENSG00000214642	디펜신, 베타 113
DEFB114	ENSG00000177684	디펜신, 베타 114
DEFB115	ENSG00000215547	디펜신, 베타 115
DEFB116	ENSG00000215545	디펜신, 베타 116
DEFB118	ENSG00000131068	디펜신, 베타 118

[0284]

DEFB119	ENSG00000180483	디펜신, 베타 119
DEFB121	ENSG00000204548	디펜신, 베타 121
DEFB123	ENSG00000180424	디펜신, 베타 123
DEFB124	ENSG00000180383	디펜신, 베타 124
DEFB125	ENSG00000178591	디펜신, 베타 125
DEFB126	ENSG00000125788	디펜신, 베타 126
DEFB127	ENSG00000088782	디펜신, 베타 127
DEFB128	ENSG00000185982	디펜신, 베타 128
DEFB129	ENSG00000125903	디펜신, 베타 129
DEFB130	ENSG00000232948	디펜신, 베타 130
DEFB131	ENSG00000186146	디펜신, 베타 131
DEFB132	ENSG00000186458	디펜신, 베타 132
DEFB133	ENSG00000214643	디펜신, 베타 133
DEFB134	ENSG00000205882	디펜신, 베타 134
DEFB135	ENSG00000205883	디펜신, 베타 135
DEFB136	ENSG00000205884	디펜신, 베타 136
DEFB4A	ENSG00000171711	디펜신, 베타 4A
DEFB4B	ENSG00000177257	디펜신, 베타 4B
DFNA5	ENSG00000105928	난청, 상염색 우성 5
DFNB31	ENSG00000095397	난청, 상염색 열성 31
DGCR2	ENSG00000070413	디조지 증후군 주요(critical) 영역 유전자 2
DHH	ENSG00000139549	사막 헤지호그
DHRS4	ENSG00000157326	디히드로게나제/리덕타아제 (SDR 패밀리) 구성원 4
DHRS4L2	ENSG00000187630	디히드로게나제/리덕타아제 (SDR 패밀리) 구성원 4 유사 2
DHRS7	ENSG00000100612	디히드로게나제/리덕타아제 (SDR 패밀리) 구성원 7
DHRS7C	ENSG00000184544	디히드로게나제/리덕타아제 (SDR 패밀리) 구성원 7C
DHRS9	ENSG00000073737	디히드로게나제/리덕타아제 (SDR 패밀리) 구성원 9
DHRSX	ENSG00000169084	디히드로게나제/리덕타아제 (SDR 패밀리) X 연관
DHX29	ENSG00000067248	DEAH (Asp-Glu-Ala-His) 박스 폴리펩티드 29
DHX30	ENSG00000132153	DEAH (Asp-Glu-Ala-His) 박스 헬리카아제 30
DHX8	ENSG00000067596	DEAH (Asp-Glu-Ala-His) 박스 폴리펩티드 8
DIO2	ENSG00000211448	탈요오드화 효소, 요오도티로닌, II형
DIXDC1	ENSG00000150764	DIX 도메인 함유 1
DKK1	ENSG00000107984	디코프(Dickkopf) WNT 신호전달 경로 억제제 1
DKK2	ENSG00000155011	디코프 WNT 신호전달 경로 억제제 2
DKK3	ENSG00000050165	디코프 WNT 신호전달 경로 억제제 3
DKK4	ENSG00000104371	디코프 WNT 신호전달 경로 억제제 4
DKKL1	ENSG00000104901	디코프 유사 1
DLG4	ENSG00000132535	디스크(Discs), 큰 상동체 4 (초파리)
DLK1	ENSG00000185559	델타 유사 1 상동체 (초파리)
DLL1	ENSG00000198719	델타 유사 1 (초파리)
DLL3	ENSG00000090932	델타 유사 3 (초파리)
DMBT1	ENSG00000187908	결실된 악성 뇌종양 1

[0285]

DMKN	ENSG00000161249	더모카인
DMP1	ENSG00000152592	덴틴 기질 산성 인단백질 1
DMRTA2	ENSG00000142700	DMRT 유사 패밀리 A2
DNAAF5	ENSG00000164818	디네인(Dynein), 축사, 어셈블리 인자 5
DNAH14	ENSG00000185842	디네인, 축사, 중쇄 14
DNAJB11	ENSG00000090520	DnaJ (Hsp40) 상동체, 서브패밀리 B, 구성원 11
DNAJB9	ENSG00000128590	DnaJ (Hsp40) 상동체, 서브패밀리 B, 구성원 9
DNAJC25-GNG10	ENSG00000244115	DNAJC25-GNG10 번역초과
DNAJC3	ENSG00000102580	DnaJ (Hsp40) 상동체, 서브패밀리 C, 구성원 3
DNASE1	ENSG00000213918	데옥시리보뉴클레아제 I
DNASE1L1	ENSG00000013563	데옥시리보뉴클레아제 I 유사 1
DNASE1L2	ENSG00000167968	데옥시리보뉴클레아제 I 유사 2
DNASE1L3	ENSG00000163687	데옥시리보뉴클레아제 I 유사 3
DNASE2	ENSG00000105612	데옥시리보뉴클레아제 II, 리소좀
DNASE2B	ENSG00000137976	데옥시리보뉴클레아제 II 베타
DPEP1	ENSG00000015413	디펩티다아제 1 (신장)
DPEP2	ENSG00000167261	디펩티다아제 2
DPEP3	ENSG00000141096	디펩티다아제 3
DPF3	ENSG00000205683	D4, 아연 및 이중 PHD 핑거, 패밀리 3
DPP4	ENSG00000197635	디펩티딜-펩티다아제 4
DPP7	ENSG00000176978	디펩티딜-펩티다아제 7
DPT	ENSG00000143196	더마토폰틴
DR액신	ENSG00000162490	등쪽 억제 축삭 인도 단백질
DSE	ENSG00000111817	더마탄 설페이트 에피머라아제
DSG2	ENSG00000046604	데스모글레인 2
DSPP	ENSG00000152591	덴틴 시알로포스포단백질
DST	ENSG00000151914	디스토닌(Dystonin)
DUOX1	ENSG00000137857	이중 옥시다아제 1
DYNLT3	ENSG00000165169	디네인, 경쇄, Tctex-3형
E2F5	ENSG00000133740	E2F 전사 인자 5, p130 결합
EBAG9	ENSG00000147654	에스트로겐 수용체 결합 부위 관련, 항원, 9
EBI3	ENSG00000105246	엡스타인-바(Epstein-Barr) 바이러스 유도성 3
ECHDC1	ENSG00000093144	에틸말로닐-CoA 디카르복실라아제 1
ECM1	ENSG00000143369	세포 외 기질 단백질 1
ECM2	ENSG00000106823	세포 외 기질 단백질 2, 여성 기관 및 지방세포 특이적
ECSIT	ENSG00000130159	ECSIT 신호전달 인테그레이터(integrator)
EDDM3A	ENSG00000181562	정소상체 단백질 3A
EDDM3B	ENSG00000181552	정소상체 단백질 3B
EDEM2	ENSG00000088298	ER 분해 인핸서, 만노시다아제 알파 유사 2
EDEM3	ENSG00000116406	ER 분해 인핸서, 만노시다아제 알파 유사 3
EDIL3	ENSG00000164176	EGF 유사 반복 및 디스코이딘 I 유사 도메인 3
EDN1	ENSG00000078401	엔도텔린 1
EDN2	ENSG00000127129	엔도텔린 2

[0286]

EDN3	ENSG00000124205	엔도텔린 3
EDNRB	ENSG00000136160	엔도텔린 수용체 B형
EFEMP1	ENSG00000115380	EGF 함유 피불린 유사 세포 외 기질 단백질 1
EFEMP2	ENSG00000172638	EGF 함유 피불린 유사 세포 외 기질 단백질 2
EFNA1	ENSG00000169242	에프린-A1
EFNA2	ENSG00000099617	에프린-A2
EFNA4	ENSG00000243364	에프린-A4
EGFL6	ENSG00000198759	다중 EGF 유사-도메인 6
EGFL7	ENSG00000172889	다중 EGF 유사-도메인 7
EGFL8	ENSG00000241404	다중 EGF 유사-도메인 8
EGFLAM	ENSG00000164318	EGF 유사, 피브로넥틴 III형 및 라미닌 G 도메인
EGFR	ENSG00000146648	상피 성장 인자 수용체
EHBP1	ENSG00000115504	EH 도메인 결합 단백질 1
EHF	ENSG00000135373	Ets 상동 인자
EHMT1	ENSG00000181090	진성 염색질 히스톤-리신 N-메틸트랜스퍼라아제 1
EHMT2	ENSG00000204371	진성 염색질 히스톤-리신 N-메틸트랜스퍼라아제 2
EIF2AK1	ENSG00000086232	진핵세포 번역 개시 인자 2-알파 키나아제 1
ELANE	ENSG00000197561	엘라스타아제, 호중구 발현
ELN	ENSG00000049540	엘라스틴
ELP2	ENSG00000134759	신장 인자 아세틸트랜스퍼라아제 복합체 서브유닛 2
ELSPBP1	ENSG00000169393	정소상체 정자 결합 단백질 1
EMC1	ENSG00000127463	ER 막 단백질 복합체 서브유닛 1
EMC10	ENSG00000161671	ER 막 단백질 복합체 서브유닛 10
EMC9	ENSG00000100908	ER 막 단백질 복합체 서브유닛 9
EMCN	ENSG00000164035	엔도뮤신
EMID1	ENSG00000186998	EMI 도메인 함유 1
EMILIN1	ENSG00000138080	엘라스틴 미세섬유 인터페이서 1
EMILIN2	ENSG00000132205	엘라스틴 미세섬유 인터페이서 2
EMILIN3	ENSG00000183798	엘라스틴 미세섬유 인터페이서 3
ENAM	ENSG00000132464	에나멜린
ENDOG	ENSG00000167136	엔도뉴클레아제 G
ENDOU	ENSG00000111405	엔도뉴클레아제, 폴리U-특이적
ENHO	ENSG00000168913	에너지 항상성 관련
ENO4	ENSG00000188316	에놀라아제 패밀리 구성원 4
ENPP6	ENSG00000164303	엑토뉴클레오티드 피로포스파타아제/포스포디에스테라아제 6
ENPP7	ENSG00000182156	엑토뉴클레오티드 피로포스파타아제/포스포디에스테라아제 7
ENTPD5	ENSG00000187097	엑토뉴클레오시드 트리포스페이트 디포스포히드롤라아제 5
ENTPD8	ENSG00000188833	엑토뉴클레오시드 트리포스페이트 디포스포히드롤라아제 8
EOGT	ENSG00000163378	EGF 도메인-특이적 O-결합형 N-아세틸글루코사민 (GlcNAc) 트랜스퍼라아제
EPCAM	ENSG00000119888	상피 세포 부착 분자
EPDR1	ENSG00000086289	에펜디민 관련 1
EPGN	ENSG00000182585	상피 미토겐

[0287]

EPHA10	ENSG00000183317	EPH 수용체 A10
EPHA3	ENSG00000044524	EPH 수용체 A3
EPHA4	ENSG00000116106	EPH 수용체 A4
EPHA7	ENSG00000135333	EPH 수용체 A7
EPHA8	ENSG00000070886	EPH 수용체 A8
EPHB2	ENSG00000133216	EPH 수용체 B2
EPHB4	ENSG00000196411	EPH 수용체 B4
EPHX3	ENSG00000105131	에폭시드 히드롤라아제 3
EPO	ENSG00000130427	에리트로포이에틴
EPPIN	ENSG00000101448	정소상체 펩티다아제 억제제
EPPIN-WFDC6	ENSG00000249139	EPPIN-WFDC6 번역초과
EPS15	ENSG00000085832	상피 성장 인자 수용체 경로 기질 15
EPS8L1	ENSG00000131037	EPS8 유사 1
EPX	ENSG00000121053	호산구 퍼옥시다아제
EPYC	ENSG00000083782	에피피칸
EQTN	ENSG00000120160	이퀘토린, 정자 첨단체 관련
ERAP1	ENSG00000164307	소포체 아미노펩티다아제 1
ERAP2	ENSG00000164308	소포체 아미노펩티다아제 2
ERBB3	ENSG00000065361	Erb-b2 수용체 티로신 키나아제 3
ERLIN1	ENSG00000107566	ER 지질 래프트 관련 1
ERLIN2	ENSG00000147475	ER 지질 래프트 관련 2
ERN1	ENSG00000178607	소포체에서 핵으로의 신호전달 1
ERN2	ENSG00000134398	소포체에서 핵으로의 신호전달 2
ERO1A	ENSG00000197930	소포체 옥시도리덕타아제 알파
ERO1B	ENSG00000086619	소포체 옥시도리덕타아제 베타
ERP27	ENSG00000139055	소포체 단백질 27
ERP29	ENSG00000089248	소포체 단백질 29
ERP44	ENSG00000023318	소포체 단백질 44
ERV3-1	ENSG00000213462	내인성 레트로바이러스 군 3, 구성원 1
ESM1	ENSG00000164283	내피 세포 특이적 분자 1
ESRP1	ENSG00000104413	상피 스플라이싱 조절 단백질 1
EXOG	ENSG00000157036	엔도/엑소뉴클레아제 (5'-3'), 엔도뉴클레아제 G 유사
EXTL1	ENSG00000158008	엑소스토신 유사 글리코실트랜스퍼라아제 1
EXTL2	ENSG00000162694	엑소스토신 유사 글리코실트랜스퍼라아제 2
F10	ENSG00000126218	응고 인자 X
F11	ENSG00000088926	응고 인자 XI
F12	ENSG00000131187	응고 인자 XII (하게만 인자)
F13B	ENSG00000143278	응고 인자 XIII, B 폴리펩티드
F2	ENSG00000180210	응고 인자 II (트롬빈)
F2R	ENSG00000181104	응고 인자 II (트롬빈) 수용체
F2RL3	ENSG00000127533	응고 인자 II (트롬빈) 수용체 유사 3
F5	ENSG00000198734	응고 인자 V (프로악셀레린, 불안정 인자)
F7	ENSG00000057593	응고 인자 VII (혈청 프로트롬빈 전환 촉진인자)

[0288]

[0289]

F8	ENSG00000185010	응고 인자 VIII, 응고 촉진성 성분
F9	ENSG00000101981	응고 인자 IX
FABP6	ENSG00000170231	지방산 결합 단백질 6, 회장
FAM107B	ENSG00000065809	서열 유사성을 가진 패밀리 107, 구성원 B
FAM131A	ENSG00000175182	서열 유사성을 가진 패밀리 131, 구성원 A
FAM132A	ENSG00000184163	서열 유사성을 가진 패밀리 132, 구성원 A
FAM132B	ENSG00000178752	서열 유사성을 가진 패밀리 132, 구성원 B
FAM150A	ENSG00000196711	서열 유사성을 가진 패밀리 150, 구성원 A
FAM150B	ENSG00000189292	서열 유사성을 가진 패밀리 150, 구성원 B
FAM171A1	ENSG00000148468	서열 유사성을 가진 패밀리 171, 구성원 A1
FAM171B	ENSG00000144369	서열 유사성을 가진 패밀리 171, 구성원 B
FAM172A	ENSG00000113391	서열 유사성을 가진 패밀리 172, 구성원 A
FAM175A	ENSG00000163322	서열 유사성을 가진 패밀리 175, 구성원 A
FAM177A1	ENSG00000151327	서열 유사성을 가진 패밀리 177, 구성원 A1
FAM179B	ENSG00000198718	서열 유사성을 가진 패밀리 179, 구성원 B
FAM180A	ENSG00000189320	서열 유사성을 가진 패밀리 180, 구성원 A
FAM189A1	ENSG00000104059	서열 유사성을 가진 패밀리 189, 구성원 A1
FAM198A	ENSG00000144649	서열 유사성을 가진 패밀리 198, 구성원 A
FAM19A1	ENSG00000183662	서열 유사성을 가진 패밀리 19 (케모카인 (C-C 모티프) 유사), 구성원 A1
FAM19A2	ENSG00000198673	서열 유사성을 가진 패밀리 19 (케모카인 (C-C 모티프) 유사), 구성원 A2
FAM19A3	ENSG00000184599	서열 유사성을 가진 패밀리 19 (케모카인 (C-C 모티프) 유사), 구성원 A3
FAM19A4	ENSG00000163377	서열 유사성을 가진 패밀리 19 (케모카인 (C-C 모티프) 유사), 구성원 A4
FAM19A5	ENSG00000219438	서열 유사성을 가진 패밀리 19 (케모카인 (C-C 모티프) 유사), 구성원 A5
FAM20A	ENSG00000108950	서열 유사성을 가진 패밀리 20, 구성원 A
FAM20C	ENSG00000177706	서열 유사성을 가진 패밀리 20, 구성원 C
FAM213A	ENSG00000122378	서열 유사성을 가진 패밀리 213, 구성원 A
FAM26D	ENSG00000164451	서열 유사성을 가진 패밀리 26, 구성원 D
FAM46B	ENSG00000158246	서열 유사성을 가진 패밀리 46, 구성원 B
FAM57A	ENSG00000167695	서열 유사성을 가진 패밀리 57, 구성원 A
FAM78A	ENSG00000126882	서열 유사성을 가진 패밀리 78, 구성원 A
FAM96A	ENSG00000166797	서열 유사성을 가진 패밀리 96, 구성원 A
FAM9B	ENSG00000177138	서열 유사성을 가진 패밀리 9, 구성원 B
FAP	ENSG00000078098	섬유모세포 활성화 단백질, 알파
FAS	ENSG00000026103	Fas 세포 표면 사멸 수용체
FAT1	ENSG00000083857	FAT 비정형 카드헤린1
FBLN1	ENSG00000077942	피불린 1
FBLN2	ENSG00000163520	피불린 2
FBLN5	ENSG00000140092	피불린 5
FBLN7	ENSG00000144152	피불린 7
FBN1	ENSG00000166147	피브릴린 1
FBN2	ENSG00000138829	피브릴린 2

FBN3	ENSG00000142449	피브릴린 3
FBXW7	ENSG00000109670	F-박스 및 WD 반복 도메인 함유 7, E3 유비퀴틴 단백질 리가아제
FCAR	ENSG00000186431	IgA 수용체의 Fc 단편
FCGBP	ENSG00000275395	IgG 결합 단백질의 Fc 단편
FCGR1B	ENSG00000198019	IgG의 Fc 단편, 고친화성 Ib, 수용체 (CD64)
FCGR3A	ENSG00000203747	IgG의 Fc 단편, 저친화성 IIIa, 수용체 (CD16a)
FCGRT	ENSG00000104870	IgG의 Fc 단편, 수용체, 수송체, 알파
FCMR	ENSG00000162894	IgM의 Fc 단편 수용체
FCN1	ENSG00000085265	피콜린 (콜라겐/피브리노겐 도메인 함유) 1
FCN2	ENSG00000160339	피콜린 (콜라겐/피브리노겐 도메인 함유 렉틴) 2
FCN3	ENSG00000142748	피콜린 (콜라겐/피브리노겐 도메인 함유) 3
FCRL1	ENSG00000163534	Fc 수용체 유사 1
FCRL3	ENSG00000160856	Fc 수용체 유사 3
FCRL5	ENSG00000143297	Fc 수용체 유사 5
FCRLA	ENSG00000132185	Fc 수용체 유사 A
FCRLB	ENSG00000162746	Fc 수용체 유사 B
FDCSP	ENSG00000181617	여포성 수상돌기 세포 분비 단백질
FETUB	ENSG00000090512	페투인 B
FGA	ENSG00000171560	피브리노겐 알파쇄
FGB	ENSG00000171564	피브리노겐 베타쇄
FGF10	ENSG00000070193	섬유모세포 성장 인자 10
FGF17	ENSG00000158815	섬유모세포 성장 인자 17
FGF18	ENSG00000156427	섬유모세포 성장 인자 18
FGF19	ENSG00000162344	섬유모세포 성장 인자 19
FGF21	ENSG00000105550	섬유모세포 성장 인자 21
FGF22	ENSG00000070388	섬유모세포 성장 인자 22
FGF23	ENSG00000118972	섬유모세포 성장 인자 23
FGF3	ENSG00000186895	섬유모세포 성장 인자 3
FGF4	ENSG00000075388	섬유모세포 성장 인자 4
FGF5	ENSG00000138675	섬유모세포 성장 인자 5
FGF7	ENSG00000140285	섬유모세포 성장 인자 7
FGF8	ENSG00000107831	섬유모세포 성장 인자 8 (안드로겐 유도성)
FGFBP1	ENSG00000137440	섬유모세포 성장 인자 결합 단백질 1
FGFBP2	ENSG00000137441	섬유모세포 성장 인자 결합 단백질 2
FGFBP3	ENSG00000174721	섬유모세포 성장 인자 결합 단백질 3
FGFR1	ENSG00000077782	섬유모세포 성장 인자 수용체 1
FGFR2	ENSG00000066468	섬유모세포 성장 인자 수용체 2
FGFR3	ENSG00000068078	섬유모세포 성장 인자 수용체 3
FGFR4	ENSG00000160867	섬유모세포 성장 인자 수용체 4
FGFRL1	ENSG00000127418	섬유모세포 성장 인자 수용체 유사 1
FGG	ENSG00000171557	피브리노겐 감마쇄
FGL1	ENSG00000104760	피브리노겐 유사 1
FGL2	ENSG00000127951	피브리노겐 유사 2

[0290]

FHL1	ENSG00000022267	포앤어하프(Four and a half) LIM 도메인 1
FHOD3	ENSG00000134775	포르민 상동성 2 도메인 함유 3
FIBIN	ENSG00000176971	지느러미 아체 개시 인자 상동체 (제브라피시)
FICD	ENSG00000198855	FIC 도메인 함유
FIGF	ENSG00000165197	C-fos유도성 성장 인자 (혈관내피 성장 인자 D)
FJX1	ENSG00000179431	포 조인티드 박스(Four jointed box) 1
FKBP10	ENSG00000141756	FK506 결합 단백질 10, 65 kDa
FKBP11	ENSG00000134285	FK506 결합 단백질 11, 19 kDa
FKBP14	ENSG00000106080	FK506 결합 단백질 14, 22 kDa
FKBP2	ENSG00000173486	FK506 결합 단백질 2, 13kDa
FKBP7	ENSG00000079150	FK506 결합 단백질 7
FKBP9	ENSG00000122642	FK506 결합 단백질 9, 63 kDa
FLT1	ENSG00000102755	Fms 관련 티로신 키나아제 1
FLT4	ENSG00000037280	Fms 관련 티로신 키나아제 4
FMO1	ENSG00000010932	플라빈 함유 모노옥시게나아제 1
FMO2	ENSG00000094963	플라빈 함유 모노옥시게나아제 2 (비기능성)
FMO3	ENSG00000007933	플라빈 함유 모노옥시게나아제 3
FMO5	ENSG00000131781	플라빈 함유 모노옥시게나아제 5
FMOD	ENSG00000122176	피브로모듈린
FN1	ENSG00000115414	피브로넥틴 1
FNDC1	ENSG00000164694	피브로넥틴 III형 도메인 함유 1
FNDC7	ENSG00000143107	피브로넥틴 III형 도메인 함유 7
FOCAD	ENSG00000188352	포카드헤신
FOLR2	ENSG00000165457	엽산 수용체 2 (태아)
FOLR3	ENSG00000110203	엽산 수용체 3 (감마)
FOXRED2	ENSG00000100350	FAD 의존성 옥시도리덕타아제 도메인 함유 2
FP325331.1	ENSG00000278881	특성화되지 않은 단백질 UNQ6126/PRO20091
FPGS	ENSG00000136877	폴리폴리글루타메이트 신타아제
FRAS1	ENSG00000138759	프레이저 세포 외 기질 복합체 서브유닛 1
FREM1	ENSG00000164946	FRAS1 관련 세포 외 기질 1
FREM3	ENSG00000183090	FRAS1 관련 세포 외 기질 3
FRMPD2	ENSG00000170324	FERM 및 PDZ 도메인 함유 2
FRZB	ENSG00000162998	프리즐 관련 단백질
FSHB	ENSG00000131808	난포 자극 호르몬, 베타 폴리펩티드
FSHR	ENSG00000170820	난포 자극 호르몬 수용체
FST	ENSG00000134363	폴리스타틴
FSTL1	ENSG00000163430	폴리스타틴 유사 1
FSTL3	ENSG00000070404	폴리스타틴 유사 3 (분비 당단백질)
FSTL4	ENSG00000053108	폴리스타틴 유사 4
FSTL5	ENSG00000168843	폴리스타틴 유사 5
FTCDNL1	ENSG00000226124	포르미미노트랜스퍼라아제 시클로디아미나아제 N-말단 유사
FUCA1	ENSG00000179163	푸코시다아제, 알파-L- 1, 조직
FUCA2	ENSG00000001036	푸코시다아제, 알파-L- 2, 혈장

[0291]

FURIN	ENSG00000140564	푸린(쌍을 이룬 염기성 아미노산 절단 효소)
FUT10	ENSG00000172728	푸코실트랜스퍼라아제 10 (알파 (1,3) 푸코실트랜스퍼라아제)
FUT11	ENSG00000196968	푸코실트랜스퍼라아제 11 (알파 (1,3) 푸코실트랜스퍼라아제)
FXN	ENSG00000165060	프라택신
FXR1	ENSG00000114416	취약 X 정신 지체, 상염색 상동체 1
FXYD3	ENSG00000089356	FXYD 도메인 함유 이온 수송체 조절 인자 3
GABBR1	ENSG00000204681	감마-아미노부티르산 (GABA) B 수용체, 1
GABRA1	ENSG00000022355	감마-아미노부티르산 (GABA) A 수용체, 알파 1
GABRA2	ENSG00000151834	감마-아미노부티르산 (GABA) A 수용체, 알파 2
GABRA5	ENSG00000186297	감마-아미노부티르산 (GABA) A 수용체, 알파 5
GABRG3	ENSG00000182256	감마-아미노부티르산 (GABA) A 수용체, 감마 3
GABRP	ENSG00000094755	감마-아미노부티르산 (GABA) A 수용체, 파이
GAL	ENSG00000069482	갈라닌/GMAP 프리프로펩티드
GAL3ST1	ENSG00000128242	갈락토오스-3-O-설포트랜스퍼라아제 1
GAL3ST2	ENSG00000154252	갈락토오스-3-O-설포트랜스퍼라아제 2
GAL3ST3	ENSG00000175229	갈락토오스-3-O-설포트랜스퍼라아제 3
GALC	ENSG00000054983	갈락토실세라미다아제
GALNS	ENSG00000141012	갈락토사민 (N-아세틸)-6-설파타아제
GALNT10	ENSG00000164574	폴리펩티드 N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라아제 10
GALNT12	ENSG00000119514	폴리펩티드 N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라아제 12
GALNT15	ENSG00000131386	폴리펩티드 N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라아제 15
GALNT2	ENSG00000143641	폴리펩티드 N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라아제 2
GALNT6	ENSG00000139629	폴리펩티드 N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라아제 6
GALNT8	ENSG00000130035	폴리펩티드 N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라아제 8
GALNTL6	ENSG00000174473	폴리펩티드 N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라아제 유사 6
GALP	ENSG00000197487	갈라닌 유사 펩티드
GANAB	ENSG00000089597	글루코시다아제, 알파; 신경 AB
GARS	ENSG00000106105	글리실-tRNA 신테타아제
GAS1	ENSG00000180447	성장 정지-특이적 1
GAS6	ENSG00000183087	성장 정지-특이적 6
GAST	ENSG00000184502	가스트린
GBA	ENSG00000177628	글루코시다아제, 베타, 산
GBGT1	ENSG00000148288	글로보시드 알파-1,3-N-아세틸갈락토사미닐트랜스퍼라아제 1
GC	ENSG00000145321	군-특이적 성분 (비타민 D 결합 단백질)
GCG	ENSG00000115263	글루카곤
GCGR	ENSG00000215644	글루카곤 수용체
GCNT7	ENSG00000124091	글루코사미닐 (N-아세틸) 트랜스퍼라아제 패밀리 구성원 7
GCSH	ENSG00000140905	글리신 절단 시스템 단백질 H (아미노메틸 운반체)
GDF1	ENSG00000130283	성장 분화 인자 1
GDF10	ENSG00000266524	성장 분화 인자 10
GDF11	ENSG00000135414	성장 분화 인자 11
GDF15	ENSG00000130513	성장 분화 인자 15
GDF2	ENSG00000263761	성장 분화 인자 2

[0292]

GDF3	ENSG00000184344	성장 분화 인자 3
GDF5	ENSG00000125965	성장 분화 인자 5
GDF6	ENSG00000156466	성장 분화 인자 6
GDF7	ENSG00000143869	성장 분화 인자 7
GDF9	ENSG00000164404	성장 분화 인자 9
GDNF	ENSG00000168621	신경교세포 유래 신경영양 인자
GFOD2	ENSG00000141098	글루코오스-프룩토오스 옥시도리덕타아제 도메인 함유 2
GFPT2	ENSG00000131459	글루타민-프룩토오스-6-포스페이트 트랜스아미나아제 2
GFRA2	ENSG00000168546	GDNF 패밀리 수용체 알파 2
GFRA4	ENSG00000125861	GDNF 패밀리 수용체 알파 4
GGA2	ENSG00000103365	골지 관련, 감마 아답틴 이어 함유, ARF 결합 단백질 2
GGH	ENSG00000137563	감마-글루타밀 히드롤라아제 (콘쥬가아제, 폴리폴리(folypoly)감마글루타밀 히드롤라아제)
GGT1	ENSG00000100031	감마-글루타밀트랜스펩타아제 1
GGT5	ENSG00000099998	감마-글루타밀트랜스펩타아제 5
GH1	ENSG00000259384	성장 호르몬 1
GH2	ENSG00000136487	성장 호르몬 2
GHDC	ENSG00000167925	GH3 도메인 함유
GHRH	ENSG00000118702	성장 호르몬 방출 호르몬
GHRHR	ENSG00000106128	성장 호르몬 방출 호르몬 수용체
GHRL	ENSG00000157017	그렐린/오베스타틴 프리프로펩티드
GIF	ENSG00000134812	위 내인성 인자 (비타민 B 합성)
GIP	ENSG00000159224	위 억제 폴리펩티드
GKN1	ENSG00000169605	가스트로카인 1
GKN2	ENSG00000183607	가스트로카인 2
GLA	ENSG00000102393	갈락토시다아제, 알파
GLB1	ENSG00000170266	갈락토시다아제, 베타 1
GLB1L	ENSG00000163521	갈락토시다아제, 베타 1 유사
GLB1L2	ENSG00000149328	갈락토시다아제, 베타 1 유사 2
GLCE	ENSG00000138604	글루쿠론산 에피머라아제
GLG1	ENSG00000090863	골지 당단백질 1
GLIPR1	ENSG00000139278	GLI 발병기전 관련 1
GLIPR1L1	ENSG00000173401	GLI 발병기전 관련 1 유사 1
GLIS3	ENSG00000107249	GLIS 패밀리 아연 핑거3
GLMP	ENSG00000198715	글리코실화 리소좀 막 단백질
GLRB	ENSG00000109738	글리신 수용체, 베타
GLS	ENSG00000115419	글루타미나아제
GLT6D1	ENSG00000204007	글리코실트랜스펩타아제 6 도메인 함유 1
GLTPD2	ENSG00000182327	당지질 운반 단백질 도메인 함유 2
GLUD1	ENSG00000148672	글루타메이트 디히드로게나제 1
GM2A	ENSG00000196743	GM2 강글리오시드 활성화 인자
GML	ENSG00000104499	글리코실포스파티딜이노시톨 고정 분자 유사
GNAS	ENSG00000087460	GNAS 복합체 유전자좌

[0293]

GNLY	ENSG00000115523	그래뉼리신
GNPTG	ENSG00000090581	N-아세틸글루코사민-1-포스페이트 트랜스퍼라아제, 감마 서브유닛
GNRH1	ENSG00000147437	생식샘 자극 호르몬 방출 호르몬 1 (황체형성 호르몬 방출 호르몬)
GNRH2	ENSG00000125787	생식샘 자극 호르몬 방출 호르몬 2
GNS	ENSG00000135677	글루코사민 (N-아세틸)-6-설파타아제
GOLM1	ENSG00000135052	골지 막 단백질 1
GORAB	ENSG00000120370	골진, RAB6-상호작용성
GOT2	ENSG00000125166	글루탐산-옥살아세트산 트랜스아미나아제 2, 미토콘드리아
GP2	ENSG00000169347	당단백질 2 (자이모겐 과립 막)
GP6	ENSG00000088053	당단백질 VI (혈소판)
GPC2	ENSG00000213420	글리피칸 2
GPC5	ENSG00000179399	글리피칸 5
GPC6	ENSG00000183098	글리피칸 6
GPD2	ENSG00000115159	글리세롤-3-포스페이트 디히드로게나제 2 (미토콘드리아)
GPER1	ENSG00000164850	G 단백질-결합 에스트로겐 수용체 1
GPHA2	ENSG00000149735	당단백질 호르몬 알파 2
GPHB5	ENSG00000179600	당단백질 호르몬 베타 5
GPIHBP1	ENSG00000277494	글리코실포스파티딜이노시톨 고정 고밀도 지방단백질 결합 단백질 1
GPLD1	ENSG00000112293	글리코실포스파티딜이노시톨 특이적 포스포리파아제 D1
GPNMB	ENSG00000136235	당단백질 (막 횡단) nmb
GPR162	ENSG00000250510	G 단백질-결합 수용체 162
GPX3	ENSG00000211445	글루타티온 퍼옥시다아제 3
GPX4	ENSG00000167468	글루타티온 퍼옥시다아제 4
GPX5	ENSG00000224586	글루타티온 퍼옥시다아제 5
GPX6	ENSG00000198704	글루타티온 퍼옥시다아제 6
GPX7	ENSG00000116157	글루타티온 퍼옥시다아제 7
GREM1	ENSG00000166923	그렘린 1, DAN 패밀리 BMP 작용제
GREM2	ENSG00000180875	그렘린 2, DAN 패밀리 BMP 작용제
GRHL3	ENSG00000158055	그레이니헤드 유사 전사 인자 3
GRIA2	ENSG00000120251	글루타메이트 수용체, 이온성, AMPA 2
GRIA3	ENSG00000125675	글루타메이트 수용체, 이온성, AMPA 3
GRIA4	ENSG00000152578	글루타메이트 수용체, 이온성, AMPA 4
GRIK2	ENSG00000164418	글루타메이트 수용체, 이온성, 카이네이트 2
GRIN2B	ENSG00000273079	글루타메이트 수용체, 이온성, N-메틸 D-아스파테이트 2B
GRM2	ENSG00000164082	글루타메이트 수용체, 대사성 2
GRM3	ENSG00000198822	글루타메이트 수용체, 대사성 3
GRM5	ENSG00000168959	글루타메이트 수용체, 대사성 5
GRN	ENSG00000030582	그래뉼린
GRP	ENSG00000134443	가스트린 방출 펩티드
GSG1	ENSG00000111305	생식 세포 관련 1
GSN	ENSG00000148180	겔솔린
GTDC1	ENSG00000121964	글리코실트랜스퍼라아제 유사 도메인 함유 1

[0294]

GTPBP10	ENSG00000105793	GTP-결합 단백질 10 (추정)
GUCA2A	ENSG00000197273	구아닐레이트 시클라아제 활성화 인자 2A (구아닐린)
GUCA2B	ENSG00000044012	구아닐레이트 시클라아제 활성화 인자 2B (유로구아닐린)
GUSB	ENSG00000169919	글루쿠로니다아제, 베타
GVQW1	ENSG00000241043	GVQW 모티프 함유 1
GXYLT1	ENSG00000151233	글루코시드 자일로실트랜스퍼라아제 1
GXYLT2	ENSG00000172986	글루코시드 자일로실트랜스퍼라아제 2
GYLTL1B	ENSG00000165905	글리코실트랜스퍼라아제 유사 1B
GYPB	ENSG00000250361	글리코포린 B (MNS 혈액형)
GZMA	ENSG00000145649	그랜자임 A (그랜자임 1, 세포독성 T-림프구 관련 세린 에스테라아제 3)
GZMB	ENSG00000100453	그랜자임 B (그랜자임 2, 세포독성 T-림프구 관련 세린 에스테라아제 1)
GZMH	ENSG00000100450	그랜자임 H (카텝신 G 유사 2, 단백질 h-CCPX)
GZMK	ENSG00000113088	그랜자임 K (그랜자임 3; 트립타아제 II)
GZMM	ENSG00000197540	그랜자임 M (림프구 met-ase 1)
H6PD	ENSG00000049239	헥소오스-6-포스페이트 디히드로게나제 (글루코오스 1-디히드로게나제)
HABP2	ENSG00000148702	히알루로난 결합 단백질 2
HADHB	ENSG00000138029	히드록시아실-CoA 디히드로게나제/3-케토아실-CoA 티올라아제/에노일-CoA 히드라타아제 (3중 기능성 단백질), 베타 서브유닛
HAMP	ENSG00000105697	헵시딘 항균 펩티드
HAPLN1	ENSG00000145681	히알루로난 및 프로테오글리칸 연결 단백질 1
HAPLN2	ENSG00000132702	히알루로난 및 프로테오글리칸 연결 단백질 2
HAPLN3	ENSG00000140511	히알루로난 및 프로테오글리칸 연결 단백질 3
HAPLN4	ENSG00000187664	히알루로난 및 프로테오글리칸 연결 단백질 4
HARS2	ENSG00000112855	히스티딜-tRNA 신테타아제 2, 미토콘드리아
HAVCR1	ENSG00000113249	간염 A 바이러스 세포 수용체 1
HCCS	ENSG00000004961	홀로시토크롬 c 신타아제
HCRT	ENSG00000161610	히포크레틴 (오렉신) 신경펩티드 전구체
HEATR5A	ENSG00000129493	HEAT 반복 함유 5A
HEPH	ENSG00000089472	헤파에스틴
HEXA	ENSG00000213614	헥소사미니다아제 A (알파 폴리펩티드)
HEXB	ENSG00000049860	헥소사미니다아제 B (베타 폴리펩티드)
HFE2	ENSG00000168509	혈색소증 2형 (소아)
HGF	ENSG00000019991	간세포 성장 인자 (헤파포이에틴 A; 분산(scatter) 인자)
HGFAC	ENSG00000109758	HGF 활성화 인자
HHIP	ENSG00000164161	헤지호그 상호작용 단백질
HHIPL1	ENSG00000182218	HHIP 유사 1
HHIPL2	ENSG00000143512	HHIP 유사 2
HHLA1	ENSG00000132297	HERV-H LTR 관련 1
HHLA2	ENSG00000114455	HERV-H LTR 관련 2
HIBADH	ENSG00000106049	3-히드록시이소부티레이트 디히드로게나제
HINT2	ENSG00000137133	히스티딘 트리아드(triad) 뉴클레오티드 결합 단백질 2
HLA-A	ENSG00000206503	주요 조직 적합성 복합체, I형, A

[0295]

HLA-C	ENSG00000204525	주요 조직 적합성 복합체, I형, C
HLA-DOA	ENSG00000204252	주요 조직 적합성 복합체, II형, DO 알파
HLA-DPA1	ENSG00000231389	주요 조직 적합성 복합체, II형, DP 알파 1
HLA-DQA1	ENSG00000196735	주요 조직 적합성 복합체, II형, DQ 알파 1
HLA-DQB1	ENSG00000179344	주요 조직 적합성 복합체, II형, DQ 베타 1
HLA-DQB2	ENSG00000232629	주요 조직 적합성 복합체, II형, DQ 베타 2
HMCN1	ENSG00000143341	헤미센틴 1
HMCN2	ENSG00000148357	헤미센틴 2
HMGCL	ENSG00000117305	3-히드록시메틸-3-메틸글루타릴-CoA 리아제
HMHA1	ENSG00000180448	조직 적합성 (부) HA-1
HMSD	ENSG00000221887	조직 적합성 (부) 세르핀 도메인 함유
HP	ENSG00000257017	합토글로빈
HPR	ENSG00000261701	합토글로빈 관련 단백질
HPSE	ENSG00000173083	헤파라나아제
HPSE2	ENSG00000172987	헤파라나아제 2 (불활성)
HPX	ENSG00000110169	헤모펙신
HRC	ENSG00000130528	히스티딘 풍부 칼슘 결합 단백질
HRG	ENSG00000113905	히스티딘 풍부 당단백질
HRSP12	ENSG00000132541	열반응성 단백질 12
HS2ST1	ENSG00000153936	헤파란 설페이트 2-O-설포트랜스퍼라아제 1
HS3ST1	ENSG00000002587	헤파란 설페이트 (글루코사민) 3-O-설포트랜스퍼라아제 1
HS6ST1	ENSG00000136720	헤파란 설페이트 6-O-설포트랜스퍼라아제 1
HS6ST3	ENSG00000185352	헤파란 설페이트 6-O-설포트랜스퍼라아제 3
HSD11B1L	ENSG00000167733	히드록시스테로이드 (11-베타) 디히드로게나제 1 유사
HSD17B11	ENSG00000198189	히드록시스테로이드 (17-베타) 디히드로게나제 11
HSD17B7	ENSG00000132196	히드록시스테로이드 (17-베타) 디히드로게나제 7
HSP90B1	ENSG00000166598	열충격 단백질 90kDa 베타 (Grp94), 구성원 1
HSPA13	ENSG00000155304	열충격 단백질 70kDa 패밀리, 구성원 13
HSPA5	ENSG00000044574	열충격 70kDa 단백질 5 (글루코오스 조절 단백질, 78kDa)
HSPG2	ENSG00000142798	헤파란 설페이트 프로테오글리칸 2
HTATIP2	ENSG00000109854	HIV-1 Tat 상호작용 단백질 2, 30kDa
HTN1	ENSG00000126550	히스타틴 1
HTN3	ENSG00000205649	히스타틴 3
HTRA1	ENSG00000166033	HtrA 세린 펩티다아제 1
HTRA3	ENSG00000170801	HtrA 세린 펩티다아제 3
HTRA4	ENSG00000169495	HtrA 세린 펩티다아제 4
HYAL1	ENSG00000114378	히알루로노글루코사미니다아제 1
HYAL2	ENSG00000068001	히알루로노글루코사미니다아제 2
HYAL3	ENSG00000186792	히알루로노글루코사미니다아제 3
HYOU1	ENSG00000149428	저산소증 상향 조절성 1
IAPP	ENSG00000121351	췌도 아밀로이드 폴리펩티드
IBSP	ENSG00000029559	인테그린 결합 시알로단백질
ICAM1	ENSG00000090339	세포 내 부착 분자 1

[0296]

ICAM2	ENSG00000108622	세포 내 부착 분자 2
ICAM4	ENSG00000105371	세포 내 부착 분자 4 (란트슈타이너-비너 혈액형)
ID1	ENSG00000125968	DNA 결합 1의 억제제, 우성 음성 나선-루프-나선 단백질
IDE	ENSG00000119912	인슐린 분해 효소
IDNK	ENSG00000148057	IdnK, 글루코노키나아제 상동체 (이. 콜라이)
IDS	ENSG00000010404	이두로네이트 2-설파타아제
IDUA	ENSG00000127415	이두로니다아제, 알파-L-
IFI27L2	ENSG00000119632	인터페론, 알파-유도성 단백질 27 유사 2
IFI30	ENSG00000216490	인터페론, 감마-유도성 단백질 30
IFNA1	ENSG00000197919	인터페론, 알파 1
IFNA10	ENSG00000186803	인터페론, 알파 10
IFNA13	ENSG00000233816	인터페론, 알파 13
IFNA14	ENSG00000228083	인터페론, 알파 14
IFNA16	ENSG00000147885	인터페론, 알파 16
IFNA17	ENSG00000234829	인터페론, 알파 17
IFNA2	ENSG00000188379	인터페론, 알파 2
IFNA21	ENSG00000137080	인터페론, 알파 21
IFNA4	ENSG00000236637	인터페론, 알파 4
IFNA5	ENSG00000147873	인터페론, 알파 5
IFNA6	ENSG00000120235	인터페론, 알파 6
IFNA7	ENSG00000214042	인터페론, 알파 7
IFNA8	ENSG00000120242	인터페론, 알파 8
IFNAR1	ENSG00000142166	인터페론 (알파, 베타 및 오메가) 수용체 1
IFNB1	ENSG00000171855	인터페론, 베타 1, 섬유모세포
IFNE	ENSG00000184995	인터페론, 엡실론
IFNG	ENSG00000111537	인터페론, 감마
IFNGR1	ENSG00000027697	인터페론 감마 수용체 1
IFNL1	ENSG00000182393	인터페론, 람다 1
IFNL2	ENSG00000183709	인터페론, 람다 2
IFNL3	ENSG00000197110	인터페론, 람다 3
IFNLR1	ENSG00000185436	인터페론, 람다 수용체 1
IFNW1	ENSG00000177047	인터페론, 오메가 1
IGF1	ENSG00000017427	인슐린 유사 성장 인자 1 (소마토메딘 C)
IGF2	ENSG00000167244	인슐린 유사 성장 인자 2
IGFALS	ENSG00000099769	인슐린 유사 성장 인자 결합 단백질, 산 불안정 서브유닛
IGFBP1	ENSG00000146678	인슐린 유사 성장 인자 결합 단백질 1
IGFBP2	ENSG00000115457	인슐린 유사 성장 인자 결합 단백질 2, 36kDa
IGFBP3	ENSG00000146674	인슐린 유사 성장 인자 결합 단백질 3
IGFBP4	ENSG00000141753	인슐린 유사 성장 인자 결합 단백질 4
IGFBP5	ENSG00000115461	인슐린 유사 성장 인자 결합 단백질 5
IGFBP6	ENSG00000167779	인슐린 유사 성장 인자 결합 단백질 6
IGFBP7	ENSG00000163453	인슐린 유사 성장 인자 결합 단백질 7
IGFBPL1	ENSG00000137142	인슐린 유사 성장 인자 결합 단백질 유사 1

[0297]

IGFL1	ENSG00000188293	IGF 유사 패밀리 구성원 1
IGFL2	ENSG00000204866	IGF 유사 패밀리 구성원 2
IGFL3	ENSG00000188624	IGF 유사 패밀리 구성원 3
IGFLR1	ENSG00000126246	IGF 유사 패밀리 수용체 1
IGIP	ENSG00000182700	IgA 유도성 단백질
IGLON5	ENSG00000142549	IgLON 패밀리 구성원 5
IGSF1	ENSG00000147255	면역글로불린 슈퍼패밀리, 구성원 1
IGSF10	ENSG00000152580	면역글로불린 슈퍼패밀리, 구성원 10
IGSF11	ENSG00000144847	면역글로불린 슈퍼패밀리, 구성원 11
IGSF21	ENSG00000117154	면역글로불린 슈퍼패밀리, 구성원 21
IGSF8	ENSG00000162729	면역글로불린 슈퍼패밀리, 구성원 8
IGSF9	ENSG00000085552	면역글로불린 슈퍼패밀리, 구성원 9
IHH	ENSG00000163501	인디안 헤지호그
IL10	ENSG00000136634	인터류킨 10
IL11	ENSG00000095752	인터류킨 11
IL11RA	ENSG00000137070	인터류킨 11 수용체, 알파
IL12B	ENSG00000113302	인터류킨 12B
IL12RB1	ENSG00000096996	인터류킨 12 수용체, 베타 1
IL12RB2	ENSG00000081985	인터류킨 12 수용체, 베타 2
IL13	ENSG00000169194	인터류킨 13
IL13RA1	ENSG00000131724	인터류킨 13 수용체, 알파 1
IL15RA	ENSG00000134470	인터류킨 15 수용체, 알파
IL17A	ENSG00000112115	인터류킨 17A
IL17B	ENSG00000127743	인터류킨 17B
IL17C	ENSG00000124391	인터류킨 17C
IL17D	ENSG00000172458	인터류킨 17D
IL17F	ENSG00000112116	인터류킨 17F
IL17RA	ENSG00000177663	인터류킨 17 수용체 A
IL17RC	ENSG00000163702	인터류킨 17 수용체 C
IL17RE	ENSG00000163701	인터류킨 17 수용체 E
IL18BP	ENSG00000137496	인터류킨 18 결합 단백질
IL18R1	ENSG00000115604	인터류킨 18 수용체 1
IL18RAP	ENSG00000115607	인터류킨 18 수용체 보조 단백질
IL19	ENSG00000142224	인터류킨 19
IL1R1	ENSG00000115594	인터류킨 1 수용체, I형
IL1R2	ENSG00000115590	인터류킨 1 수용체, II형
IL1RAP	ENSG00000196083	인터류킨 1 수용체 보조 단백질
IL1RL1	ENSG00000115602	인터류킨 1 수용체 유사 1
IL1RL2	ENSG00000115598	인터류킨 1 수용체 유사 2
IL1RN	ENSG00000136689	인터류킨 1 수용체 작용제
IL2	ENSG00000109471	인터류킨 2
IL20	ENSG00000162891	인터류킨 20
IL20RA	ENSG00000016402	인터류킨 20 수용체, 알파

[0298]

IL21	ENSG00000138684	인터류킨 21
IL22	ENSG00000127318	인터류킨 22
IL22RA2	ENSG00000164485	인터류킨 22 수용체, 알파 2
IL23A	ENSG00000110944	인터류킨 23, 알파 서브유닛 p19
IL24	ENSG00000162892	인터류킨 24
IL25	ENSG00000166090	인터류킨 25
IL26	ENSG00000111536	인터류킨 26
IL27	ENSG00000197272	인터류킨 27
IL2RB	ENSG00000100385	인터류킨 2 수용체, 베타
IL3	ENSG00000164399	인터류킨 3
IL31	ENSG00000204671	인터류킨 31
IL31RA	ENSG00000164509	인터류킨 31 수용체 A
IL32	ENSG00000008517	인터류킨 32
IL34	ENSG00000157368	인터류킨 34
IL3RA	ENSG00000185291	인터류킨 3 수용체, 알파 (저친화도)
IL4	ENSG00000113520	인터류킨 4
IL4I1	ENSG00000104951	인터류킨 4 유도성 1
IL4R	ENSG00000077238	인터류킨 4 수용체
IL5	ENSG00000113525	인터류킨 5
IL5RA	ENSG00000091181	인터류킨 5 수용체, 알파
IL6	ENSG00000136244	인터류킨 6
IL6R	ENSG00000160712	인터류킨 6 수용체
IL6ST	ENSG00000134352	인터류킨 6 신호전달 인자
IL7	ENSG00000104432	인터류킨 7
IL7R	ENSG00000168685	인터류킨 7 수용체
IL9	ENSG00000145839	인터류킨 9
ILDR1	ENSG00000145103	면역글로불린 유사 도메인 함유 수용체 1
ILDR2	ENSG00000143195	면역글로불린 유사 도메인 함유 수용체 2
IMP4	ENSG00000136718	IMP4, U3 작은 핵소체 리보뉴클레오단백질
IMPG1	ENSG00000112706	광수용체간 기질 프로테오글리칸 1
INHA	ENSG00000123999	인히빈, 알파
INHBA	ENSG00000122641	인히빈, 베타 A
INHBB	ENSG00000163083	인히빈, 베타 B
INHBC	ENSG00000175189	인히빈, 베타 C
INHBE	ENSG00000139269	인히빈, 베타 E
INPP5A	ENSG00000068383	이노시톨 폴리포스페이트-5-포스파타아제 A
INS	ENSG00000254647	인슐린
INS-IGF2	ENSG00000129965	INS-IGF2 번역초과
INSL3	ENSG00000248099	인슐린 유사 3 (라이디히 세포)
INSL4	ENSG00000120211	인슐린 유사 4 (태반)
INSL5	ENSG00000172410	인슐린 유사 5
INSL6	ENSG00000120210	인슐린 유사 6
INTS3	ENSG00000143624	인티그레이터 복합체 서브유닛 3

[0299]

IPO11	ENSG00000086200	임포르틴 11
IPO9	ENSG00000198700	임포르틴 9
IQCF6	ENSG00000214686	IQ 모티프 함유 F6
IRAK3	ENSG00000090376	인터류킨-1 수용체 관련 키나아제 3
IRS4	ENSG00000133124	인슐린 수용체 기질 4
ISLR	ENSG00000129009	면역글로불린 슈퍼패밀리 함유 류신 풍부 반복
ISLR2	ENSG00000167178	면역글로불린 슈퍼패밀리 함유 류신 풍부 반복 2
ISM1	ENSG00000101230	이스민(Isthmin) 1, 혈관형성 억제제
ISM2	ENSG00000100593	이스민 2
ITGA4	ENSG00000115232	인테그린, 알파 4 (항원 CD49D, VLA-4 수용체의 알파 4 서브유닛)
ITGA9	ENSG00000144668	인테그린, 알파 9
ITGAL	ENSG00000005844	인테그린, 알파 L (항원 CD11A (p180), 림프구 기능 관련 항원 1; 알파 폴리펩티드)
ITGAX	ENSG00000140678	인테그린, 알파 X (보체 성분 3 수용체 4 서브유닛)
ITGB1	ENSG00000150093	인테그린, 베타 1 (피브로넥틴 수용체, 베타 폴리펩티드, 항원 CD29는 MDF2, MSK12를 포함함)
ITGB2	ENSG00000160255	인테그린, 베타 2 (보체 성분 3 수용체 3 및 4 서브유닛)
ITGB3	ENSG00000259207	인테그린, 베타 3 (혈소판 당단백질 IIIa, 항원 CD61)
ITGB7	ENSG00000139626	인테그린, 베타 7
ITGBL1	ENSG00000198542	인테그린, 베타 유사 1 (EGF 유사 반복 도메인을 가짐)
ITIH1	ENSG00000055957	인터-알파-트립신 억제제 중쇄 1
ITIH2	ENSG00000151655	인터-알파-트립신 억제제 중쇄 2
ITIH3	ENSG00000162267	인터-알파-트립신 억제제 중쇄 3
ITIH4	ENSG00000055955	인터-알파-트립신 억제제 중쇄 패밀리, 구성원 4
ITIH5	ENSG00000123243	인터-알파-트립신 억제제 중쇄 패밀리, 구성원 5
ITIH6	ENSG00000102313	인터-알파-트립신 억제제 중쇄 패밀리, 구성원 6
ITLN1	ENSG00000179914	인텔렉틴 1 (갈락토푸라노오스 결합)
ITLN2	ENSG00000158764	인텔렉틴 2
IZUMO1R	ENSG00000183560	IZUMO1 수용체, JUNO
IZUMO4	ENSG00000099840	IZUMO 패밀리 구성원 4
JCHAIN	ENSG00000132465	다량체 IgA 및 IgM의 연결쇄
JMJD8	ENSG00000161999	주몬지 도메인 함유 8
JSRP1	ENSG00000167476	접합(junctianal) 근소포체 단백질 1
KANSL2	ENSG00000139620	KAT8 조절 NSL 복합체 서브유닛 2
KAZALD1	ENSG00000107821	카잘-형 세린 펩티다아제 억제제 도메인 1
KCNIP3	ENSG00000115041	Kv 통로 상호작용 단백질 3, 칼세닐린
KCNK7	ENSG00000173338	칼륨 통로, 2개의 기공 도메인 서브패밀리 K, 구성원 7
KCNN4	ENSG00000104783	칼륨 통로, 칼슘 활성화 중간체/작은 전도도 서브패밀리 N 알파, 구성원 4
KCNU1	ENSG00000215262	칼륨 통로, 서브패밀리 U, 구성원 1
KCP	ENSG00000135253	키엘린/코르딘 유사 단백질
KDELC1	ENSG00000134901	KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) 함유 1
KDELC2	ENSG00000178202	KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) 함유 2
KDM1A	ENSG00000004487	리신 (K)-특이적 디메틸라아제 1A
KDM3B	ENSG00000120733	리신 (K)-특이적 디메틸라아제 3B

[0300]

KDM6A	ENSG00000147050	리신 (K)-특이적 디메틸라아제 6A
KDM7A	ENSG00000006459	리신 (K)-특이적 디메틸라아제 7A
KDSR	ENSG00000119537	3-케라토디히드로스핑코신 리덕타아제
KERA	ENSG00000139330	케라토칸
KIAA0100	ENSG00000007202	KIAA0100
KIAA0319	ENSG00000137261	KIAA0319
KIAA1324	ENSG00000116299	KIAA1324
KIFC2	ENSG00000167702	키네신 패밀리 구성원 C2
KIR2DL4	ENSG00000189013	살해 세포 면역글로불린 유사 수용체, 2개의 도메인, 긴 세포질 꼬리, 4
KIR3DX1	ENSG00000104970	살해 세포 면역글로불린 유사 수용체, 3개의 도메인, X1
KIRREL2	ENSG00000126259	IRRE 친족 유사 2 (초파리)
KISS1	ENSG00000170498	KiSS-1 전이 억제인자
KLHL11	ENSG00000178502	켈치 유사 패밀리 구성원 11
KLHL22	ENSG00000099910	켈치 유사 패밀리 구성원 22
KLK1	ENSG00000167748	칼리크레인 1
KLK10	ENSG00000129451	칼리크레인 관련 펩티다아제 10
KLK11	ENSG00000167757	칼리크레인 관련 펩티다아제 11
KLK12	ENSG00000186474	칼리크레인 관련 펩티다아제 12
KLK13	ENSG00000167759	칼리크레인 관련 펩티다아제 13
KLK14	ENSG00000129437	칼리크레인 관련 펩티다아제 14
KLK15	ENSG00000174562	칼리크레인 관련 펩티다아제 15
KLK2	ENSG00000167751	칼리크레인 관련 펩티다아제 2
KLK3	ENSG00000142515	칼리크레인 관련 펩티다아제 3
KLK4	ENSG00000167749	칼리크레인 관련 펩티다아제 4
KLK5	ENSG00000167754	칼리크레인 관련 펩티다아제 5
KLK6	ENSG00000167755	칼리크레인 관련 펩티다아제 6
KLK7	ENSG00000169035	칼리크레인 관련 펩티다아제 7
KLK8	ENSG00000129455	칼리크레인 관련 펩티다아제 8
KLK9	ENSG00000213022	칼리크레인 관련 펩티다아제 9
KLKB1	ENSG00000164344	칼리크레인 B, 혈장 (플레쳐 인자) 1
KNDC1	ENSG00000171798	키나아제 비촉매성 C-로브(lobe) 도메인(KIND) 함유 1
KNG1	ENSG00000113889	키니노젠 1
KRBA2	ENSG00000184619	KRAB-A 도메인 함유 2
KREMEN2	ENSG00000131650	크링글 함유 막횡단 단백질 2
KRTDAP	ENSG00000188508	각질세포 분화 관련 단백질
L1CAM	ENSG00000198910	L1 세포 부착 분자
L3MBTL2	ENSG00000100395	L(3)mbt 유사 2 (초파리)
LA16c-380H5.3	ENSG00000270168	
LACE1	ENSG00000135537	유즙분비 상승 1
LACRT	ENSG00000135413	라크리틴
LACTB	ENSG00000103642	락타마아제, 베타
LAG3	ENSG00000089692	림프구 활성화 유전자 3

[0301]

LAIR2	ENSG00000167618	백혈구 관련 면역글로불린 유사 수용체 2
LALBA	ENSG00000167531	락트알부민, 알파-
LAMA1	ENSG00000101680	라미닌, 알파 1
LAMA2	ENSG00000196569	라미닌, 알파 2
LAMA3	ENSG00000053747	라미닌, 알파 3
LAMA4	ENSG00000112769	라미닌, 알파 4
LAMA5	ENSG00000130702	라미닌, 알파 5
LAMB1	ENSG00000091136	라미닌, 베타 1
LAMB2	ENSG00000172037	라미닌, 베타 2 (라미닌 S)
LAMB3	ENSG00000196878	라미닌, 베타 3
LAMB4	ENSG00000091128	라미닌, 베타 4
LAMC1	ENSG00000135862	라미닌, 감마 1 (이전에 LAMB2)
LAMC2	ENSG00000058085	라미닌, 감마 2
LAMC3	ENSG00000050555	라미닌, 감마 3
LAMP3	ENSG00000078081	리소좀 관련 막 단백질 3
LAT	ENSG00000213658	T 세포의 활성화를 위한 링커
LAT2	ENSG00000086730	T 세포 활성화를 위한 링커 패밀리, 구성원 2
LBP	ENSG00000129988	리포폴리사카라이드 결합 단백질
LCAT	ENSG00000213398	레시틴-콜레스테롤 아실트랜스퍼라아제
LCN1	ENSG00000160349	리포칼린 1
LCN10	ENSG00000187922	리포칼린 10
LCN12	ENSG00000184925	리포칼린 12
LCN15	ENSG00000177984	리포칼린 15
LCN2	ENSG00000148346	리포칼린 2
LCN6	ENSG00000267206	리포칼린 6
LCN8	ENSG00000204001	리포칼린 8
LCN9	ENSG00000148386	리포칼린 9
LCORL	ENSG00000178177	리간드 의존성 핵 수용체 보조억제인자 유사
LDLR	ENSG00000130164	저밀도 지방단백질 수용체
LDLRAD2	ENSG00000187942	저밀도 지방단백질 수용체 클래스 A 도메인 함유 2
LEAP2	ENSG00000164406	간 발현 항균 펩티드 2
LECT2	ENSG00000145826	백혈구 세포 유래 케모택신 2
LEFTY1	ENSG00000243709	좌우 결정 인자 1
LEFTY2	ENSG00000143768	좌우 결정 인자 2
LEP	ENSG00000174697	렙틴
LFNG	ENSG00000106003	LFNG O-푸코실펩티드 3-베타-N-아세틸글루코사민트랜스퍼라아제
LGALS3BP	ENSG00000108679	렉틴, 갈락토시드 결합, 가용성, 3 결합 단백질
LGI1	ENSG00000108231	류신 풍부, 신경교종 불활성화 1
LGI2	ENSG00000153012	류신 풍부 반복 LGI 패밀리, 구성원 2
LGI3	ENSG00000168481	류신 풍부 반복 LGI 패밀리, 구성원 3
LGI4	ENSG00000153902	류신 풍부 반복 LGI 패밀리, 구성원 4
LGMN	ENSG00000100600	레구마인
LGR4	ENSG00000205213	류신 풍부 반복 함유 G 단백질-결합 수용체 4

[0302]

LHB	ENSG00000104826	황체형성 호르몬 베타 폴리펩티드
LHCGR	ENSG00000138039	황체형성 호르몬/융모 생식샘 자극 호르몬 수용체
LIF	ENSG00000128342	백혈병 억제 인자
LIFR	ENSG00000113594	백혈병 억제 인자 수용체 알파
LILRA1	ENSG00000104974	백혈구 면역글로불린 유사 수용체, 서브패밀리 A (TM 도메인을 가짐), 구성원 1
LILRA2	ENSG00000239998	백혈구 면역글로불린 유사 수용체, 서브패밀리 A (TM 도메인을 가짐), 구성원 2
LILRB3	ENSG00000204577	백혈구 면역글로불린 유사 수용체, 서브패밀리 B (TM 및 ITIM 도메인을 가짐), 구성원 3
LIME1	ENSG00000203896	Lck 상호작용 막횡단 어댑터 1
LINGO1	ENSG00000169783	류신 풍부 반복 및 Ig 도메인 함유 1
LIPA	ENSG00000107798	리파아제 A, 리소좀산, 콜레스테롤 에스테라아제
LIPC	ENSG00000166035	리파아제, 간
LIPF	ENSG00000182333	리파아제, 위
LIPG	ENSG00000101670	리파아제, 내피
LIPH	ENSG00000163898	리파아제, 구성원 H
LIPK	ENSG00000204021	리파아제, 패밀리 구성원 K
LIPM	ENSG00000173239	리파아제, 패밀리 구성원 M
LIPN	ENSG00000204020	리파아제, 패밀리 구성원 N
LMAN2	ENSG00000169223	렉틴, 만노오스 결합 2
LMNTD1	ENSG00000152936	라민 꼬리 도메인 함유 1
LNX1	ENSG00000072201	마비(numb)-단백질 X 1, E3 유비퀴틴 단백질 리가아제의 리간드
LOX	ENSG00000113083	리실 옥시다아제
LOXL1	ENSG00000129038	리실 옥시다아제 유사 1
LOXL2	ENSG00000134013	리실 옥시다아제 유사 2
LOXL3	ENSG00000115318	리실 옥시다아제 유사 3
LOXL4	ENSG00000138131	리실 옥시다아제 유사 4
LPA	ENSG00000198670	지방단백질, Lp(a)
LPL	ENSG00000175445	지방단백질 리파아제
LPO	ENSG00000167419	락토퍼옥시다아제
LRAT	ENSG00000121207	레시틴 레티놀 아실트랜스퍼라아제 (포스파티딜콜린-레티놀 O-아실트랜스퍼라아제)
LRCH3	ENSG00000186001	류신 풍부 반복 및 칼포닌 상동성 (CH) 도메인 함유 3
LRCOL1	ENSG00000204583	류신 풍부 코리파아제 유사 1
LRFN4	ENSG00000173621	류신 풍부 반복 및 피브로넥틴 III형 도메인 함유 4
LRFN5	ENSG00000165379	류신 풍부 반복 및 피브로넥틴 III형 도메인 함유 5
LRG1	ENSG00000171236	류신 풍부 알파-2-당단백질 1
LRP1	ENSG00000123384	저밀도 지방단백질 수용체 관련 단백질 1
LRP11	ENSG00000120256	저밀도 지방단백질 수용체 관련 단백질 11
LRP1B	ENSG00000168702	저밀도 지방단백질 수용체 관련 단백질 1B
LRP2	ENSG00000081479	저밀도 지방단백질 수용체 관련 단백질 2
LRP4	ENSG00000134569	저밀도 지방단백질 수용체 관련 단백질 4
LRPAP1	ENSG00000163956	저밀도 지방단백질 수용체 관련 단백질 관련 단백질 1
LRRC17	ENSG00000128606	류신 풍부 반복 함유 17

[0303]

LRRC32	ENSG00000137507	류신 풍부 반복 함유 32
LRRC3B	ENSG00000179796	류신 풍부 반복 함유 3B
LRRC4B	ENSG00000131409	류신 풍부 반복 함유 4B
LRRC70	ENSG00000186105	류신 풍부 반복 함유 70
LRRN3	ENSG00000173114	류신 풍부 반복 신경 3
LRRTM1	ENSG00000162951	류신 풍부 반복 막횡단 신경 1
LRRTM2	ENSG00000146006	류신 풍부 반복 막횡단 신경 2
LRRTM4	ENSG00000176204	류신 풍부 반복 막횡단 신경 4
LRTM2	ENSG00000166159	류신 풍부 반복 및 막횡단 도메인 2
LSR	ENSG00000105699	지방분해 촉진성 지방단백질 수용체
LST1	ENSG00000204482	백혈구 특이적 전사체 1
LTA	ENSG00000226979	림포톡신 알파
LTBP1	ENSG00000049323	잠재 형질전환 성장 인자 베타 결합 단백질 1
LTBP2	ENSG00000119681	잠재 형질전환 성장 인자 베타 결합 단백질 2
LTBP3	ENSG00000168056	잠재 형질전환 성장 인자 베타 결합 단백질 3
LTBP4	ENSG00000090006	잠재 형질전환 성장 인자 베타 결합 단백질 4
LTBR	ENSG00000111321	림포톡신 베타 수용체 (TNFR 슈퍼패밀리, 구성원 3)
LTF	ENSG00000012223	락토트랜스페린
LTK	ENSG00000062524	백혈구 수용체 티로신 키나아제
LUM	ENSG00000139329	루미칸
LUZP2	ENSG00000187398	류신 지퍼 단백질 2
LVRN	ENSG00000172901	레베린(Laeverin)
LY6E	ENSG00000160932	림프구 항원 6 복합체, 유전자좌 E
LY6G5B	ENSG00000240053	림프구 항원 6 복합체, 유전자좌 G5B
LY6G6D	ENSG00000244355	림프구 항원 6 복합체, 유전자좌 G6D
LY6G6E	ENSG00000255552	림프구 항원 6 복합체, 유전자좌 G6E (위유전자)
LY6H	ENSG00000176956	림프구 항원 6 복합체, 유전자좌 H
LY6K	ENSG00000160886	림프구 항원 6 복합체, 유전자좌 K
LY86	ENSG00000112799	림프구 항원 86
LY96	ENSG00000154589	림프구 항원 96
LYG1	ENSG00000144214	리소자임 G 유사 1
LYG2	ENSG00000185674	리소자임 G 유사 2
LYNX1	ENSG00000180155	Ly6/뉴로톡신 1
LYPD1	ENSG00000150551	LY6/PLAUR 도메인 함유 1
LYPD2	ENSG00000197353	LY6/PLAUR 도메인 함유 2
LYPD4	ENSG00000273111	LY6/PLAUR 도메인 함유 4
LYPD6	ENSG00000187123	LY6/PLAUR 도메인 함유 6
LYPD6B	ENSG00000150556	LY6/PLAUR 도메인 함유 6B
LYPD8	ENSG00000259823	LY6/PLAUR 도메인 함유 8
LYZ	ENSG00000090382	리소자임
LYZL4	ENSG00000157093	리소자임 유사 4
LYZL6	ENSG00000275722	리소자임 유사 6
M6PR	ENSG00000003056	만노오스-6-포스페이트 수용체 (양이온 의존성)

[0304]

MAD1L1	ENSG00000002822	MAD1 유사분열 정지 결핍 유사 1 (효모)
MAG	ENSG00000105695	미엘린 관련 당단백질
MAGT1	ENSG00000102158	마그네슘 수송체 1
MALSU1	ENSG00000156928	리보솜 큰 서브유닛 1의 미토콘드리아 어셈블리
MAMDC2	ENSG00000165072	MAM 도메인 함유 2
MAN2B1	ENSG00000104774	만노시다아제, 알파, 클래스 2B, 구성원 1
MAN2B2	ENSG00000013288	만노시다아제, 알파, 클래스 2B, 구성원 2
MANBA	ENSG00000109323	만노시다아제, 베타 A, 리소좀
MANEAL	ENSG00000185090	만노시다아제, 엔도-알파 유사
MANF	ENSG00000145050	중뇌 성상세포 유래 신경영양 인자
MANSC1	ENSG00000111261	MANSC 도메인 함유 1
MAP3K9	ENSG00000006432	미토겐-활성화 단백질 키나아제 9
MASP1	ENSG00000127241	만난 결합 렉틴 세린 펩티다아제 1 (Ra-반응성 인자의 C4/C2 활성화 성분)
MASP2	ENSG00000009724	만난 결합 렉틴 세린 펩티다아제 2
MATN1	ENSG00000162510	마트릴린 1, 연골 기질 단백질
MATN2	ENSG00000132561	마트릴린 2
MATN3	ENSG00000132031	마트릴린 3
MATN4	ENSG00000124159	마트릴린 4
MATR3	ENSG00000015479	마트린 3
MATR3	ENSG00000280987	마트린 3
MAU2	ENSG00000129933	MAU2 시스터 염색분체 응집(cohesion) 인자
MAZ	ENSG00000103495	MYC 관련 아연 핑거단백질 (퓨린 결합 전사 인자)
MBD6	ENSG00000166987	메틸-CpG 결합 도메인 단백질 6
MBL2	ENSG00000165471	만노오스 결합 렉틴 (단백질 C) 2, 가용성
MBNL1	ENSG00000152601	머슬블라인드(Muscleblind) 유사 스플라이싱 조절 인자 1
MCCC1	ENSG00000078070	메틸크로토노일-CoA 카르복실라아제 1 (알파)
MCCD1	ENSG00000204511	미토콘드리아 코일드 코일 도메인 1
MCEE	ENSG00000124370	메틸말로닐 CoA 에피머라아제
MCF2L	ENSG00000126217	MCF.2 세포주 유래 형질전환 서열 유사
MCFD2	ENSG00000180398	다중 응고 인자 결핍 2
MDFIC	ENSG00000135272	MyoD 패밀리 억제제 도메인 함유
MDGA1	ENSG00000112139	MAM 도메인 함유 글리코실포스파티딜이노시톨 고정 1
MDK	ENSG00000110492	미드카인 (신경돌기 성장-촉진 인자 2)
MED20	ENSG00000124641	매개인자 복합체 서브유닛 20
MEGF10	ENSG00000145794	다중 EGF 유사-도메인 10
MEGF6	ENSG00000162591	다중 EGF 유사-도메인 6
MEI1	ENSG00000167077	감수분열 이중 가닥 절단 형성 단백질 1
MEI4	ENSG00000269964	감수분열 이중 가닥 절단 형성 단백질 4
MEIS1	ENSG00000143995	메이스 호메오박스 1
MEIS3	ENSG00000105419	메이스 호메오박스 3
MEPE	ENSG00000152595	기질 세포 외 포스포글리코단백질
MESDC2	ENSG00000117899	중배엽 발생 후보 2

[0305]

MEST	ENSG00000106484	중배엽 특이적 전사체
MET	ENSG00000105976	MET 종양유전자, 수용체 티로신 키나아제
METRN	ENSG00000103260	메테오린, 신경교세포 분화 조절 인자
METRNL	ENSG00000176845	메테오린, 신경교세포 분화 조절 인자 유사
METTL17	ENSG00000165792	메틸트랜스퍼라아제 유사 17
METTL24	ENSG00000053328	메틸트랜스퍼라아제 유사 24
METTL7B	ENSG00000170439	메틸트랜스퍼라아제 유사 7B
METTL9	ENSG00000197006	메틸트랜스퍼라아제 유사 9
MEX3C	ENSG00000176624	Mex-3 RNA 결합 패밀리 구성원 C
MFAP2	ENSG00000117122	미세섬유 관련 단백질 2
MFAP3	ENSG00000037749	미세섬유 관련 단백질 3
MFAP3L	ENSG00000198948	미세섬유 관련 단백질 3 유사
MFAP4	ENSG00000166482	미세섬유 관련 단백질 4
MFAP5	ENSG00000197614	미세섬유 관련 단백질 5
MFGE8	ENSG00000140545	유지방구-EGF 인자 8 단백질
MFI2	ENSG00000163975	단클론 항체 133.2 및 96.5에 의해 확인된 항원 p97(흑색종 관련)
MFNG	ENSG00000100060	MFNG O-푸코실펩티드 3-베타-N-아세틸글루코사민트랜스퍼라아제
MGA	ENSG00000174197	MGA, MAX 이량체화 단백질
MGAT2	ENSG00000168282	만노실 (알파-1,6-)-당단백질 베타-1,2-N-아세틸글루코사민트랜스퍼라아제
MGAT3	ENSG00000128268	만노실 (베타-1,4-)-당단백질 베타-1,4-N-아세틸글루코사민트랜스퍼라아제
MGAT4A	ENSG00000071073	만노실 (알파-1,3-)-당단백질 베타-1,4-N-아세틸글루코사민트랜스퍼라아제, 이소자임 A
MGAT4B	ENSG00000161013	만노실 (알파-1,3-)-당단백질 베타-1,4-N-아세틸글루코사민트랜스퍼라아제, 이소자임 B
MGAT4D	ENSG00000205301	MGAT4 패밀리, 구성원 D
MGLL	ENSG00000074416	모노글리세리드 리파아제
MGP	ENSG00000111341	기질 Gla 단백질
MGST2	ENSG00000085871	미세소체 글루타티온 S-트랜스퍼라아제 2
MIA	ENSG00000261857	흑색종 억제 활성
MIA2	ENSG00000150526	흑색종 억제 활성 2
MIA3	ENSG00000154305	흑색종 억제 활성 패밀리, 구성원 3
MICU1	ENSG00000107745	미토콘드리아 칼슘 흡수 1
MIER1	ENSG00000198160	중배엽 유도 초기 반응 1, 전사조절 인자
MINOS1-NBL1	ENSG00000270136	MINOS1-NBL1 번역초과
MINPP1	ENSG00000107789	다중 이노시톨-폴리포스페이트 포스파타아제 1
MLEC	ENSG00000110917	말렉틴
MLN	ENSG00000096395	모틸린
MLXIP	ENSG00000175727	MLX 상호작용 단백질
MLXIPL	ENSG00000009950	MLX 상호작용 단백질 유사
MMP1	ENSG00000196611	기질 메탈로펩티다아제 1
MMP10	ENSG00000166670	기질 메탈로펩티다아제 10
MMP11	ENSG00000099953	기질 메탈로펩티다아제 11
MMP12	ENSG00000262406	기질 메탈로펩티다아제 12

[0306]

MMP13	ENSG00000137745	기질 메탈로펩티다아제 13
MMP14	ENSG00000157227	기질 메탈로펩티다아제 14 (막-삽입)
MMP17	ENSG00000198598	기질 메탈로펩티다아제 17 (막-삽입)
MMP19	ENSG00000123342	기질 메탈로펩티다아제 19
MMP2	ENSG00000087245	기질 메탈로펩티다아제 2
MMP20	ENSG00000137674	기질 메탈로펩티다아제 20
MMP21	ENSG00000154485	기질 메탈로펩티다아제 21
MMP25	ENSG00000008516	기질 메탈로펩티다아제 25
MMP26	ENSG00000167346	기질 메탈로펩티다아제 26
MMP27	ENSG00000137675	기질 메탈로펩티다아제 27
MMP28	ENSG00000271447	기질 메탈로펩티다아제 28
MMP3	ENSG00000149968	기질 메탈로펩티다아제 3
MMP7	ENSG00000137673	기질 메탈로펩티다아제 7
MMP8	ENSG00000118113	기질 메탈로펩티다아제 8
MMP9	ENSG00000100985	기질 메탈로펩티다아제 9
MMRN1	ENSG00000138722	멀티메린 1
MMRN2	ENSG00000173269	멀티메린 2
MOXD1	ENSG00000079931	모노옥시게나아제, DBH 유사 1
MPO	ENSG00000005381	마이엘로퍼옥시다아제
MPPED1	ENSG00000186732	메탈로포스포에스테라아제 도메인 함유 1
MPZL1	ENSG00000197965	미엘린 단백질 제로 유사 1
MR1	ENSG00000153029	주요 조직 적합성 복합체, I형 관련
MRPL2	ENSG00000112651	미토콘드리아 리보솜 단백질 L2
MRPL21	ENSG00000197345	미토콘드리아 리보솜 단백질 L21
MRPL22	ENSG00000082515	미토콘드리아 리보솜 단백질 L22
MRPL24	ENSG00000143314	미토콘드리아 리보솜 단백질 L24
MRPL27	ENSG00000108826	미토콘드리아 리보솜 단백질 L27
MRPL32	ENSG00000106591	미토콘드리아 리보솜 단백질 L32
MRPL34	ENSG00000130312	미토콘드리아 리보솜 단백질 L34
MRPL35	ENSG00000132313	미토콘드리아 리보솜 단백질 L35
MRPL52	ENSG00000172590	미토콘드리아 리보솜 단백질 L52
MRPL55	ENSG00000162910	미토콘드리아 리보솜 단백질 L55
MRPS14	ENSG00000120333	미토콘드리아 리보솜 단백질 S14
MRPS22	ENSG00000175110	미토콘드리아 리보솜 단백질 S22
MRPS28	ENSG00000147586	미토콘드리아 리보솜 단백질 S28
MS4A14	ENSG00000166928	막-스패닝 4-도메인, 서브패밀리 A, 구성원 14
MS4A3	ENSG00000149516	막-스패닝 4-도메인, 서브패밀리 A, 구성원 3 (조혈세포-특이적)
MSH3	ENSG00000113318	MutS 상동체 3
MSH5	ENSG00000204410	MutS 상동체 5
MSLN	ENSG00000102854	메소텔린
MSMB	ENSG00000263639	마이크로세미노단백질, 베타-
MSRA	ENSG00000175806	메티오닌 설폭시드 리덕타아제 A
MSRB2	ENSG00000148450	메티오닌 설폭시드 리덕타아제 B2

[0307]

MSRB3	ENSG00000174099	메티오닌 설폭시드 리덕타아제 B3
MST1	ENSG00000173531	대식세포 자극 1
MSTN	ENSG00000138379	마이오스타틴
MT1G	ENSG00000125144	메탈로티오네인 1G
MTHFD2	ENSG00000065911	메틸렌테트라히드로폴레이트 디히드로게나제 (NADP+ 의존성) 2, 메테닐테트라히드로폴레이트 시클로히드롤라아제
MTMR14	ENSG00000163719	미오튜불라린 관련 단백질 14
MTRNR2L11	ENSG00000270188	MT-RNR2 유사 11 (위유전자)
MTRR	ENSG00000124275	5-메틸테트라히드로폴레이트-호모시스테인 메틸트랜스퍼라아제 리덕타아제
MTTP	ENSG00000138823	미세소체 트리글리세리드 운반 단백질
MTX2	ENSG00000128654	메탁신 2
MUC1	ENSG00000185499	뮤신 1, 세포 표면 관련
MUC13	ENSG00000173702	뮤신 13, 세포 표면 관련
MUC20	ENSG00000176945	뮤신 20, 세포 표면 관련
MUC3A	ENSG00000169894	뮤신 3A, 세포 표면 관련
MUC5AC	ENSG00000215182	뮤신 5AC, 올리고머 점액/겔 형성
MUC5B	ENSG00000117983	뮤신 5B, 올리고머 점액/겔 형성
MUC6	ENSG00000184956	뮤신 6, 올리고머 점액/겔 형성
MUC7	ENSG00000171195	뮤신 7, 분비
MUCL1	ENSG00000172551	뮤신 유사 1
MXRA5	ENSG00000101825	기질-재형성 관련 5
MXRA7	ENSG00000182534	기질-재형성 관련 7
MYDGF	ENSG00000074842	골수성 유래 성장 인자
MYL1	ENSG00000168530	미오신, 경쇄 1, 알칼리; 골격, 속근
MYOC	ENSG00000034971	미오실린, 섬유주대 유도성 글루코코르티코이드 반응
MYRFL	ENSG00000166268	미엘린 조절 인자 유사
MZB1	ENSG00000170476	변연대 B 및 B1 세포-특이적 단백질
N4BP2L2	ENSG00000244754	NEDD4 결합 단백질 2 유사 2
NAA38	ENSG00000183011	N(알파)-아세틸트랜스퍼라아제 38, NatC 보조 서브유닛
NAAA	ENSG00000138744	N-아실에탄올아민 산 아미다아제
NAGA	ENSG00000198951	N-아세틸갈락토사미니다아제, 알파-
NAGLU	ENSG00000108784	N-아세틸글루코사미니다아제, 알파
NAGS	ENSG00000161653	N-아세틸글루타메이트 신타아제
NAPSA	ENSG00000131400	냅신 A 아스파르트산 펩티다아제
NBL1	ENSG00000158747	신경아세포종 1, DAN 패밀리 BMP 작용제
NCAM1	ENSG00000149294	신경 세포 부착 분자 1
NCAN	ENSG00000130287	뉴로칸
NCBP2-AS2	ENSG00000270170	NCBP2 안티센스 RNA 2 (헤드 투 헤드)
NCSTN	ENSG00000162736	니카스트린
NDNF	ENSG00000173376	뉴런 유래 신경영양 인자
NDP	ENSG00000124479	노리병 (가성신경교종)
NDUFA10	ENSG00000130414	NADH 디히드로게나제 (유비퀴논) 1 알파 서브복합체, 10, 42kDa
NDUFB5	ENSG00000136521	NADH 디히드로게나제 (유비퀴논) 1 베타 서브복합체, 5, 16kDa

[0308]

[0309]

NDUFS8	ENSG00000110717	NADH 디히드로게나제 (유비퀴논) Fe-S 단백질 8, 23kDa (NADH-조효소 Q 리덕타아제)
NDUFV1	ENSG00000167792	NADH 디히드로게나제 (유비퀴논) 플라보단백질 1, 51kDa
NECAB3	ENSG00000125967	N-말단 EF-핸드 칼슘 결합 단백질 3
NELL1	ENSG00000165973	신경 EGFL 유사 1
NELL2	ENSG00000184613	신경 EGFL 유사 2
NENF	ENSG00000117691	뉴데신 신경영양 인자
NETO1	ENSG00000166342	뉴로필린 (NRP) 및 톨로이드 (TLL) 유사 1
NFASC	ENSG00000163531	뉴로파신
NFE2L1	ENSG00000082641	핵 인자, 적혈구 2 유사 1
NFE2L3	ENSG00000050344	핵 인자, 적혈구 2 유사 3
NGEF	ENSG00000066248	신경 구아닌 뉴클레오티드 교환 인자
NGF	ENSG00000134259	신경 성장 인자 (베타 폴리펩티드)
NGLY1	ENSG00000151092	N-글리카나아제 1
NGRN	ENSG00000182768	뉴그린, 신경돌기 성장(outgrowth) 관련
NHLRC3	ENSG00000188811	NHL 반복 함유 3
NID1	ENSG00000116962	니도겐 1
NID2	ENSG00000087303	니도겐 2 (오스테오니도겐)
NKG7	ENSG00000105374	자연살해 세포 과립 단백질 7
NLGN3	ENSG00000196338	뉴롤리진 3
NLGN4Y	ENSG00000165246	뉴롤리진 4, Y 연관
NLRP5	ENSG00000171487	NLR 패밀리, 피린 도메인 함유 5
NMB	ENSG00000197696	뉴로메딘 B
NME1	ENSG00000239672	NME/NM23 뉴클레오시드 디포스페이트 키나아제 1
NME1-NME2	ENSG00000011052	NME1-NME2 번역초과
NME3	ENSG00000103024	NME/NM23 뉴클레오시드 디포스페이트 키나아제 3
NMS	ENSG00000204640	뉴로메딘 S
NMU	ENSG00000109255	뉴로메딘 U
NOA1	ENSG00000084092	산화질소 관련 1
NODAL	ENSG00000156574	결절 성장 분화 인자
NOG	ENSG00000183691	노긴
NOMO3	ENSG00000103226	노들(NODAL) 조절인자 3
NOS1AP	ENSG00000198929	산화질소 신타아제 1 (신경) 어댑터 단백질
NOTCH3	ENSG00000074181	노치(Notch) 3
NOTUM	ENSG00000185269	배관 펙틴아세틸에스테라아제 상동체 (초파리)
NOV	ENSG00000136999	신장모세포종 과발현
NPB	ENSG00000183979	신경펩티드 B
NPC2	ENSG00000119655	니만-픽병, C2형
NPFF	ENSG00000139574	신경펩티드 FF-아미드 펩티드 전구체
NPFFR2	ENSG00000056291	신경펩티드 FF 수용체 2
NPHS1	ENSG00000161270	신장증 1, 선천성, 핀란드형 (네프린)
NPNT	ENSG00000168743	네프로넥틴
NPPA	ENSG00000175206	나트륨뇨배설 촉진 펩티드 A

NPPB	ENSG00000120937	나트륨뇨배설 촉진 펩티드 B
NPPC	ENSG00000163273	나트륨뇨배설 촉진 펩티드 C
NPS	ENSG00000214285	신경펩티드 S
NPTX1	ENSG00000171246	신경 펜트랙신 I
NPTX2	ENSG00000106236	신경 펜트랙신 II
NPTXR	ENSG00000221890	신경 펜트랙신 수용체
NPVF	ENSG00000105954	신경펩티드 VF 전구체
NPW	ENSG00000183971	신경펩티드 W
NPY	ENSG00000122585	신경펩티드 Y
NQO2	ENSG00000124588	NAD(P)H 디히드로게나제, 퀴논 2
NRCAM	ENSG00000091129	신경 세포 부착 분자
NRG1	ENSG00000157168	뉴레귤린 1
NRN1L	ENSG00000188038	뉴리틴 1 유사
NRP1	ENSG00000099250	뉴로필린 1
NRP2	ENSG00000118257	뉴로필린 2
NRTN	ENSG00000171119	뉴튜린
NRXN1	ENSG00000179915	뉴렉신 1
NRXN2	ENSG00000110076	뉴렉신 2
NT5C3A	ENSG00000122643	5'-뉴클레오티다아제, 시토졸 IIIA
NT5DC3	ENSG00000111696	5'-뉴클레오티다아제 도메인 함유 3
NT5E	ENSG00000135318	5'-뉴클레오티다아제, 엑토 (CD73)
NTF3	ENSG00000185652	뉴로트로핀 3
NTF4	ENSG00000225950	뉴로트로핀 4
NTM	ENSG00000182667	뉴로트리민
NTN1	ENSG00000065320	네트린 1
NTN3	ENSG00000162068	네트린 3
NTN4	ENSG00000074527	네트린 4
NTN5	ENSG00000142233	네트린 5
NTNG1	ENSG00000162631	네트린 G1
NTNG2	ENSG00000196358	네트린 G2
NTS	ENSG00000133636	뉴로텐신
NUBPL	ENSG00000151413	뉴클레오티드 결합 단백질 유사
NUCB1	ENSG00000104805	뉴클레오빈딘 1
NUCB2	ENSG00000070081	뉴클레오빈딘 2
NUDT19	ENSG00000213965	뉴딕스 (뉴클레오시드 디포스페이트 연결 모이어티 X)-형 모티프 19
NUDT9	ENSG00000170502	뉴딕스 (뉴클레오시드 디포스페이트 연결 모이어티 X)-형 모티프 9
NUP155	ENSG00000113569	뉴클레오포린 155kDa
NUP214	ENSG00000126883	뉴클레오포린 214kDa
NUP85	ENSG00000125450	뉴클레오포린 85kDa
NXPE3	ENSG00000144815	뉴렉소필린 및 PC-에스테라아제 도메인 패밀리, 구성원 3
NXPE4	ENSG00000137634	뉴렉소필린 및 PC-에스테라아제 도메인 패밀리, 구성원 4
NXPH1	ENSG00000122584	뉴렉소필린 1
NXPH2	ENSG00000144227	뉴렉소필린 2

[0310]

NXPH3	ENSG00000182575	뉴렉소필린 3
NXPH4	ENSG00000182379	뉴렉소필린 4
NYX	ENSG00000188937	닉탈로핀
OAF	ENSG00000184232	아웃 엣 퍼스트(Out at first) 상동체
OBP2A	ENSG00000122136	후각자극제 결합 단백질 2A
OBP2B	ENSG00000171102	후각자극제 결합 단백질 2B
OC90	ENSG00000253117	옥토코닌 90
OCLN	ENSG00000197822	오클루딘
ODAM	ENSG00000109205	치형성, 에나멜아세포 관련
OGG1	ENSG00000114026	8-옥소구아닌 DNA 글리코실라아제
OGN	ENSG00000106809	오스테오글리신
OIT3	ENSG00000138315	종양단백질 유도성 전사체 3
OLFM1	ENSG00000130558	올팩토메딘 1
OLFM2	ENSG00000105088	올팩토메딘 2
OLFM3	ENSG00000118733	올팩토메딘 3
OLFM4	ENSG00000102837	올팩토메딘 4
OLFML1	ENSG00000183801	올팩토메딘 유사 1
OLFML2A	ENSG00000185585	올팩토메딘 유사 2A
OLFML2B	ENSG00000162745	올팩토메딘 유사 2B
OLFML3	ENSG00000116774	올팩토메딘 유사 3
OMD	ENSG00000127083	오스테오모듈린
OMG	ENSG00000126861	희돌기교세포 미엘린 당단백질
OOSP2	ENSG00000149507	난모세포 분비 단백질 2
OPCML	ENSG00000183715	오피오이드 결합 단백질/세포 부착 분자 유사
OPTC	ENSG00000188770	옵티신
ORAI1	ENSG00000276045	ORAI 칼슘 방출-활성화 칼슘 조절인자 1
ORM1	ENSG00000229314	오로소뮤코이드 1
ORM2	ENSG00000228278	오로소뮤코이드 2
ORMDL2	ENSG00000123353	ORMDL 스핑고지질 생합성 조절 인자 2
OS9	ENSG00000135506	골육종 증폭 9, 소포체 렉틴
OSCAR	ENSG00000170909	파골세포 관련, 면역글로불린 유사 수용체
OSM	ENSG00000099985	온코스타틴 M
OSMR	ENSG00000145623	온코스타틴 M 수용체
OSTN	ENSG00000188729	오스테오크린
OTOA	ENSG00000155719	오토안코린
OTOG	ENSG00000188162	오토겔린
OTOGL	ENSG00000165899	오토겔린 유사
OTOL1	ENSG00000182447	오톨린 1
OTOR	ENSG00000125879	오토라플린
OTOS	ENSG00000178602	오토스피랄린
OVCH1	ENSG00000187950	오보키마아제 1
OVCH2	ENSG00000183378	오보키마아제 2 (유전자/위유전자)
OVGP1	ENSG00000085465	난관 당단백질 1, 120kDa

[0311]

OXCT1	ENSG00000083720	3-옥소산 CoA 트랜스퍼라아제 1
OXCT2	ENSG00000198754	3-옥소산 CoA 트랜스퍼라아제 2
OXNAD1	ENSG00000154814	옥시도리덕타아제 NAD 결합 도메인 함유 1
OXT	ENSG00000101405	옥시토신/뉴로피신 I 프리프로펩티드
P3H1	ENSG00000117385	프로필 3-히드록실라아제 1
P3H2	ENSG00000090530	프로필 3-히드록실라아제 2
P3H3	ENSG00000110811	프로필 3-히드록실라아제 3
P3H4	ENSG00000141696	프로필 3-히드록실라아제 패밀리 구성원 4 (비효소)
P4HA1	ENSG00000122884	프로필 4-히드록실라아제, 알파 폴리펩티드 I
P4HA2	ENSG00000072682	프로필 4-히드록실라아제, 알파 폴리펩티드 II
P4HA3	ENSG00000149380	프로필 4-히드록실라아제, 알파 폴리펩티드 III
P4HB	ENSG00000185624	프로필 4-히드록실라아제, 베타 폴리펩티드
PAEP	ENSG00000122133	프로게스타겐 관련 자궁내막 단백질
PAM	ENSG00000145730	펩티딜글리신 알파-아미드화 모노옥시게나아제
PAMR1	ENSG00000149090	근육 재생과 관련된 펩티다아제 도메인 함유 1
PAPL	ENSG00000183760	철/아연 퍼플 산 포스파타아제 유사 단백질
PAPLN	ENSG00000100767	파필린, 프로테오글리칸 유사 황산화 당단백질
PAPPA	ENSG00000182752	임신 관련 혈장 단백질 A, 파파리신 1
PAPPA2	ENSG00000116183	파파리신 2
PARP15	ENSG00000173200	폴리 (ADP-리보오스) 폴리머라아제 패밀리, 구성원 15
PARVB	ENSG00000188677	파르빈, 베타
PATE1	ENSG00000171053	전립선 및 정소 발현 1
PATE2	ENSG00000196844	전립선 및 정소 발현 2
PATE3	ENSG00000236027	전립선 및 정소 발현 3
PATE4	ENSG00000237353	전립선 및 정소 발현 4
PATL2	ENSG00000229474	토포이소머라아제 II 상동체 2와 관련된 단백질 (효모)
PAX2	ENSG00000075891	페어드(Paired) 박스 2
PAX4	ENSG00000106331	페어드 박스 4
PCCB	ENSG00000114054	프로피오닐 CoA 카르복실라아제, 베타 폴리펩티드
PCDH1	ENSG00000156453	프로토카드헤린1
PCDH12	ENSG00000113555	프로토카드헤린12
PCDH15	ENSG00000150275	프로토카드헤린 관련 15
PCDHA1	ENSG00000204970	프로토카드헤린알파 1
PCDHA10	ENSG00000250120	프로토카드헤린알파 10
PCDHA11	ENSG00000249158	프로토카드헤린알파 11
PCDHA6	ENSG00000081842	프로토카드헤린알파 6
PCDHB12	ENSG00000120328	프로토카드헤린베타 12
PCDHGA11	ENSG00000253873	프로토카드헤린 감마 서브패밀리 A, 11
PCF11	ENSG00000165494	PCF11 절단 및 폴리아데닐화 인자 서브유닛
PCOLCE	ENSG00000106333	프로콜라겐 C-엔도펩티다아제 인핸서
PCOLCE2	ENSG00000163710	프로콜라겐 C-엔도펩티다아제 인핸서 2
PCSK1	ENSG00000175426	전구단백질 전환효소 섭틸리신/켁신 1형
PCSK1N	ENSG00000102109	전구단백질 전환효소 섭틸리신/켁신 1형 억제제

[0312]

PCSK2	ENSG00000125851	전구단백질 전환효소 섭틸리신/켁신 2형
PCSK4	ENSG00000115257	전구단백질 전환효소 섭틸리신/켁신 4형
PCSK5	ENSG00000099139	전구단백질 전환효소 섭틸리신/켁신 5형
PCSK9	ENSG00000169174	전구단백질 전환효소 섭틸리신/켁신 9형
PCYOX1	ENSG00000116005	프레닐시스테인 옥시다아제 1
PCYOX1L	ENSG00000145882	프레닐시스테인 옥시다아제 1 유사
PDDC1	ENSG00000177225	파킨슨병 7 도메인 함유 1
PDE11A	ENSG00000128655	포스포디에스테라아제 11A
PDE2A	ENSG00000186642	포스포디에스테라아제 2A, cGMP-자극성
PDE7A	ENSG00000205268	포스포디에스테라아제 7A
PDF	ENSG00000258429	펩티드 디포르밀라아제 (미토콘드리아)
PDGFA	ENSG00000197461	혈소판 유래 성장 인자 알파 폴리펩티드
PDGFB	ENSG00000100311	혈소판 유래 성장 인자 베타 폴리펩티드
PDGFC	ENSG00000145431	혈소판 유래 성장 인자 C
PDGFD	ENSG00000170962	혈소판 유래 성장 인자 D
PDGFRA	ENSG00000134853	혈소판 유래 성장 인자 수용체, 알파 폴리펩티드
PDGFRB	ENSG00000113721	혈소판 유래 성장 인자 수용체, 베타 폴리펩티드
PDGFRL	ENSG00000104213	혈소판 유래 성장 인자 수용체 유사
PDHA1	ENSG00000131828	피루베이트 디히드로게나제 (리포아미드) 알파 1
PDIA2	ENSG00000185615	단백질 디설피드 이소머라아제 패밀리 A, 구성원 2
PDIA3	ENSG00000167004	단백질 디설피드 이소머라아제 패밀리 A, 구성원 3
PDIA4	ENSG00000155660	단백질 디설피드 이소머라아제 패밀리 A, 구성원 4
PDIA5	ENSG00000065485	단백질 디설피드 이소머라아제 패밀리 A, 구성원 5
PDIA6	ENSG00000143870	단백질 디설피드 이소머라아제 패밀리 A, 구성원 6
PDILT	ENSG00000169340	단백질 디설피드 이소머라아제 유사, 정소 발현
PDYN	ENSG00000101327	프로디노르핀
PDZD8	ENSG00000165650	PDZ 도메인 함유 8
PDZRN4	ENSG00000165966	PDZ 도메인 함유 고리 핑거 4
PEAR1	ENSG00000187800	혈소판 내피 응집 수용체 1
PEBP4	ENSG00000134020	포스파티딜에탄올아민-결합 단백질 4
PECAM1	ENSG00000261371	혈소판/내피 세포 부착 분자 1
PENK	ENSG00000181195	프로엔케팔린
PET117	ENSG00000232838	PET117 상동체
PF4	ENSG00000163737	혈소판 인자 4
PF4V1	ENSG00000109272	혈소판 인자 4 변이체 1
PFKP	ENSG00000067057	포스포프룩토키나아제, 혈소판
PFN1	ENSG00000108518	프로필린 1
PGA3	ENSG00000229859	펩시노겐 3, I군 (펩시노겐 A)
PGA4	ENSG00000229183	펩시노겐 4, I군 (펩시노겐 A)
PGA5	ENSG00000256713	펩시노겐 5, I군 (펩시노겐 A)
PGAM5	ENSG00000247077	PGAM 패밀리 구성원 5, 세린/트레오닌 단백질 포스파타아제, 미토콘드리아
PGAP3	ENSG00000161395	PCAP3(Post-GPI attachment to protein 3)
PGC	ENSG00000096088	프로가스트릭신 (펩시노겐 C)

[0313]

PGF	ENSG00000119630	태반 성장 인자
PGLYRP1	ENSG00000008438	펩티도글리칸 인식 단백질 1
PGLYRP2	ENSG00000161031	펩티도글리칸 인식 단백질 2
PGLYRP3	ENSG00000159527	펩티도글리칸 인식 단백질 3
PGLYRP4	ENSG00000163218	펩티도글리칸 인식 단백질 4
PHACTR1	ENSG00000112137	포스파타아제 및 액틴 조절 인자 1
PHB	ENSG00000167085	프로히비틴
PI15	ENSG00000137558	펩티다아제 억제제 15
PI3	ENSG00000124102	펩티다아제 억제제 3, 피부 유래
PIANP	ENSG00000139200	PILR 알파 관련 신경 단백질
PIGK	ENSG00000142892	포스파티딜이노시톨 글리칸 고정 생합성, 클래스 K
PIGL	ENSG00000108474	포스파티딜이노시톨 글리칸 고정 생합성, 클래스 L
PIGT	ENSG00000124155	포스파티딜이노시톨 글리칸 고정 생합성, 클래스 T
PIGZ	ENSG00000119227	포스파티딜이노시톨 글리칸 고정 생합성, 클래스 Z
PIK3AP1	ENSG00000155629	포스포이노시티드-3-키나아제 어댑터 단백질 1
PIK3IP1	ENSG00000100100	포스포이노시티드-3-키나아제 상호작용 단백질 1
PILRA	ENSG00000085514	페어드 면역글로불린 유사 2형 수용체 알파
PILRB	ENSG00000121716	페어드 면역글로불린 유사 2형 수용체 베타
PINLYP	ENSG00000234465	포스포리파아제 A2 억제제 및 LY6/PLAUR 도메인 함유
PIP	ENSG00000159763	프롤랙틴 유도성 단백질
PIWIL4	ENSG00000134627	피위(Piwi) 유사 RNA-매개 유전자 사일런싱 4
PKDCC	ENSG00000162878	단백질 키나아제 도메인 함유, 세포질
PKHD1	ENSG00000170927	다낭성 신장 및 간질환 1 (상염색체 열성)
PLA1A	ENSG00000144837	포스포리파아제 A1 구성원 A
PLA2G10	ENSG00000069764	포스포리파아제 A2, 그룹 X
PLA2G12A	ENSG00000123739	포스포리파아제 A2, 그룹 XIIA
PLA2G12B	ENSG00000138308	포스포리파아제 A2, 그룹 XIIB
PLA2G15	ENSG00000103066	포스포리파아제 A2, 그룹 XV
PLA2G1B	ENSG00000170890	포스포리파아제 A2, 그룹 IB (췌장)
PLA2G2A	ENSG00000188257	포스포리파아제 A2, 그룹 IIA (혈소판, 활액)
PLA2G2C	ENSG00000187980	포스포리파아제 A2, 그룹 IIC
PLA2G2D	ENSG00000117215	포스포리파아제 A2, 그룹 IID
PLA2G2E	ENSG00000188784	포스포리파아제 A2, 그룹 IIE
PLA2G3	ENSG00000100078	포스포리파아제 A2, 그룹 III
PLA2G5	ENSG00000127472	포스포리파아제 A2, 그룹 V
PLA2G7	ENSG00000146070	포스포리파아제 A2, 그룹 VII (혈소판-활성화 인자 아세틸히드롤라아제, 혈장)
PLA2R1	ENSG00000153246	포스포리파아제 A2 수용체 1, 180kDa
PLAC1	ENSG00000170965	태반 특이적 1
PLAC9	ENSG00000189129	태반 특이적 9
PLAT	ENSG00000104368	플라스미노겐 활성화 인자, 조직
PLAU	ENSG00000122861	플라스미노겐 활성화 인자, 유로키나아제
PLAUR	ENSG00000011422	플라스미노겐 활성화 인자, 유로키나아제 수용체

[0314]

PLBD1	ENSG00000121316	포스포리파아제 B 도메인 함유 1
PLBD2	ENSG00000151176	포스포리파아제 B 도메인 함유 2
PLG	ENSG00000122194	플라스미노겐
PLGLB1	ENSG00000183281	플라스미노겐 유사 B1
PLGLB2	ENSG00000125551	플라스미노겐 유사 B2
PLOD1	ENSG00000083444	프로콜라겐-리신, 2-옥소글루타레이트 5-디옥시게나아제 1
PLOD2	ENSG00000152952	프로콜라겐-리신, 2-옥소글루타레이트 5-디옥시게나아제 2
PLOD3	ENSG00000106397	프로콜라겐-리신, 2-옥소글루타레이트 5-디옥시게나아제 3
PLTP	ENSG00000100979	인지질 전달 단백질
PLXNA4	ENSG00000221866	플렉신 A4
PLXNB2	ENSG00000196576	플렉신 B2
PM20D1	ENSG00000162877	펩티다아제 M20 도메인 함유 1
PMCH	ENSG00000183395	프로-멜라닌 농축 호르몬
PMEL	ENSG00000185664	프리멜라노솜 단백질
PMEPA1	ENSG00000124225	전립선 막횡단 단백질, 안드로겐 유도성 1
PNLIP	ENSG00000175535	췌장 리파아제
PNLIPRP1	ENSG00000187021	췌장 리파아제 관련 단백질 1
PNLIPRP3	ENSG00000203837	췌장 리파아제 관련 단백질 3
PNOC	ENSG00000168081	프리프로노시셉틴
PNP	ENSG00000198805	퓨린 뉴클레오시드 포스포릴라아제
PNPLA4	ENSG00000006757	파타틴 유사 포스포리파아제 도메인 함유 4
PODNL1	ENSG00000132000	포도칸 유사 1
POFUT1	ENSG00000101346	단백질 O-푸코실트랜스퍼라아제 1
POFUT2	ENSG00000186866	단백질 O-푸코실트랜스퍼라아제 2
POGLUT1	ENSG00000163389	단백질 O-글루코실트랜스퍼라아제 1
POLL	ENSG00000166169	폴리머라아제 (DNA 유도), 람다
POMC	ENSG00000115138	프로오피오멜라노코르틴
POMGNT2	ENSG00000144647	단백질 O-결합 만노오스 N-아세틸글루코사민트랜스퍼라아제 2 (베타 1,4-)
PON1	ENSG00000005421	파라옥소나아제 1
PON2	ENSG00000105854	파라옥소나아제 2
PON3	ENSG00000105852	파라옥소나아제 3
POSTN	ENSG00000133110	페리오스틴, 골모세포 특이적 인자
PPBP	ENSG00000163736	프로-혈소판 기저 단백질 (케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 7)
PPIB	ENSG00000166794	펩티딜프로필 이소머라아제 B (시클로필린 B)
PPIC	ENSG00000168938	펩티딜프로필 이소머라아제 C (시클로필린 C)
PPOX	ENSG00000143224	프로토포르피리노겐 옥시다아제
PPP1CA	ENSG00000172531	단백질 포스파타아제 1, 촉매 서브유닛, 알파 이소자임
PPT1	ENSG00000131238	팔미토일-단백질 티오에스테라아제 1
PPT2	ENSG00000221988	팔미토일-단백질 티오에스테라아제 2
PPY	ENSG00000108849	췌장 폴리펩티드
PRAC2	ENSG00000229637	전립선 암 감수성 후보 2
PRADC1	ENSG00000135617	프로테아제 관련 도메인 함유 1

[0315]

PRAP1	ENSG00000165828	프롤린 풍부 산성 단백질 1
PRB1	ENSG00000251655	프롤린 풍부 단백질 BstNI 서브패밀리 1
PRB2	ENSG00000121335	프롤린 풍부 단백질 BstNI 서브패밀리 2
PRB3	ENSG00000197870	프롤린 풍부 단백질 BstNI 서브패밀리 3
PRB4	ENSG00000230657	프롤린 풍부 단백질 BstNI 서브패밀리 4
PRCD	ENSG00000214140	점진적 간상 추상 변성
PRCP	ENSG00000137509	프로필카르복시펩티다아제 (안지오텐시나아제 C)
PRDM12	ENSG00000130711	PR 도메인 함유 12
PRDX4	ENSG00000123131	페록시레독신 4
PRELP	ENSG00000188783	프롤린/아르기닌 풍부 말단 류신 풍부 반복 단백질
PRF1	ENSG00000180644	퍼포린 1 (기공 형성 단백질)
PRG2	ENSG00000186652	프로테오글리칸 2, 골수 (자연살해 세포 활성화 인자, 호산구 과립 주기저 단백질)
PRG3	ENSG00000156575	프로테오글리칸 3
PRG4	ENSG00000116690	프로테오글리칸 4
PRH1	ENSG00000231887	프롤린 풍부 단백질 HaeIII 서브패밀리 1
PRH2	ENSG00000134551	프롤린 풍부 단백질 HaeIII 서브패밀리 2
PRKAG1	ENSG00000181929	단백질 키나아제, AMP-활성화, 감마 1 비촉매성 서브유닛
PRKCSH	ENSG00000130175	단백질 키나아제 C 기질 80K-H
PRKD1	ENSG00000184304	단백질 키나아제 D1
PRL	ENSG00000172179	프롤락틴
PRLH	ENSG00000071677	프롤락틴 방출 호르몬
PRLR	ENSG00000113494	프롤락틴 수용체
PRNP	ENSG00000171867	프리온 단백질
PRNT	ENSG00000180259	프리온 단백질 (정소 특이적)
PROC	ENSG00000115718	단백질 C (응고 인자 Va 및 VIIIa의 불활성화 인자)
PROK1	ENSG00000143125	프로키네티신 1
PROK2	ENSG00000163421	프로키네티신 2
PROL1	ENSG00000171199	프롤린 풍부, 눈물 1
PROM1	ENSG00000007062	프로미닌 1
PROS1	ENSG00000184500	단백질 S (알파)
PROZ	ENSG00000126231	단백질 Z, 비타민 K 의존성 혈장 당단백질
PRR27	ENSG00000187533	프롤린 풍부 27
PRR4	ENSG00000111215	프롤린 풍부 4 (눈물)
PRRG2	ENSG00000126460	프롤린 풍부 Gla (G-카르복시글루탐산) 2
PRRT3	ENSG00000163704	프롤린 풍부 막횡단 단백질 3
PRRT4	ENSG00000224940	프롤린 풍부 막횡단 단백질 4
PRSS1	ENSG00000204983	프로테아제, 세린, 1 (트립신 1)
PRSS12	ENSG00000164099	프로테아제, 세린, 12 (뉴로트립신, 모톱신)
PRSS16	ENSG00000112812	프로테아제, 세린, 16 (흉선)
PRSS2	ENSG00000275896	프로테아제, 세린, 2 (트립신 2)
PRSS21	ENSG00000007038	프로테아제, 세린, 21 (테스티신)
PRSS22	ENSG00000005001	프로테아제, 세린, 22

[0316]

PRSS23	ENSG00000150687	프로테아제, 세린, 23
PRSS27	ENSG00000172382	프로테아제, 세린 27
PRSS3	ENSG00000010438	프로테아제, 세린, 3
PRSS33	ENSG00000103355	프로테아제, 세린, 33
PRSS35	ENSG00000146250	프로테아제, 세린, 35
PRSS36	ENSG00000178226	프로테아제, 세린, 36
PRSS37	ENSG00000165076	프로테아제, 세린, 37
PRSS38	ENSG00000185888	프로테아제, 세린, 38
PRSS42	ENSG00000178055	프로테아제, 세린, 42
PRSS48	ENSG00000189099	프로테아제, 세린, 48
PRSS50	ENSG00000206549	프로테아제, 세린, 50
PRSS53	ENSG00000151006	프로테아제, 세린, 53
PRSS54	ENSG00000103023	프로테아제, 세린, 54
PRSS55	ENSG00000184647	프로테아제, 세린, 55
PRSS56	ENSG00000237412	프로테아제, 세린, 56
PRSS57	ENSG00000185198	프로테아제, 세린, 57
PRSS58	ENSG00000258223	프로테아제, 세린, 58
PRSS8	ENSG00000052344	프로테아제, 세린, 8
PRTG	ENSG00000166450	프로토제닌
PRTN3	ENSG00000196415	프로테이나아제 3
PSAP	ENSG00000197746	프로사포닌
PSAPL1	ENSG00000178597	프로사포닌 유사 1 (유전자/위유전자)
PSG1	ENSG00000231924	임신 특이적 베타-1-당단백질 1
PSG11	ENSG00000243130	임신 특이적 베타-1-당단백질 11
PSG2	ENSG00000242221	임신 특이적 베타-1-당단백질 2
PSG3	ENSG00000221826	임신 특이적 베타-1-당단백질 3
PSG4	ENSG00000243137	임신 특이적 베타-1-당단백질 4
PSG5	ENSG00000204941	임신 특이적 베타-1-당단백질 5
PSG6	ENSG00000170848	임신 특이적 베타-1-당단백질 6
PSG7	ENSG00000221878	임신 특이적 베타-1-당단백질 7 (유전자/위유전자)
PSG8	ENSG00000124467	임신 특이적 베타-1-당단백질 8
PSG9	ENSG00000183668	임신 특이적 베타-1-당단백질 9
PSMD1	ENSG00000173692	프로테오좀 26S 서브유닛, 비-ATP아제 1
PSORS1C2	ENSG00000204538	건선 감수성 1 후보 2
PSPN	ENSG00000125650	퍼세핀
PTGDS	ENSG00000107317	프로스타글란딘 D2 신타아제 21kDa (뇌)
PTGIR	ENSG00000160013	프로스타글란딘 I2 (프로스타사이클린) 수용체 (IP)
PTGS1	ENSG00000095303	프로스타글란딘-엔도페록시드 신타아제 1 (프로스타글란딘 G/H 신타아제 및 시클로옥시게나아제)
PTGS2	ENSG00000073756	프로스타글란딘-엔도페록시드 신타아제 2 (프로스타글란딘 G/H 신타아제 및 시클로옥시게나아제)
PTH	ENSG00000152266	부갑상샘 호르몬
PTH2	ENSG00000142538	부갑상샘 호르몬 2
PTHLH	ENSG00000087494	부갑상샘 호르몬 유사 호르몬

[0317]

PTK7	ENSG00000112655	단백질 티로신 키나아제 7 (불활성)
PTN	ENSG00000105894	플레이오트로핀
PTPRA	ENSG00000132670	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, A
PTPRB	ENSG00000127329	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, B
PTPRC	ENSG00000081237	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, C
PTPRCAP	ENSG00000213402	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, C 관련 단백질
PTPRD	ENSG00000153707	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, D
PTPRF	ENSG00000142949	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, F
PTPRJ	ENSG00000149177	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, J
PTPRO	ENSG00000151490	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, O
PTPRS	ENSG00000105426	단백질 티로신 포스파타아제, 수용체 유형, S
PTTG1IP	ENSG00000183255	뇌하수체 종양-형질전환1 상호작용 단백질
PTX3	ENSG00000163661	긴(long) 페네트랙신 3,
PTX4	ENSG00000251692	긴 페네트랙신 4
PVR	ENSG00000073008	폴리오바이러스 수용체
PVRL1	ENSG00000110400	폴리오바이러스 수용체 관련 1 (헤르페스바이러스 진입 매개 인자 C)
PXDN	ENSG00000130508	페록시다신
PXDNL	ENSG00000147485	페록시다신 유사
PXYLP1	ENSG00000155893	2-포스포자일로오스 포스파타아제 1
PYY	ENSG00000131096	펩티드 YY
PZP	ENSG00000126838	임신대(Pregnancy-zone) 단백질
QPCT	ENSG00000115828	글루타밀-펩티드 시클로트랜스퍼라아제
QPRT	ENSG00000103485	퀴놀리네이트 포스포리보실트랜스퍼라아제
QRFP	ENSG00000188710	피로글루타밀화 RF아미드 펩티드
QSOX1	ENSG00000116260	퀴에신 Q6 설프히드릴 옥시다아제 1
R3HDML	ENSG00000101074	R3H 도메인 함유 유사
RAB26	ENSG00000167964	RAB26, 구성원 RAS 종양유전자 패밀리
RAB36	ENSG00000100228	RAB36, 구성원 RAS 종양유전자 패밀리
RAB9B	ENSG00000123570	RAB9B, 구성원 RAS 종양유전자 패밀리
RAET1E	ENSG00000164520	레티노산 초기 전사체 1E
RAET1G	ENSG00000203722	레티노산 초기 전사체 1G
RAMP2	ENSG00000131477	수용체 (G 단백질-결합) 활성 변형 단백질 2
RAPGEF5	ENSG00000136237	Rap 구아닌 뉴클레오티드 교환 인자 (GEF) 5
RARRES1	ENSG00000118849	레티노산 수용체 반응 인자 (타자로텐 유도성) 1
RARRES2	ENSG00000106538	레티노산 수용체 반응 인자 (타자로텐 유도성) 2
RASA2	ENSG00000155903	RAS p21 단백질 활성화 인자 2
RBM3	ENSG00000102317	RNA 결합 모티프 (RNP1, RRM) 단백질 3
RBP3	ENSG00000265203	레티놀 결합 단백질 3, 간질
RBP4	ENSG00000138207	레티놀 결합 단백질 4, 혈장
RCN1	ENSG00000049449	레티클로칼빈 1, EF-핸드 칼슘 결합 도메인
RCN2	ENSG00000117906	레티클로칼빈 2, EF-핸드 칼슘 결합 도메인
RCN3	ENSG00000142552	레티클로칼빈 3, EF-핸드 칼슘 결합 도메인

[0318]

RCOR1	ENSG00000089902	REST 보조억제인자 1
RDH11	ENSG00000072042	레티놀 디히드로게나제 11 (모든-트랜스/9-시스/11-시스)
RDH12	ENSG00000139988	레티놀 디히드로게나제 12 (모든-트랜스/9-시스/11-시스)
RDH13	ENSG00000160439	레티놀 디히드로게나제 13 (모든-트랜스/9-시스)
RDH5	ENSG00000135437	레티놀 디히드로게나제 5 (11-시스/9-시스)
RDH8	ENSG00000080511	레티놀 디히드로게나제 8 (모든-트랜스)
REG1A	ENSG00000115386	재생 췌도 유래 1 알파
REG1B	ENSG00000172023	재생 췌도 유래 1 베타
REG3A	ENSG00000172016	재생 췌도 유래 3 알파
REG3G	ENSG00000143954	재생 췌도 유래 3 감마
REG4	ENSG00000134193	재생 췌도 유래 패밀리, 구성원 4
RELN	ENSG00000189056	리일린
RELT	ENSG00000054967	RELT 종양 괴사 인자 수용체
REN	ENSG00000143839	레닌
REPIN1	ENSG00000214022	복제 개시인자 1
REPS2	ENSG00000169891	RALBP1 관련 Eps 도메인 함유 2
RET	ENSG00000165731	Ret 원종양유전자
RETN	ENSG00000104918	레시스틴
RETNLB	ENSG00000163515	레시스틴 유사 베타
RETSAT	ENSG00000042445	레티놀 새츄라아제 (모든-트랜스-레티놀 13,14-리덕타아제)
RFNG	ENSG00000169733	RFNG O-푸코실펩티드 3-베타-N-아세틸글루코사미닐트랜스퍼라아제
RGCC	ENSG00000102760	세포 주기의 조절 인자
RGL4	ENSG00000159496	Ral 구아닌 뉴클레오티드 해리 자극 인자 유사 4
RGMA	ENSG00000182175	불쾌감 유도(Repulsive guidance) 분자 패밀리 구성원 a
RGMB	ENSG00000174136	불쾌감 유도 분자 패밀리 구성원 b
RHOQ	ENSG00000119729	Ras 상동체 패밀리 구성원 Q
RIC3	ENSG00000166405	RIC3 아세틸콜린 수용체 샤페론
RIMS1	ENSG00000079841	시냅스 막 엑토시토시스 조절 1
RIPPLY1	ENSG00000147223	리플리 전사 억제인자 1
RLN1	ENSG00000107018	릴랙신 1
RLN2	ENSG00000107014	릴랙신 2
RLN3	ENSG00000171136	릴랙신 3
RMDN1	ENSG00000176623	미세소관 동력학의 조절 인자 1
RN아제1	ENSG00000129538	리보뉴클레아제, RN아제 A 패밀리, 1 (췌장)
RN아제10	ENSG00000182545	리보뉴클레아제, RN아제 A 패밀리, 10 (비활성)
RN아제11	ENSG00000173464	리보뉴클레아제, RN아제 A 패밀리, 11 (비활성)
RN아제12	ENSG00000258436	리보뉴클레아제, RN아제 A 패밀리, 12 (비활성)
RN아제13	ENSG00000206150	리보뉴클레아제, RN아제 A 패밀리, 13 (비활성)
RN아제2	ENSG00000169385	리보뉴클레아제, RN아제 A 패밀리, 2 (간, 호산구 유래 뉴로톡신)
RN아제3	ENSG00000169397	리보뉴클레아제, RN아제 A 패밀리, 3
RN아제4	ENSG00000258818	리보뉴클레아제, RN아제 A 패밀리, 4
RN아제6	ENSG00000169413	리보뉴클레아제, RN아제 A 패밀리, k6
RN아제7	ENSG00000165799	리보뉴클레아제, RN아제 A 패밀리, 7

[0319]

[0320]

RN아제8	ENSG00000173431	리보뉴클레아제, RN아제 A 패밀리, 8
RN아제9	ENSG00000188655	리보뉴클레아제, RN아제 A 패밀리, 9 (비활성)
RN아제H1	ENSG00000171865	리보뉴클레아제 H1
RN아제T2	ENSG00000026297	리보뉴클레아제 T2
RNF146	ENSG00000118518	링 핑거 단백질 146
RNF148	ENSG00000235631	링 핑거 단백질 148
RNF150	ENSG00000170153	링 핑거 단백질 150
RNF167	ENSG00000108523	링 핑거 단백질 167
RNF220	ENSG00000187147	링 핑거 단백질 220
RNF34	ENSG00000170633	링 핑거 단백질 34, E3 유비퀴틴 단백질 리가아제
RNLS	ENSG00000184719	레날라아제, FAD 의존성 아민 옥시다아제
RNPEP	ENSG00000176393	아르기닐 아미노펩티다아제 (아미노펩티다아제 B)
ROR1	ENSG00000185483	수용체 티로신 키나아제 유사 희귀(orphan) 수용체 1
RP11-1236K1.1	ENSG00000233050	
RP11-14J7.7	ENSG00000259060	
RP11-196G11.1	ENSG00000255439	
RP11-350O14.18	ENSG00000261793	
RP11-520P18.5	ENSG00000261667	
RP11-812E19.9	ENSG00000259680	
RP11-903H12.5	ENSG00000259171	
RP11-977G19.10	ENSG00000144785	
RP4-576H24.4	ENSG00000260861	
RP4-608O15.3	ENSG00000276911	보체 인자 H 관련 단백질 2
RPL3	ENSG00000100316	리보솜 단백질 L3
RPLP2	ENSG00000177600	큰 리보솜 단백질, P2
RPN2	ENSG00000118705	리보포린 II
RPS27L	ENSG00000185088	리보솜 단백질 S27 유사
RQCD1	ENSG00000144580	RQCD1(RCD1 required for cell differentiation 1 homolog) (에스. 폼베(S. pombe))
RS1	ENSG00000102104	레티노스키신 1
RSF1	ENSG00000048649	재형성 및 스페이싱 인자 1
RSPO1	ENSG00000169218	R-스폰딘 1
RSPO2	ENSG00000147655	R-스폰딘 2
RSPO3	ENSG00000146374	R-스폰딘 3
RSPO4	ENSG00000101282	R-스폰딘 4
RSPRY1	ENSG00000159579	링 핑거 및 SPRY 도메인 함유 1
RTBDN	ENSG00000132026	레트빈딘
RTN4RL1	ENSG00000185924	레티큘론 4 수용체 유사 1
RTN4RL2	ENSG00000186907	레티큘론 4 수용체 유사 2
SAA1	ENSG00000173432	혈청 아밀로이드 A1
SAA2	ENSG00000134339	혈청 아밀로이드 A2
SAA4	ENSG00000148965	혈청 아밀로이드 A4, 구성적
SAP30	ENSG00000164105	Sin3A 관련 단백질, 30kDa

SAR1A	ENSG00000079332	분비 관련, Ras 관련 GTP아제 1A
SARAF	ENSG00000133872	축적 조절(Store-operated) 칼슘 진입 관련 조절 인자
SARM1	ENSG00000004139	불임 알파 및 TIR 모티프 함유 1
SATB1	ENSG00000182568	SATB 호메오박스 1
SAXO2	ENSG00000188659	축사 미세소관의 안정화 인자 2
SBSN	ENSG00000189001	슈프라바신
SBSPON	ENSG00000164764	소마토메딘 B 및 트롬포스폰딘, 1형 도메인 함유
SCARF1	ENSG00000074660	스캐빈저 수용체 클래스 F, 구성원 1
SCG2	ENSG00000171951	세크레토그래닌 II
SCG3	ENSG00000104112	세크레토그래닌 III
SCG5	ENSG00000166922	세크레토그래닌 V
SCGB1A1	ENSG00000149021	세크레토글로불린, 패밀리 1A, 구성원 1 (유테로글로빈)
SCGB1C1	ENSG00000188076	세크레토글로불린, 패밀리 1C, 구성원 1
SCGB1C2	ENSG00000268320	세크레토글로불린, 패밀리 1C, 구성원 2
SCGB1D1	ENSG00000168515	세크레토글로불린, 패밀리 1D, 구성원 1
SCGB1D2	ENSG00000124935	세크레토글로불린, 패밀리 1D, 구성원 2
SCGB1D4	ENSG00000197745	세크레토글로불린, 패밀리 1D, 구성원 4
SCGB2A1	ENSG00000124939	세크레토글로불린, 패밀리 2A, 구성원 1
SCGB2A2	ENSG00000110484	세크레토글로불린, 패밀리 2A, 구성원 2
SCGB2B2	ENSG00000205209	세크레토글로불린, 패밀리 2B, 구성원 2
SCGB3A1	ENSG00000161055	세크레토글로불린, 패밀리 3A, 구성원 1
SCGB3A2	ENSG00000164265	세크레토글로불린, 패밀리 3A, 구성원 2
SCN1B	ENSG00000105711	나트륨 통로, 전압 게이트, I형 베타 서브유닛
SCN3B	ENSG00000166257	나트륨 통로, 전압 게이트, III형 베타 서브유닛
SCPEP1	ENSG00000121064	세린 카르복시펩티다아제 1
SCRG1	ENSG00000164106	연골형성의 자극인자 1
SCT	ENSG00000070031	세크레틴
SCUBE1	ENSG00000159307	신호 펩티드, CUB 도메인, EGF 유사 1
SCUBE2	ENSG00000175356	신호 펩티드, CUB 도메인, EGF 유사 2
SCUBE3	ENSG00000146197	신호 펩티드, CUB 도메인, EGF 유사 3
SDC1	ENSG00000115884	신데칸 1
SDF2	ENSG00000132581	간질 세포 유래 인자 2
SDF2L1	ENSG00000128228	간질 세포 유래 인자 2 유사 1
SDF4	ENSG00000078808	간질 세포 유래 인자 4
SDHAF2	ENSG00000167985	숙시네이트 디히드로게나제 복합체 어셈블리 인자 2
SDHAF4	ENSG00000154079	숙시네이트 디히드로게나제 복합체 어셈블리 인자 4
SDHB	ENSG00000117118	숙시네이트 디히드로게나제 복합체, 서브유닛 B, 철 황 (Ip)
SDHD	ENSG00000204370	숙시네이트 디히드로게나제 복합체, 서브유닛 D, 내재성 막 단백질
SEC14L3	ENSG00000100012	SEC14 유사 지질 결합 3
SEC16A	ENSG00000148396	SEC16 상동체 A, 소포체 외수송 인자
SEC16B	ENSG00000120341	SEC16 상동체 B, 소포체 외수송 인자
SEC22C	ENSG00000093183	SEC22 상동체 C, 소포체 이동(trafficking) 단백질
SEC31A	ENSG00000138674	SEC31 상동체 A, COPII 코트 복합체 성분

[0321]

SECISBP2	ENSG00000187742	SECIS 결합 단백질 2
SECTM1	ENSG00000141574	분비 및 막횡단 1
SEL1L	ENSG00000071537	lin-12 유사의 Sel-1 억제인자 (씨. 엘레간스(C. elegans))
SELM	ENSG00000198832	셀레늄단백질 M
SELO	ENSG00000073169	셀레늄단백질 O
SEMA3A	ENSG00000075213	세마 도메인, 면역글로불린 도메인 (Ig), 짧은 염기성 도메인, 분비, (세마포린) 3A
SEMA3B	ENSG00000012171	세마 도메인, 면역글로불린 도메인 (Ig), 짧은 염기성 도메인, 분비, (세마포린) 3B
SEMA3C	ENSG00000075223	세마 도메인, 면역글로불린 도메인 (Ig), 짧은 염기성 도메인, 분비, (세마포린) 3C
SEMA3E	ENSG00000170381	세마 도메인, 면역글로불린 도메인 (Ig), 짧은 염기성 도메인, 분비, (세마포린) 3E
SEMA3F	ENSG00000001617	세마 도메인, 면역글로불린 도메인 (Ig), 짧은 염기성 도메인, 분비, (세마포린) 3F
SEMA3G	ENSG00000010319	세마 도메인, 면역글로불린 도메인 (Ig), 짧은 염기성 도메인, 분비, (세마포린) 3G
SEMA4A	ENSG00000196189	세마 도메인, 면역글로불린 도메인 (Ig), 막횡단 도메인 (TM) 및 짧은 세포질 도메인, (세마포린) 4A
SEMA4B	ENSG00000185033	세마 도메인, 면역글로불린 도메인 (Ig), 막횡단 도메인 (TM) 및 짧은 세포질 도메인, (세마포린) 4B
SEMA4C	ENSG00000168758	세마 도메인, 면역글로불린 도메인 (Ig), 막횡단 도메인 (TM) 및 짧은 세포질 도메인, (세마포린) 4C
SEMA4D	ENSG00000187764	세마 도메인, 면역글로불린 도메인 (Ig), 막횡단 도메인 (TM) 및 짧은 세포질 도메인, (세마포린) 4D
SEMA4F	ENSG00000135622	세마 도메인, 면역글로불린 도메인 (Ig), 막횡단 도메인 (TM) 및 짧은 세포질 도메인, (세마포린) 4F
SEMA4G	ENSG00000095539	세마 도메인, 면역글로불린 도메인 (Ig), 막횡단 도메인 (TM) 및 짧은 세포질 도메인, (세마포린) 4G
SEMA5A	ENSG00000112902	세마 도메인, 7개의 트롬포스폰딘 반복 (1형 및 1형 유사), 막횡단 도메인 (TM) 및 짧은 세포질 도메인, (세마포린) 5A
SEMA6A	ENSG00000092421	세마 도메인, 막횡단 도메인 (TM), 및 세포질 도메인, (세마포린) 6A
SEMA6C	ENSG00000143434	세마 도메인, 막횡단 도메인 (TM), 및 세포질 도메인, (세마포린) 6C
SEMA6D	ENSG00000137872	세마 도메인, 막횡단 도메인 (TM), 및 세포질 도메인, (세마포린) 6D
SEMG1	ENSG00000124233	세메노겔린 I
SEMG2	ENSG00000124157	세메노겔린 II
15-Sep	ENSG00000183291	15 kDa 셀레늄단백질
SEPN1	ENSG00000162430	셀레늄단백질 N, 1
SEPP1	ENSG00000250722	셀레늄단백질 P, 혈장, 1
09-Sep	ENSG00000184640	셉틴 9
SERPINA1	ENSG00000197249	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 A (알파-1 항프로테이나아제, 항트립신), 구성원 1
SERPINA10	ENSG00000140093	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 A (알파-1 항프로테이나아제, 항트립신), 구성원 10
SERPINA11	ENSG00000186910	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 A (알파-1 항프로테이나아제, 항트립신), 구성원 11
SERPINA12	ENSG00000165953	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 A (알파-1 항프로테이나아제, 항트립신), 구성원 12
SERPINA3	ENSG00000196136	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 A (알파-1 항프로테이나아제, 항트립신), 구성원 3
SERPINA3	ENSG00000273259	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 A (알파-1 항프로테이나아제, 항트립신), 구성원 3
SERPINA4	ENSG00000100665	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 A (알파-1 항프로테이나아제, 항트립신), 구성원 4

[0322]

SERPINA5	ENSG00000188488	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 A (알파-1 항프로테이나아제, 항트립신), 구성원 5
SERPINA6	ENSG00000170099	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 A (알파-1 항프로테이나아제, 항트립신), 구성원 6
SERPINA7	ENSG00000123561	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 A (알파-1 항프로테이나아제, 항트립신), 구성원 7
SERPINA9	ENSG00000170054	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 A (알파-1 항프로테이나아제, 항트립신), 구성원 9
SERPINB2	ENSG00000197632	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 B (오브알부민), 구성원 2
SERPINC1	ENSG00000117601	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 C (항트롬빈), 구성원 1
SERPIND1	ENSG00000099937	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 D (헤파린 보조인자), 구성원 1
SERPINE1	ENSG00000106366	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 E (넥신, 플라스미노겐 활성화 인자 억제제 1형), 구성원 1
SERPINE2	ENSG00000135919	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 E (넥신, 플라스미노겐 활성화 인자 억제제 1형), 구성원 2
SERPINE3	ENSG00000253309	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 E (넥신, 플라스미노겐 활성화 인자 억제제 1형), 구성원 3
SERPINF1	ENSG00000132386	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 F (알파-2 항플라스민, 색소 상피 유래 인자), 구성원 1
SERPINF2	ENSG00000167711	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 F (알파-2 항플라스민, 색소 상피 유래 인자), 구성원 2
SERPING1	ENSG00000149131	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 G (C1 억제제), 구성원 1
SERPINH1	ENSG00000149257	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 H (열충격 단백질 47), 구성원 1, (콜라겐 결합 단백질 1)
SERPINI1	ENSG00000163536	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 I (뉴로세르핀), 구성원 1
SERPINI2	ENSG00000114204	세르핀 펩티다아제 억제제, 클레이드 I (판크핀), 구성원 2
SETD8	ENSG00000183955	SET 도메인 함유 (리신 메틸트랜스퍼라아제) 8
SEZ6L2	ENSG00000174938	발작 관련 6 상동체 (마우스) 유사 2
SFRP1	ENSG00000104332	분비 프리즐 관련 단백질 1
SFRP2	ENSG00000145423	분비 프리즐 관련 단백질 2
SFRP4	ENSG00000106483	분비 프리즐 관련 단백질 4
SFRP5	ENSG00000120057	분비 프리즐 관련 단백질 5
SFTA2	ENSG00000196260	표면활성제 관련 2
SFTPA1	ENSG00000122852	표면활성제 단백질 A1
SFTPA2	ENSG00000185303	표면활성제 단백질 A2
SFTPB	ENSG00000168878	표면활성제 단백질 B
SFTPD	ENSG00000133661	표면활성제 단백질 D
SFXN5	ENSG00000144040	사이더로플렉신 5
SGCA	ENSG00000108823	사르코글리칸, 알파 (50kDa 디스트로핀 관련 당단백질)
SGSH	ENSG00000181523	N-설포글루코사민 설포히드롤라아제
SH3RF3	ENSG00000172985	SH3 도메인 함유 링 찡거 3
SHBG	ENSG00000129214	성 호르몬 결합 글로불린
SHE	ENSG00000169291	Src 상동성 2 도메인 함유 E
SHH	ENSG00000164690	소닉(Sonic) 헤지호그
SHKBP1	ENSG00000160410	SH3KBP1 결합 단백질 1
SIAE	ENSG00000110013	시알리산 아세틸에스테라아제
SIDT2	ENSG00000149577	SID1 막횡단 패밀리, 구성원 2
SIGLEC10	ENSG00000142512	시알리산 결합 Ig 유사 렉틴 10

[0323]

SIGLEC6	ENSG00000105492	시알리산 결합 Ig 유사 렉틴 6
SIGLEC7	ENSG00000168995	시알리산 결합 Ig 유사 렉틴 7
SIGLECL1	ENSG00000179213	SIGLEC 패밀리 유사 1
SIGMAR1	ENSG00000147955	시그마 비-오피오이드 세포 내 수용체 1
SIL1	ENSG00000120725	SIL1 뉴클레오티드 교환 인자
SIRPB1	ENSG00000101307	신호 조절 단백질 베타 1
SIRPD	ENSG00000125900	신호 조절 단백질 델타
SLAMF1	ENSG00000117090	신호전달 림프구 활성화 분자 패밀리 구성원 1
SLAMF7	ENSG00000026751	SLAM 패밀리 구성원 7
SLC10A3	ENSG00000126903	용질 운반체 패밀리 10, 구성원 3
SLC15A3	ENSG00000110446	용질 운반체 패밀리 15 (올리고펩티드 수송체), 구성원 3
SLC25A14	ENSG00000102078	용질 운반체 패밀리 25 (미토콘드리아 운반체, 뇌), 구성원 14
SLC25A25	ENSG00000148339	용질 운반체 패밀리 25 (미토콘드리아 운반체; 포스페이트 운반체), 구성원 25
SLC2A5	ENSG00000142583	용질 운반체 패밀리 2 (촉진된 글루코오스/프룩토오스 수송체), 구성원 5
SLC35E3	ENSG00000175782	용질 운반체 패밀리 35, 구성원 E3
SLC39A10	ENSG00000196950	용질 운반체 패밀리 39 (아연 수송체), 구성원 10
SLC39A14	ENSG00000104635	용질 운반체 패밀리 39 (아연 수송체), 구성원 14
SLC39A4	ENSG00000147804	용질 운반체 패밀리 39 (아연 수송체), 구성원 4
SLC39A5	ENSG00000139540	용질 운반체 패밀리 39 (아연 수송체), 구성원 5
SLC3A1	ENSG00000138079	용질 운반체 패밀리 3 (아미노산 수송체 중쇄), 구성원 1
SLC51A	ENSG00000163959	용질 운반체 패밀리 51, 알파 서브유닛
SLC52A2	ENSG00000185803	용질 운반체 패밀리 52 (리보플라빈 수송체), 구성원 2
SLC5A6	ENSG00000138074	용질 운반체 패밀리 5 (나트륨/멀티비타민 및 요오드 공수송체), 구성원 6
SLC6A9	ENSG00000196517	용질 운반체 패밀리 6 (신경전달물질 수송체, 글리신), 구성원 9
SLC8A1	ENSG00000183023	용질 운반체 패밀리 8 (나트륨/칼슘 교환체), 구성원 1
SLC8B1	ENSG00000089060	용질 운반체 패밀리 8 (나트륨/리튬/칼슘 교환체), 구성원 B1
SLC9A6	ENSG00000198689	용질 운반체 패밀리 9, 서브패밀리 A (NHE6, 양이온 프로톤 역수송체 6), 구성원 6
SLCO1A2	ENSG00000084453	용질 운반체 유기 음이온 수송체 패밀리, 구성원 1A2
SLIT1	ENSG00000187122	슬릿 가이던스(Slit guidance) 리간드 1
SLIT2	ENSG00000145147	슬릿 가이던스 리간드 2
SLIT3	ENSG00000184347	슬릿 가이던스 리간드 3
SLITRK3	ENSG00000121871	SLIT 및 NTRK 유사 패밀리, 구성원 3
SLPI	ENSG00000124107	분비 백혈구 펩티다아제 억제제
SLTM	ENSG00000137776	SAFB 유사, 전사 조절인자
SLURP1	ENSG00000126233	분비 LY6/PLAUR 도메인 함유 1
SMARCA2	ENSG00000080503	염색질의 SWI/SNF 관련, 기질 관련, 액틴 의존성 조절 인자, 서브패밀리 a, 구성원 2
SMG6	ENSG00000070366	SMG6 넌센스 매개 mRNA 붕괴 인자
SMIM7	ENSG00000214046	작은 내재성 막 단백질 7
SMOC1	ENSG00000198732	SPARC 관련 모듈 칼슘 결합 1
SMOC2	ENSG00000112562	SPARC 관련 모듈 칼슘 결합 2
SMPDL3A	ENSG00000172594	스핑고미엘린 포스포디에스테라아제, 산 유사 3A

[0324]

SMPDL3B	ENSG00000130768	스핑고미엘린 포스포디에스테라아제, 산 유사 3B
SMR3A	ENSG00000109208	악하선 안드로겐 조절성 단백질 3A
SMR3B	ENSG00000171201	악하선 안드로겐 조절성 단백질 3B
SNED1	ENSG00000162804	스시(Sushi) , 니도겐 및 EGF 유사 도메인 1
SNTB1	ENSG00000172164	신트로핀, 베타 1 (디스트로핀 관련 단백질 A1, 59kDa, 염기성 성분 1)
SNTB2	ENSG00000168807	신트로핀, 베타 2 (디스트로핀 관련 단백질 A1, 59kDa, 염기성 성분 2)
SNX14	ENSG00000135317	분류 넥신 14
SOD3	ENSG00000109610	슈퍼옥시드 디스뮤타아제 3, 세포 외
SOST	ENSG00000167941	스클레로스틴
SOSTDC1	ENSG00000171243	스클레로스틴 도메인 함유 1
SOWAHA	ENSG00000198944	소손도와(Sosondowah) 안키린 반복 도메인 패밀리 구성원 A
SPACA3	ENSG00000141316	정자 첨단체 관련 3
SPACA4	ENSG00000177202	정자 첨단체 관련 4
SPACA5	ENSG00000171489	정자 첨단체 관련 5
SPACA5B	ENSG00000171478	정자 첨단체 관련 5B
SPACA7	ENSG00000153498	정자 첨단체 관련 7
SPAG11A	ENSG00000178287	정자 관련 항원 11A
SPAG11B	ENSG00000164871	정자 관련 항원 11B
SPARC	ENSG00000113140	분비 단백질, 산성, 시스테인 풍부 (오스테오넥틴)
SPARCL1	ENSG00000152583	SPARC 유사 1 (헤빈)
SPATA20	ENSG00000006282	정자발생 관련 20
SPESP1	ENSG00000258484	정자 적도대 단백질 1
SPINK1	ENSG00000164266	세린 펩티다아제 억제제, 카잘 1형
SPINK13	ENSG00000214510	세린 펩티다아제 억제제, 카잘 1형3 (추정)
SPINK14	ENSG00000196800	세린 펩티다아제 억제제, 카잘 1형4 (추정)
SPINK2	ENSG00000128040	세린 펩티다아제 억제제, 카잘 2형 (아크로신-트립신 억제제)
SPINK4	ENSG00000122711	세린 펩티다아제 억제제, 카잘 4형
SPINK5	ENSG00000133710	세린 펩티다아제 억제제, 카잘 5형
SPINK6	ENSG00000178172	세린 펩티다아제 억제제, 카잘 6형
SPINK7	ENSG00000145879	세린 펩티다아제 억제제, 카잘 7형 (추정)
SPINK8	ENSG00000229453	세린 펩티다아제 억제제, 카잘 8형 (추정)
SPINK9	ENSG00000204909	세린 펩티다아제 억제제, 카잘 9형
SPINT1	ENSG00000166145	세린 펩티다아제 억제제, 쿠니츠 1형
SPINT2	ENSG00000167642	세린 펩티다아제 억제제, 쿠니츠 2형
SPINT3	ENSG00000101446	세린 펩티다아제 억제제, 쿠니츠 3형
SPINT4	ENSG00000149651	세린 펩티다아제 억제제, 쿠니츠 4형
SPOCK1	ENSG00000152377	Sparc/오스테오넥틴, cwcv 및 카잘 유사 도메인 프로테오글리칸 (테스티칸) 1
SPOCK2	ENSG00000107742	Sparc/오스테오넥틴, cwcv 및 카잘 유사 도메인 프로테오글리칸 (테스티칸) 2
SPOCK3	ENSG00000196104	Sparc/오스테오넥틴, cwcv 및 카잘 유사 도메인 프로테오글리칸 (테스티칸) 3
SPON1	ENSG00000262655	스폰딘 1, 세포 외 기질 단백질
SPON2	ENSG00000159674	스폰딘 2, 세포 외 기질 단백질

[0325]

SPP1	ENSG00000118785	분비 인단백질 1
SPP2	ENSG00000072080	분비 인단백질 2, 24kDa
SPRN	ENSG00000203772	쉐도우 오브 프리온 단백질 상동체 (제브라피시)
SPRYD3	ENSG00000167778	SPRY 도메인 함유 3
SPRYD4	ENSG00000176422	SPRY 도메인 함유 4
SPTY2D1-AS1	ENSG00000247595	SPTY2D1 안티센스 RNA 1
SPX	ENSG00000134548	스펙신 호르몬
SRGN	ENSG00000122862	세르글리신
SRL	ENSG00000185739	사르칼루메닌
SRP14	ENSG00000140319	신호 인식 입자 14kDa (상동 Alu RNA 결합 단백질)
SRPX	ENSG00000101955	스시-반복 함유 단백질, X 연관
SRPX2	ENSG00000102359	스시-반복 함유 단백질, X 연관 2
SSC4D	ENSG00000146700	스캐빈저 수용체 시스테인 풍부 패밀리, 4 도메인
SSC5D	ENSG00000179954	스캐빈저 수용체 시스테인 풍부 패밀리, 5 도메인
SSPO	ENSG00000197558	SCO-스폰딘
SSR2	ENSG00000163479	신호 서열 수용체, 베타 (트랜스로콘 관련 단백질 베타)
SST	ENSG00000157005	소마토스타틴
ST3GAL1	ENSG00000008513	ST3 베타-갈락토시드 알파-2,3-시알릴트랜스퍼라아제 1
ST3GAL4	ENSG00000110080	ST3 베타-갈락토시드 알파-2,3-시알릴트랜스퍼라아제 4
ST6GAL1	ENSG00000073849	ST6 베타-갈락토사미드 알파-2,6-시알릴트랜스퍼라아제 1
ST6GALNAC2	ENSG00000070731	ST6 (알파-N-아세틸-뉴라미닐-2,3-베타-갈락토실-1,3)-N-아세틸갈락토사미니드 알파-2,6-시알릴트랜스퍼라아제 2
ST6GALNAC5	ENSG00000117069	ST6 (알파-N-아세틸-뉴라미닐-2,3-베타-갈락토실-1,3)-N-아세틸갈락토사미니드 알파-2,6-시알릴트랜스퍼라아제 5
ST6GALNAC6	ENSG00000160408	ST6 (알파-N-아세틸-뉴라미닐-2,3-베타-갈락토실-1,3)-N-아세틸갈락토사미니드 알파-2,6-시알릴트랜스퍼라아제 6
ST8SIA2	ENSG00000140557	ST8 알파-N-아세틸-뉴라미니드 알파-2,8-시알릴트랜스퍼라아제 2
ST8SIA4	ENSG00000113532	ST8 알파-N-아세틸-뉴라미니드 알파-2,8-시알릴트랜스퍼라아제 4
ST8SIA6	ENSG00000148488	ST8 알파-N-아세틸-뉴라미니드 알파-2,8-시알릴트랜스퍼라아제 6
STARD7	ENSG00000084090	StAR 관련 지질 전달 (START) 도메인 함유 7
STATH	ENSG00000126549	스타테린
STC1	ENSG00000159167	스타니오칼신 1
STC2	ENSG00000113739	스타니오칼신 2
STMND1	ENSG00000230873	스타스민(Stathmin) 도메인 함유 1
STOML2	ENSG00000165283	스토마틴 (EPB72) 유사 2
STOX1	ENSG00000165730	스토크헤드(Storkhead) 박스 1
STRC	ENSG00000242866	스테레오실린
SUCLG1	ENSG00000163541	숙시네이트-CoA 리가아제, 알파 서브유닛
SUDS3	ENSG00000111707	SDS3 상동체, SIN3A 보조억제인자 복합체 성분
SULF1	ENSG00000137573	설파타아제 1
SULF2	ENSG00000196562	설파타아제 2
SUMF1	ENSG00000144455	설파타아제 변형 인자 1
SUMF2	ENSG00000129103	설파타아제 변형 인자 2
SUSD1	ENSG00000106868	스시 도메인 함유 1
SUSD5	ENSG00000173705	스시 도메인 함유 5

[0326]

SVEP1	ENSG00000165124	스시, 폰 빌레브란트 인자 A형, EGF 및 펜트랙신 도메인 함유 1
SWSAP1	ENSG00000173928	SWIM-형 아연 핑거7 관련 단백질 1
SYAP1	ENSG00000169895	시냅스 관련 단백질 1
SYCN	ENSG00000179751	신콜린
TAC1	ENSG00000006128	타키키닌, 전구체 1
TAC3	ENSG00000166863	타키키닌 3
TAC4	ENSG00000176358	타키키닌 4 (헤모키닌)
TAGLN2	ENSG00000158710	트랜스겔린 2
TAPBP	ENSG00000231925	TAP 결합 단백질 (타파신)
TAPBPL	ENSG00000139192	TAP 결합 단백질 유사
TBL2	ENSG00000106638	트랜스듀신 (베타) 유사 2
TBX10	ENSG00000167800	T-박스 10
TCF12	ENSG00000140262	전사 인자 12
TCN1	ENSG00000134827	트랜스코발라민 I (비타민 B12 결합 단백질, R 결합제 패밀리)
TCN2	ENSG00000185339	트랜스코발라민 II
TCTN1	ENSG00000204852	텍토닉(Tectonic) 패밀리 구성원 1
TCTN3	ENSG00000119977	텍토닉 패밀리 구성원 3
TDP2	ENSG00000111802	티로실-DNA 포스포디에스테라아제 2
TEK	ENSG00000120156	TEK 티로신 키나아제, 내피
TEPP	ENSG00000159648	정소, 전립선 및 태반 발현
TEX101	ENSG00000131126	정소 발현 101
TEX264	ENSG00000164081	정소 발현 264
TF	ENSG00000091513	트랜스페린
TFAM	ENSG00000108064	전사 인자 A, 미토콘드리아
TFF1	ENSG00000160182	트레포일(Trefoil) 인자 1
TFF2	ENSG00000160181	트레포일 인자 2
TFF3	ENSG00000160180	트레포일 인자 3 (장)
TFPI	ENSG00000003436	조직 인자 경로 억제제 (지방단백질 관련 응고 억제제)
TFPI2	ENSG00000105825	조직 인자 경로 억제제 2
TG	ENSG00000042832	티로글로불린
TGFB1	ENSG00000105329	형질전환성장 인자, 베타 1
TGFB2	ENSG00000092969	형질전환성장 인자, 베타 2
TGFB3	ENSG00000119699	형질전환성장 인자, 베타 3
TGFBI	ENSG00000120708	형질전환성장 인자, 베타-유도성, 68kDa
TGFBR1	ENSG00000106799	형질전환성장 인자, 베타 수용체 1
TGFBR3	ENSG00000069702	형질전환성장 인자, 베타 수용체 III
THBS1	ENSG00000137801	트롬포스폰딘 1
THBS2	ENSG00000186340	트롬포스폰딘 2
THBS3	ENSG00000169231	트롬포스폰딘 3
THBS4	ENSG00000113296	트롬포스폰딘 4
THOC3	ENSG00000051596	THO 복합체 3
THPO	ENSG00000090534	트롬보포이에틴
THSD4	ENSG00000187720	트롬포스폰딘, I형, 도메인 함유 4

[0327]

THY1	ENSG00000154096	Thy-1 세포 표면 항원
TIE1	ENSG00000066056	면역글로불린 유사 및 EGF 유사 도메인 1을 가지 티로신 키나아제
TIMMDC1	ENSG00000113845	내부 미토콘드리아 막 도메인 함유 1의 트랜스로카아제
TIMP1	ENSG00000102265	TIMP 메탈로펩티다아제 억제제 1
TIMP2	ENSG00000035862	TIMP 메탈로펩티다아제 억제제 2
TIMP3	ENSG00000100234	TIMP 메탈로펩티다아제 억제제 3
TIMP4	ENSG00000157150	TIMP 메탈로펩티다아제 억제제 4
TINAGL1	ENSG00000142910	요세관간질 신염 항원 유사 1
TINF2	ENSG00000092330	TERF1 (TRF1)-상호작용 핵 인자 2
TLL2	ENSG00000095587	톨로이드 유사 2
TLR1	ENSG00000174125	톨 유사 수용체 1
TLR3	ENSG00000164342	톨 유사 수용체 3
TM2D2	ENSG00000169490	TM2 도메인 함유 2
TM2D3	ENSG00000184277	TM2 도메인 함유 3
TM7SF3	ENSG00000064115	막횡단 7 슈퍼패밀리 구성원 3
TM9SF1	ENSG00000100926	막횡단 9 슈퍼패밀리 구성원 1
TMCO6	ENSG00000113119	막횡단 및 코일드 코일 도메인 6
TMED1	ENSG00000099203	막횡단 p24 이동(trafficking) 단백질 1
TMED2	ENSG00000086598	막횡단 p24 이동 단백질 2
TMED3	ENSG00000166557	막횡단 p24 이동 단백질 3
TMED4	ENSG00000158604	막횡단 p24 이동 단백질 4
TMED5	ENSG00000117500	막횡단 p24 이동 단백질 5
TMED7	ENSG00000134970	막횡단 p24 이동 단백질 7
TMED7-TICAM2	ENSG00000251201	TMED7-TICAM2 번역초과
TMEM108	ENSG00000144868	막횡단 단백질 108
TMEM116	ENSG00000198270	막횡단 단백질 116
TMEM119	ENSG00000183160	막횡단 단백질 119
TMEM155	ENSG00000164112	막횡단 단백질 155
TMEM168	ENSG00000146802	막횡단 단백질 168
TMEM178A	ENSG00000152154	막횡단 단백질 178A
TMEM179	ENSG00000258986	막횡단 단백질 179
TMEM196	ENSG00000173452	막횡단 단백질 196
TMEM199	ENSG00000244045	막횡단 단백질 199
TMEM205	ENSG00000105518	막횡단 단백질 205
TMEM213	ENSG00000214128	막횡단 단백질 213
TMEM25	ENSG00000149582	막횡단 단백질 25
TMEM30C	ENSG00000235156	막횡단 단백질 30C
TMEM38B	ENSG00000095209	막횡단 단백질 38B
TMEM44	ENSG00000145014	막횡단 단백질 44
TMEM52	ENSG00000178821	막횡단 단백질 52
TMEM52B	ENSG00000165685	막횡단 단백질 52B
TMEM59	ENSG00000116209	막횡단 단백질 59
TMEM67	ENSG00000164953	막횡단 단백질 67

[0328]

TMEM70	ENSG00000175606	막횡단 단백질 70
TMEM87A	ENSG00000103978	막횡단 단백질 87A
TMEM94	ENSG00000177728	막횡단 단백질 94
TMEM95	ENSG00000182896	막횡단 단백질 95
TMIGD1	ENSG00000182271	막횡단 및 면역글로불린 도메인 함유 1
TMPRSS12	ENSG00000186452	막횡단 (C-말단) 프로테아제, 세린 12
TMPRSS5	ENSG00000166682	막횡단 프로테아제, 세린 5
TMUB1	ENSG00000164897	막횡단 및 유비퀴틴 유사 도메인 함유 1
TMX2	ENSG00000213593	티오레독신 관련 막횡단 단백질 2
TMX3	ENSG00000166479	티오레독신 관련 막횡단 단백질 3
TNC	ENSG00000041982	테나신 C
TNFAIP6	ENSG00000123610	종양 괴사 인자, 알파 유도성 단백질 6
TNFRSF11A	ENSG00000141655	종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리, 구성원 11a, NFKB 활성화 인자
TNFRSF11B	ENSG00000164761	종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리, 구성원 11b
TNFRSF12A	ENSG00000006327	종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리, 구성원 12A
TNFRSF14	ENSG00000157873	종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리, 구성원 14
TNFRSF18	ENSG00000186891	종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리, 구성원 18
TNFRSF1A	ENSG00000067182	종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리, 구성원 1A
TNFRSF1B	ENSG00000028137	종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리, 구성원 1B
TNFRSF25	ENSG00000215788	종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리, 구성원 25
TNFRSF6B	ENSG00000243509	종양 괴사 인자 수용체 슈퍼패밀리, 구성원 6b, 디코이
TNFSF11	ENSG00000120659	종양 괴사 인자 (리간드) 슈퍼패밀리, 구성원 11
TNFSF12	ENSG00000239697	종양 괴사 인자 (리간드) 슈퍼패밀리, 구성원 12
TNFSF12-TNFSF13	ENSG00000248871	TNFSF12-TNFSF13 번역초과
TNFSF15	ENSG00000181634	종양 괴사 인자 (리간드) 슈퍼패밀리, 구성원 15
TNN	ENSG00000120332	테나신 N
TNR	ENSG00000116147	테나신 R
TNXB	ENSG00000168477	테나신 XB
TOMM7	ENSG00000196683	외부 미토콘드리아 막의 트랜스로카아제 7 상동체 (효모)
TOP1MT	ENSG00000184428	토포이소머라아제 (DNA) I, 미토콘드리아
TOR1A	ENSG00000136827	토르신 패밀리 1, 구성원 A (토르신 A)
TOR1B	ENSG00000136816	토르신 패밀리 1, 구성원 B (토르신 B)
TOR2A	ENSG00000160404	토르신 패밀리 2, 구성원 A
TOR3A	ENSG00000186283	토르신 패밀리 3, 구성원 A
TPD52	ENSG00000076554	종양 단백질 D52
TPO	ENSG00000115705	갑상샘 퍼옥시다아제
TPP1	ENSG00000166340	트리펩티딜 펩티다아제 I
TPSAB1	ENSG00000172236	트립타아제 알파/베타 1
TPSB2	ENSG00000197253	트립타아제 베타 2 (유전자/위유전자)
TPSD1	ENSG00000095917	트립타아제 델타 1
TPST1	ENSG00000169902	티로실단백질 설포트랜스퍼라아제 1
TPST2	ENSG00000128294	티로실단백질 설포트랜스퍼라아제 2

[0329]

TRABD2A	ENSG00000186854	TraB 도메인 함유 2A
TRABD2B	ENSG00000269113	TraB 도메인 함유 2B
TREH	ENSG00000118094	트레할라아제 (브러시-보더 막 당단백질)
TREM1	ENSG00000124731	골수 세포 상 발현되는 유발 수용체 1
TREM2	ENSG00000095970	골수 세포 상 발현되는 유발 수용체 2
TRH	ENSG00000170893	갑상샘 자극 호르몬 방출 호르몬
TRIM24	ENSG00000122779	트리아파타이트 모티프 함유 24
TRIM28	ENSG00000130726	트리아파타이트 모티프 함유 28
TRIO	ENSG00000038382	트리오 로 구아닌 뉴클레오티드 교환 인자
TRNP1	ENSG00000253368	TMF1-조절 핵 단백질 1
TSC22D4	ENSG00000166925	TSC22 도메인 패밀리, 구성원 4
TSHB	ENSG00000134200	갑상샘 자극 호르몬, 베타
TSHR	ENSG00000165409	갑상샘 자극 호르몬 수용체
TSKU	ENSG00000182704	츠쿠시, 작은 튜신 풍부 프로테오글리칸
TSLP	ENSG00000145777	흉선 기질상 림포포이에틴
TSPAN3	ENSG00000140391	테트라스패닌 3
TSPAN31	ENSG00000135452	테트라스패닌 31
TSPEAR	ENSG00000175894	트롬포스폰딘형 라미닌 G 도메인 및 EAR 반복
TTC13	ENSG00000143643	테트라트리코펩티드 반복 도메인 13
TTC19	ENSG00000011295	테트라트리코펩티드 반복 도메인 19
TTC9B	ENSG00000174521	테트라트리코펩티드 반복 도메인 9B
TTLL11	ENSG00000175764	튜불린 티로신 리가아제 유사 패밀리 구성원 11
TTR	ENSG00000118271	트랜스티레틴
TWSG1	ENSG00000128791	트위스트 장배형성 BMP 신호전달 조절인자 1
TXNDC12	ENSG00000117862	티오레독신 도메인 함유 12 (소포체)
TXNDC15	ENSG00000113621	티오레독신 도메인 함유 15
TXNDC5	ENSG00000239264	티오레독신 도메인 함유 5 (소포체)
TXNRD2	ENSG00000184470	티오레독신 리덕타아제 2
TYRP1	ENSG00000107165	티로시나아제 관련 단백질 1
UBAC2	ENSG00000134882	UBA 도메인 함유 2
UBALD1	ENSG00000153443	UBA 유사 도메인 함유 1
UBAP2	ENSG00000137073	유비퀴틴 관련 단백질 2
UBXN8	ENSG00000104691	UBX 도메인 단백질 8
UCMA	ENSG00000165623	성장판의 상부 구역 및 연골 기질 관련
UCN	ENSG00000163794	유로코르틴
UCN2	ENSG00000145040	유로코르틴 2
UCN3	ENSG00000178473	유로코르틴 3
UGGT2	ENSG00000102595	UDP-글루코오스 당단백질 글루코실트랜스퍼라아제 2
UGT1A10	ENSG00000242515	UDP 글루쿠로노실트랜스퍼라아제 1 패밀리, 폴리펩티드 A10
UGT2A1	ENSG00000173610	UDP 글루쿠로노실트랜스퍼라아제 2 패밀리, 폴리펩티드 A1, 복합체 유전자좌
UGT2B11	ENSG00000213759	UDP 글루쿠로노실트랜스퍼라아제 2 패밀리, 폴리펩티드 B11
UGT2B28	ENSG00000135226	UDP 글루쿠로노실트랜스퍼라아제 2 패밀리, 폴리펩티드 B28

[0330]

UGT2B4	ENSG00000156096	UDP 글루쿠로노실트랜스퍼라아제 2 패밀리, 폴리펩티드 B4
UGT2B7	ENSG00000171234	UDP 글루쿠로노실트랜스퍼라아제 2 패밀리, 폴리펩티드 B7
UGT3A1	ENSG00000145626	UDP 글리코실트랜스퍼라아제 3 패밀리, 폴리펩티드 A1
UGT3A2	ENSG00000168671	UDP 글리코실트랜스퍼라아제 3 패밀리, 폴리펩티드 A2
UGT8	ENSG00000174607	UDP 글리코실트랜스퍼라아제 8
ULBP3	ENSG00000131019	UL16 결합 단백질 3
UMOD	ENSG00000169344	유로모듈린
UNC5C	ENSG00000182168	Unc-5 네티린 수용체 C
UPK3B	ENSG00000243566	유로플라킨 3B
USP11	ENSG00000102226	유비퀴틴 특이적 펩티다아제 11
USP14	ENSG00000101557	유비퀴틴 특이적 펩티다아제 14 (tRNA-구아닌 트랜스글리코실라아제)
USP3	ENSG00000140455	유비퀴틴 특이적 펩티다아제 3
UTS2	ENSG00000049247	유로텐신 2
UTS2B	ENSG00000188958	유로텐신 2B
UTY	ENSG00000183878	편재하여 전사되는 테트라트리코펩티드 반복 함유, Y 연관
UXS1	ENSG00000115652	UDP-글루쿠로네이트 디카르복실라아제 1
VASH1	ENSG00000071246	바소히빈 1
VCAN	ENSG00000038427	베르시칸
VEGFA	ENSG00000112715	혈관 내피 성장 인자 A
VEGFB	ENSG00000173511	혈관 내피 성장 인자 B
VEGFC	ENSG00000150630	혈관 내피 성장 인자 C
VGF	ENSG00000128564	VGF 신경 성장 인자 유도성
VIP	ENSG00000146469	혈관작용 장 펩티드
VIPR2	ENSG00000106018	혈관작용 장 펩티드 수용체 2
VIT	ENSG00000205221	비티린
VKORC1	ENSG00000167397	비타민 K 에폭시드 리덕타아제 복합체, 서브유닛 1
VLDLR	ENSG00000147852	초저밀도 지방단백질 수용체
VMO1	ENSG00000182853	비텔린 막 외층 1 상동체 (닭)
VNN1	ENSG00000112299	바닌 1
VNN2	ENSG00000112303	바닌 2
VNN3	ENSG00000093134	바닌 3
VOPP1	ENSG00000154978	소포성, 암에서 과발현, 생존 촉진 단백질 1
VPREB1	ENSG00000169575	전 B 림프구 1
VPREB3	ENSG00000128218	전 B 림프구 3
VPS37B	ENSG00000139722	액포 단백질 분류 37 상동체 B (에스. 세레비지에(S. cerevisiae))
VPS51	ENSG00000149823	액포 단백질 분류 51 상동체 (에스. 세레비지에)
VSIG1	ENSG00000101842	V-set 및 면역글로불린 도메인 함유 1
VSIG10	ENSG00000176834	V-set 및 면역글로불린 도메인 함유 10
VSTM1	ENSG00000189068	V-set 및 막횡단 도메인 함유 1
VSTM2A	ENSG00000170419	V-set 및 막횡단 도메인 함유 2A
VSTM2B	ENSG00000187135	V-set 및 막횡단 도메인 함유 2B
VSTM2L	ENSG00000132821	V-set 및 막횡단 도메인 함유 2 유사

[0331]

VSTM4	ENSG00000165633	V-set 및 막횡단 도메인 함유 4
VTN	ENSG00000109072	비트로넥틴
VWA1	ENSG00000179403	폰 빌레브란트 인자 A 도메인 함유 1
VWA2	ENSG00000165816	폰 빌레브란트 인자 A 도메인 함유 2
VWA5B2	ENSG00000145198	폰 빌레브란트 인자 A 도메인 함유 5B2
VWA7	ENSG00000204396	폰 빌레브란트 인자 A 도메인 함유 7
VWC2	ENSG00000188730	폰 빌레브란트 인자 C 도메인 함유 2
VWC2L	ENSG00000174453	폰 빌레브란트 인자 C 도메인 함유 단백질 2 유사
VWCE	ENSG00000167992	폰 빌레브란트 인자 C 및 EGF 도메인
VWDE	ENSG00000146530	폰 빌레브란트 인자 D 및 EGF 도메인
VWF	ENSG00000110799	폰 빌레브란트 인자
WDR25	ENSG00000176473	WD 반복 도메인 25
WDR81	ENSG00000167716	WD 반복 도메인 81
WDR90	ENSG00000161996	WD 반복 도메인 90
WFDC1	ENSG00000103175	WAP 4개의 디설피드 코어 도메인 1
WFDC10A	ENSG00000180305	WAP 4개의 디설피드 코어 도메인 10A
WFDC10B	ENSG00000182931	WAP 4개의 디설피드 코어 도메인 10B
WFDC11	ENSG00000180083	WAP 4개의 디설피드 코어 도메인 11
WFDC12	ENSG00000168703	WAP 4개의 디설피드 코어 도메인 12
WFDC13	ENSG00000168634	WAP 4개의 디설피드 코어 도메인 13
WFDC2	ENSG00000101443	WAP 4개의 디설피드 코어 도메인 2
WFDC3	ENSG00000124116	WAP 4개의 디설피드 코어 도메인 3
WFDC5	ENSG00000175121	WAP 4개의 디설피드 코어 도메인 5
WFDC6	ENSG00000243543	WAP 4개의 디설피드 코어 도메인 6
WFDC8	ENSG00000158901	WAP 4개의 디설피드 코어 도메인 8
WFIKKN1	ENSG00000127578	WAP, 폴리스타틴/카갈, 면역글로불린, 쿠니츠 및 네트린 도메인 함유 1
WFIKKN2	ENSG00000173714	WAP, 폴리스타틴/카갈, 면역글로불린, 쿠니츠 및 네트린 도메인 함유 2
WIF1	ENSG00000156076	WNT 억제 인자 1
WISP1	ENSG00000104415	WNT1 유도성 신호전달 경로 단백질 1
WISP2	ENSG00000064205	WNT1 유도성 신호전달 경로 단백질 2
WISP3	ENSG00000112761	WNT1 유도성 신호전달 경로 단백질 3
WNK1	ENSG00000060237	WNK 리신 결핍 단백질 키나아제 1
WNT1	ENSG00000125084	윙리스(Wingless) 형 MMTV 통합 부위패밀리, 구성원 1
WNT10B	ENSG00000169884	윙리스형 MMTV 통합 부위패밀리, 구성원 10B
WNT11	ENSG00000085741	윙리스형 MMTV 통합 부위패밀리, 구성원 11
WNT16	ENSG00000002745	윙리스형 MMTV 통합 부위패밀리, 구성원 16
WNT2	ENSG00000105989	윙리스형 MMTV 통합 부위패밀리 구성원 2
WNT3	ENSG00000108379	윙리스형 MMTV 통합 부위패밀리, 구성원 3
WNT3A	ENSG00000154342	윙리스형 MMTV 통합 부위패밀리, 구성원 3A
WNT5A	ENSG00000114251	윙리스형 MMTV 통합 부위패밀리, 구성원 5A
WNT5B	ENSG00000111186	윙리스형 MMTV 통합 부위패밀리, 구성원 5B
WNT6	ENSG00000115596	윙리스형 MMTV 통합 부위패밀리, 구성원 6

[0332]

WNT7A	ENSG00000154764	윙리스형 MMTV 통합 부위패밀리, 구성원 7A
WNT7B	ENSG00000188064	윙리스형 MMTV 통합 부위패밀리, 구성원 7B
WNT8A	ENSG00000061492	윙리스형 MMTV 통합 부위패밀리, 구성원 8A
WNT8B	ENSG00000075290	윙리스형 MMTV 통합 부위패밀리, 구성원 8B
WNT9A	ENSG00000143816	윙리스형 MMTV 통합 부위패밀리, 구성원 9A
WNT9B	ENSG00000158955	윙리스형 MMTV 통합 부위패밀리, 구성원 9B
WSB1	ENSG00000109046	WD 반복 및 SOCS 박스 함유 1
WSCD1	ENSG00000179314	WSC 도메인 함유 1
WSCD2	ENSG00000075035	WSC 도메인 함유 2
XCL1	ENSG00000143184	케모카인 (C 모티프) 리간드 1
XCL2	ENSG00000143185	케모카인 (C 모티프) 리간드 2
XPNPEP2	ENSG00000122121	X-프로필 아미노 펩티다아제 (아미노펩티다아제 P) 2, 막 결합
XXbac-BPG116M5.17	ENSG00000244255	
XXbac-BPG181M17.5	ENSG00000248993	
XXbac-BPG32J3.20	ENSG00000204422	
XXYLT1	ENSG00000173950	자일로시드 자일로실트랜스퍼라아제 1
XYLT1	ENSG00000103489	자일로실트랜스퍼라아제 I
XYLT2	ENSG00000015532	자일로실트랜스퍼라아제 II
ZFYVE21	ENSG00000100711	아연 핑거, FYVE 도메인 함유 21
ZG16	ENSG00000174992	자이모겐 과립 단백질 16
ZG16B	ENSG00000162078	자이모겐 과립 단백질 16B
ZIC4	ENSG00000174963	아연 패밀리 구성원 4
ZNF207	ENSG00000010244	아연 핑거단백질 207
ZNF26	ENSG00000198393	아연 핑거단백질 26
ZNF34	ENSG00000196378	아연 핑거단백질 34
ZNF419	ENSG00000105136	아연 핑거단백질 419
ZNF433	ENSG00000197647	아연 핑거단백질 433
ZNF449	ENSG00000173275	아연 핑거단백질 449
ZNF488	ENSG00000265763	아연 핑거단백질 488
ZNF511	ENSG00000198546	아연 핑거단백질 511
ZNF570	ENSG00000171827	아연 핑거단백질 570
ZNF691	ENSG00000164011	아연 핑거단백질 691
ZNF98	ENSG00000197360	아연 핑거단백질 98
ZPBP	ENSG00000042813	투명대 결합 단백질
ZPBP2	ENSG00000186075	투명대 결합 단백질 2
ZSCAN29	ENSG00000140265	아연 핑거 및 SCAN 도메인 함유 29

[0333]

[0334] 본 발명의 일부 실시양태에서, T 세포는 분비 단백질 및 분비 인간 단백질을 포함하는 치료 단백질을 발현하도록 변형된다. 장애의 방법의 일부 실시양태에서, 인간 단백질을 발현 또는 분비하도록 변형된 CAR-T 세포를 포함하는 조성물을 사용하여 응고 장애를 치료한다. 혈액 응고는 응고 캐스케이드로 알려진 다단계 과정을 통해 일어난다. 외인성 경로에서, 조직 인자(인자 III 또는 트롬보플라스틴으로도 알려짐)는 인자 VII과 접촉하여 활성화된 VIIa 복합체를 형성한다. 이것이 응고 프로테아제 캐스케이드를 개시하여 불활성 인자 X를 활성의 프로테아제 인자 Xa로 전환시키고, 이는 활성화된 인자 V와 함께 프로트롬빈(II)으로부터 트롬빈(IIa)를 생산한다. 내인성 경로에서 콜라겐은 고분자량 키니노겐, 프리칼리크레인 및 인자 XII과 복합체를 형성하여 인자 XII를 인자 XIIa로 전환한다. 인자 XIIa는 인자 XI을 인자 XIa로 전환하고, 인자 XIa는 인자 IX를 활성화하여 인자 IXa를 생산하며, 이는 인자 FVIIIa와 함께 테나아제 복합체를 형성하고, 이는 인자 X를 활성화하고, 이는 프로트롬빈(II)을 트롬빈(IIa)으로 전환한다. 트롬빈은 차례로 피브리노겐(I)을 피브린으로 전환하며, 이는 인자 XIIIa와 함께 가교 결합된 피브린 응혈을 형성한다. 많은 응고 장애는 응고 캐스케이드와 관련된 혈액에서 분비 단백질의 수준이 낮은 결과이다. 응고 장애는 부상시 몸에서 흘리는 혈액량을 크게 증가시키거나 피부 아래 또는 필수 장기에서 출혈을 일으킬 수 있다. 이 장애는 흔히 유전적이다. 응고 인자의 결핍에 의해 유발되는 예시적인, 그러나 비제한적인 질환에는 혈우병, 폰 빌레브란트병 및 항트롬빈 III, 단백질 C 또는 단백질 S의 결핍이 포함된다. 혈우병 A와 B는 X 연관되며, 응고 인자 VIII 및 인자 IX(FIX) 각각의 수준이 불충분하여 유발된다. 혈우병 C는 불충분한 인자 XI에 의해 유발된다. 인자 II, VII, X 또는 XII 결핍은 또한 출혈 장애를 일으킬 수 있다. 폰 빌레브란트병은 혈액 내 폰 빌레브란트 응고 인자의 낮은 수준에서 기인한다. 일부 경우에, 응고를 조절하는 혈액 단백질의 결핍은 너무 많은 응고를 초래할 수 있다. 인자 V 라이덴(Leiden)은 유전병으로, 인자 V 라이덴 단백질이 과잉 반응하여 혈액의 너무 빈번하거나 너무 많은 응고를 일으킨다. 출혈을 조절하는데 도움을

주는 항트롬빈 III, 단백질 C 또는 단백질 S의 결핍도 과도한 응고를 유발할 수 있다. 현재, 혈우병과 같은 응고 장애는 혈액 수혈 또는 결핍 응고 인자의 주입(대체 요법)으로 치료된다. 그러나 대체 요법의 합병증에는 응고 인자에 대한 항체 발생, 혈액 유래 산물로부터 바이러스 감염 및 관절 손상이 포함된다. 따라서 추가적인 치료법이 요구된다.

[0335] 본 발명의 일부 실시양태에서, T 세포는 분비 단백질 및 분비 인간 단백질을 포함하는 치료 단백질을 발현하도록 변형된다. 장애의 방법의 일부 실시양태에서, 인간 단백질을 발현 또는 분비하도록 변형된 CAR-T 세포를 포함하는 조성물이 효소 대체 요법에 사용된다. 효소 대체 요법은 전형적으로 질환의 증상을 야기하는 근본적인 효소 결함을 상쇄하는 효소를 포함하는 치료 유효량의 조성물의 정맥 내 주입을 수반한다. 따라서 결핍된 효소 활성은 이러한 방식으로 외인성으로 공급된다. 본 발명의 변형된 T 세포에 의해 치료될 수 있는 예시적인 질환은 리소좀 축적병, 고쉐병(글루코세레브로시다아제 효소), 파브리병, 뮤코다당증 I(MPS I: mucopolysaccharidosis I), 뮤코다당증 II(MPS II 또는 헌터 증후군, 이두로네이트 2-설파타아제 결핍에 의해 야기됨), 뮤코다당증 VI(MPS VI, 아릴설파타아제 B 결핍에 의해 야기됨) 및 폼페병(또는 글리코겐 축적병 II형, 산 알파-글루코시다아제 결핍에 의해 야기됨)을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 효소 대체 요법으로 치료될 수 있는 추가 질환으로는 아데노신 디아미나아제(ADA: Adenosine deaminase) 결핍, 간 효소 N-아세틸글루타메이트 신테타아제(NAGS: N-acetylglutamate synthetase) 결핍에 의한 고암모니아 혈증, 저인산효소증, 리소좀 산 리파아제 결핍, 모르키오 증후군 A, 월만 LAL 리소좀 산 리파아제 결핍, A1AT(Alpha1-Antitrypsin: 알파1-항트립신) 결핍 및 요소 회로 질환이 포함되나 이에 제한되지는 않는다. 효소 대체 요법 중에 환자에게 공급되는 효소는 알파1-항트립신, β-글루코세레브로시다아제, 아데노신 디아미나아제, 알파-갈락토시다아제 A, α-L-이두로니다제, 이두로네이트-2-설파타아제, N-아세틸갈락토사민-6 설파타아제, N-아세틸갈락토사민-4 설파타아제 및 리소좀 산 리파아제를 포함하나 이에 제한되지 않는다.

[0336] 본 발명의 일부 실시양태에서, T 세포는 분비 단백질 및 분비 인간 단백질을 포함하는 치료 단백질을 발현하도록 변형된다. 장애의 방법의 일부 실시양태에서, 인간 단백질을 발현 또는 분비하도록 변형된 CAR-T 세포를 포함하는 조성물을 사용하여 인간 항체를 생산한다. 일부 실시양태에서, 분비 단백질을 발현하는 변형된 T 세포에 의해 치료되는 질환은 항체 또는 항체 단편의 정맥 내 주입 또는 주사를 통해 치료될 수 있는 질환이다. 항체 기반 요법은 암 이외에도 관절염 및 천식과 같은 면역 기반 질환 및 감염을 비롯하여 많은 유형의 질환뿐 아니라 기타 질환을 치료하는데 사용된다. 본 발명의 변형된 T 세포로 치료될 수 있는 예시적인, 그러나 비제한적인 질환 목록은 혈소판 응집, 클로스트리디움 디피실리(Clostirdium difficile) 감염, 류마티스 관절염, 크론병, 판상형 건선, 건선성 관절염, 강직성 척추염, 소아 특발성 관절염, 알츠하이머병, 패혈병, 다발성 경화증, 고콜레스테롤혈증, 전신 홍반 루푸스, 장기 이식 거부 반응 방지, 바이러스 감염, 천식, 중증 알레르기 장애, 망막병증, 골다공증, 염증성 장 질환, 염증성 질환, 인플루엔자 A, 발작성 야간 혈색뇨, 그람 음성 박테리아에 의한 패혈증, 건선, 침습성 칸디다 감염, 궤양성 대장염, 저콜레스테롤혈증, 호흡기 세포융합 바이러스 감염, 국소 분절성 사구체 경화증, 이식편대 숙주병, 강직성 척추염, HIV 감염, 궤양성 대장염, 자가면역 질환, 만성 천식, 녹내장 수술 후 흉터 감소, 고콜레스테롤혈증, 백혈구 질환, 전신 피부경화증, 호흡기 세포융합 바이러스(예방), 홍반 루푸스, 1형 당뇨병, 염증, 슈도모나스 에루기노사(Pseudomonas aeruginosa) 감염, 황반 변성, 탄저병, 거대세포 바이러스 감염, 기도, 피부 및 소화관의 염증, 전신 홍반 루푸스, 류마티스성 질환, 포도막염, 거대세포 바이러스 감염, 피부근염, 다발성 근염, 섬유증, 맥락막 및 망막 혈관신생, 근위축증, 스태필로코커스 아우레우스(Staphylococcus aureus) 감염, 루푸스 신염, 소포성 림프종, 만성 간염 B 및 궤양성 대장염을 포함한다.

[0337] ***입양 세포 요법으로서 변형된 세포의 주입***

[0338] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 변형된 세포는 주사 또는 정맥 내 주입을 통해 환자에게 전달된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 1kg당 $2x10^5$ 내지 $5x10^8$ 세포, 또는 이들의 임의의 범위, 값 또는 분율을 포함한다.

[0339] 본원의 특정 실시양태에서, 본 발명의 변형된 세포는 주사 또는 정맥 내 주입을 통해 환자에게 전달된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 kg당 $0.2x10^6$ 내지 $20x10^6$ 세포를 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 kg당 $0.2x10^6$ 세포, 투여당 환자 체중 kg당 $2x10^6$ 세포, 투여당 환자 체중 kg당 $20x10^6$ 세포, 투여당 환자 체중 kg당 이들 사이의 임의의 세포를 포함한다.

[0340] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 변형된 세포는 주사 또는 정맥 내 주입을 통해 환자에게 전달된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 1kg당 $1x10^6$ 세포 또는 약 $1x10^6$ 세포를 포함한다.

[0341] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 변형된 세포는 주사 또는 정맥 내 주입을 통해 환자에게 전달된다. 특정 실시양태에서, 본원의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 1kg당 $3x10^6$ 세포 또는 약 $3x10^6$ 세포를 포함한다.

[0342] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 변형된 세포는 주사 또는 정맥 내 주입을 통해 환자에게 전달된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 kg당 $0.7x10^6$ 내지 $6.7x10^6$ 세포를 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 kg당 $0.7x10^6$ 세포, 투여당 환자 체중 kg당 $6.7x10^6$ 세포, 또는 투여당 환자 체중 kg당 이들 사이의 임의의 세포를 포함한다.

[0343] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 변형된 세포는 주사 또는 정맥 내 주입을 통해 환자에게 전달된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 kg당 $0.7x10^6$ 내지 $16x10^6$ 세포를 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 kg당 $0.7x10^6$ 세포, 투여당 환자 체중 kg당 $2x10^6$ 세포, 투여당 환자 체중 kg당 $6x10^6$ 세포, 투여당 환자 체중 kg당 $10.7x10^6$ 세포, 투여당 환자 체중 kg당 $16x10^6$ 세포, 또는 투여당 환자 체중 kg당 이들 사이의 임의의 세포를 포함한다.

[0344] 본원의 특정 실시양태에서, 본 발명의 변형된 세포는 주사 또는 정맥 내 주입을 통해 환자에게 전달된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 kg당 $1.2x10^6$ 내지 $7.1x10^6$ 세포를 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 kg당 $1.2x10^6$ 세포, 투여당 환자 체중 kg당 $7.1x10^6$ 세포, 또는 투여당 환자 체중 kg당 이들 사이의 임의의 개수의 세포를 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 kg당 $2x10^6$ 내지 $3x10^6$ 세포를 포함한다.

[0345] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 변형된 세포는 주사 또는 정맥 내 주입을 통해 환자에게 전달된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 kg당 $1106x10^6$ 내지 $2106x10^6$ 세포를 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 kg당 $1106x10^6$ 세포, 투여당 환자 체중 kg당 $2106x10^6$ 세포 또는 투여당 환자 체중 kg당 이들 사이의 임의의 개수의 세포를 포함한다. 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 변형된 세포는 주사 또는 정맥 내 주입을 통해 환자에게 전달된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 kg당 $0.7x10^6$ 내지 $1.3x10^6$ 세포를 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 투여당 환자 체중 kg당 $0.7x10^6$ 세포, 투여당 환자 체중 kg당 $1.3x10^6$ 세포, 또는 투여당 환자 체중 kg당 이들 사이의 임의의 개수의 세포를 포함한다.

[0346] 본 발명의 특정 실시양태에서, 본 발명의 변형된 세포는 주사 또는 정맥 내 주입을 통해 환자에게 전달된다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 1회 또는 다회 용량을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 본 발명의 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 분할된 용량을 포함한다. 특정 실시양태에서, 본 발명의 조성물 또는 변형된 세포를 포함하는 조성물의 치료 유효량은 초기 용량 및 유지 용량을 포함한다.

[0347] 본 발명의 특정 실시양태에서, 변형된 세포는 T 세포이고, T 세포는 시험관 내 증식 또는 약학적으로 허용 가능한 담체와의 제제화 전에 T 세포 마커에 따라 분류될 수 있다. 일부 실시양태에서, 변형된 T 세포는 CD8+ 및/또

는 CD4+ 마커를 사용하여 분류될 수 있다.

[0348] ***핵산 분자***

[0349] 단백질 스캐폴드를 코딩하는 본 발명의 핵산 분자는 mRNA, hnRNA, tRNA 또는 임의의 다른 형태와 같은 RNA 형태일 수 있거나, 클로닝에 의해 수득된 또는 합성 생산된 cDNA 및 게놈 DNA를 포함하지만 이에 제한되지 않는 DNA의 형태, 또는 이들의 임의의 조합일 수 있다. DNA는 삼중 가닥, 이중 가닥 또는 단일 가닥 또는 이들의 임의의 조합일 수 있다. 적어도 하나의 가닥의 DNA 또는 RNA의 임의의 부분은 센스 가닥으로도 알려진 코딩 가닥일 수 있거나, 안티 센스 가닥으로도 지칭되는 비코딩 가닥일 수 있다.

[0350] 본 발명의 단리된 핵산 분자는, 경우에 따라 하나 이상의 인트론과 함께, 오픈 리딩 프레임(ORF: open reading frame), 예를 들어, 그러나 이에 제한되지 않는, 적어도 하나의 단백질 스캐폴드의 적어도 하나의 특정 부분을 포함하는 핵산 분자; 표적 단백질에 결합하는 단백질 스캐폴드 또는 루프 영역에 대한 코딩 서열을 포함하는 핵산 분자; 및 상기한 것들과 실질적으로 상이한 뉴클레오티드 서열을 포함하지만, 유전자 암호의 축퇴성으로 인해, 본원에 기재된 바와 같고/거나 당 업계에 공지된 바와 같은 단백질 스캐폴드, Centyrin, CAR, CARTyrin, 트랜스포존 및/또는 트랜스포사제를 여전히 코딩하는 핵산 분자를 포함할 수 있다. 물론, 유전자 암호는 당 업계에 잘 공지되어 있다. 따라서, 당업자가 본 발명의 특정 단백질 스캐폴드를 코딩하는 이러한 축퇴성 핵산 변이체를 생성하는 것은 일상적일 것이다. 예를 들어, 문헌[Ausubel, et al., 상기]를 참조하며, 이러한 핵산 변이체는 본 발명에 포함된다.

[0351] 본원에서 지시된 바와 같이, 단백질 스캐폴드, Centyrin, CAR, CARTyrin, 트랜스포존 및/또는 트랜스포사제를 코딩하는 핵산을 포함하는 본 발명의 핵산 분자는 단백질 스캐폴드, Centyrin, CAR, CARTyrin, 트랜스포존 및/또는 트랜스포사제 단편 자체의 아미노산 서열을 코딩하는 것; 전체 단백질 스캐폴드, Centyrin, CAR, CARTyrin, 트랜스포존, 및/또는 트랜스포사제 또는 이들의 일부에 대한 코딩 서열; 단백질 스캐폴드, Centyrin, CAR, CARTyrin, 트랜스포존 및/또는 트랜스포사제, 단편 또는 일부분에 대한 코딩 서열뿐만 아니라, 적어도 하나의 인트론과 같은 추가의 코딩 서열을 포함하거나 포함하지 않으면서, 스플라이싱 및 폴리아데닐화 신호(예를 들어, 리보솜 결합 및 mRNA의 안정성)를 포함하는 mRNA 프로세싱, 전사에 역할을 하는 전사되는 비번역 서열과 같은 비코딩 5' 및 3' 서열을 포함하나 이에 제한되지 않는 추가적인 비코딩 서열과 함께, 적어도 하나의 신호 리더 또는 융합 펩티드에 대한 코딩 서열과 같은 추가의 서열; 추가적인 기능을 제공하는 아미노산과 같은 추가적인 아미노산을 코딩하는 추가의 코딩 서열을 포함할 수 있지만 이에 제한되지는 않는다. 따라서, 단백질 스캐폴드, Centyrin, CAR, CARTyrin, 트랜스포존 및/또는 트랜스포사제를 코딩하는 서열은 단백질 스캐폴드 단편 또는 일부분을 포함하는 융합된 단백질 스캐폴드, Centyrin, CAR, CARTyrin, 트랜스포존 및/또는 트랜스포사제의 정제를 용이하게 하는 펩티드를 코딩하는 서열과 같은 마커 서열에 융합될 수 있다,

[0352] ***핵산의 제작***

[0353] 본 발명의 단리된 핵산은 당 업계에 잘 공지된 바와 같이, (a) 재조합 방법, (b) 합성 기술, (c) 정제 기술, 및/또는 (d) 이들의 조합을 사용하여 제조될 수 있다.

[0354] 핵산은 편리하게는 본 발명의 폴리뉴클레오티드 이외의 서열을 포함할 수 있다. 예를 들어, 하나 이상의 엔도뉴클레아제 제한 부위를 포함하는 다중 클로닝 부위가 폴리뉴클레오티드의 단리를 돕기 위해 핵산에 삽입될 수 있다. 또한, 번역 가능한 서열을 삽입하여 본 발명의 번역된 폴리뉴클레오티드의 단리를 도울 수 있다. 예를 들어, 헥사-히스티딘 마커 서열은 본 발명의 단백질을 정제하는 편리한 수단을 제공한다. 코딩 서열을 제외한 본원의 핵산은 경우에 따라, 본 발명의 폴리뉴클레오티드의 클로닝 및/또는 발현을 위한 벡터, 어댑터 또는 링커이다.

[0355] 클로닝 및/또는 발현에서 기능을 최적화하기 위해, 폴리뉴클레오티드의 단리를 돕기 위해, 또는 폴리뉴클레오티드의 세포 내로의 도입을 향상시키기 위해, 추가의 서열이 상기 클로닝 및/또는 발현 서열에 첨가될 수 있다. 클로닝 벡터, 발현 벡터, 어댑터 및 링커의 사용은 당 업계에 잘 공지되어 있다(예를 들어, 상기 문헌[Ausubel] 또는 상기 문헌[Sambrook] 참조).

[0356] ***핵산을 제작하기 위한 재조합 방법***

[0357] RNA, cDNA, 게놈 DNA 또는 이들의 임의의 조합과 같은 본 발명의 단리된 핵산 조성물은 당업자에게 공지된 많은 클로닝 방법론을 사용하여 생물학적 공급원으로부터 수득될 수 있다. 일부 실시양태에서, 엄격한 조건하에서 본 발명의 폴리뉴클레오티드에 선택적으로 혼성화하는 올리고뉴클레오티드 프로브를 사용하여 cDNA 또는 게놈 DNA 라이브러리에서 원하는 서열을 동정한다. RNA의 단리 및 cDNA 및 게놈 라이브러리의 제작은 당업자에게 잘 공지

되어 있다(예를 들어, 상기 문헌[Ausubel] 또는 상기 문헌[Sambrook] 참조).

[0358] ***벡터 및 숙주 세포***

[0359] 본 발명은 또한 당 업계에 공지된 바와 같이, 본 발명의 단리된 핵산 분자를 포함하는 벡터, 재조합 벡터로 유전자 조작된 숙주 세포, 및 재조합 기술에 의한 적어도 하나의 단백질 스캐폴드의 생산에 관한 것이다. 예를 들어, 상기 문헌[Sambrook, et al.; Ausubel, et al.]을 참조하며, 이들 각각은 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0360] 예를 들어, PB-EF1a 벡터가 사용될 수 있다. 벡터는 하기 뉴클레오티드 서열을 포함한다:

tgtacatagattaaccctagaaagataatcatattgtgacgtacgttaaagataatcatgcgtaaaattgacgcatgtgttttatcggtctgt
atatcgaggtttatttattaatttgaatagatattaagttttattatatttacacttacatactaataataaattcaacaaacaatttatttatgtttatt
tatttattaaaaaaaaacaaaaactcaaaatttcttctataaagtaacaaaacttttatcgaatacctgcagcccgggggatgcagagggga
cagccccccccccaaagccccccagggatgtaattacgtccctccccccgctaggggggcagcagcgagccgcccgggggctccgctcc
ggtccggcgctcccccccgcatccccgagccggcagcgtgcggggacagcccgggcacggggaaggtggcacgggatcgctttc
ctctgaacgcttctcgctgctctttgagcctgcagacacctgggggggatacggggaaaagttgactgtgcctttcgatcgaaccatgga
cagttagctttgcaaagatggataaagttttaaacagagaggaatctttgcagctaatggaccttctaggtcttgaaaggagtgggaattg
gctccggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggagggtcggcaattgaaccggtg
cctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgcctttttcccgagggtgggggagaaccgtata
taagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttcgcaacgggtttgccgccagaacacaggtaagtgccgtgtgtggttcccgcgggcct
ggcctctttacgggttatggcccttgcgtgccttgaattacttccacctggctgcagtacgtgattcttgatcccgagcttcgggttggaag
tgggtgggagagttcgaggccttgcgcttaaggagccccttcgcctcgtgcttgagttgaggcctggcctgggcgctggggccgccg
cgtgcgaatctggtggcaccttcgcgcctgtctcgctgctttcgataagtctctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcgacgcttttt
ttctggcaagatagtcttgtaaatgcgggccaagatctgcacactggtatttcggttttggggccgcgggcggcgacggggcccgtg
cgtcccagcgcacatgttcggcgaggcggggcctgcgagcgcggccaccgagaatcggacggggtagtctcaagctggccggc
ctgctctggtgcctggcctcgcgccgccgtgtatcgccccgccctgggcggcaaggctggcccggtcggcaccagttgcgtgagcgg
gaaagatggccgcttcccggccctgctgcagggagctcaaaatggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgggtgagtcaccc
acacaaaggaaaagggcctttccgtcctcagccgtcgcttcatgtgactccacggagtaccgggcgccgtccaggcacctcgattagt
tctcgagcttttggagtacgtcgtctttaggttgggggggagggttttatgcgatggagtttccccacactgagtgggtggagactgaag
ttaggccagcttggcacttgatgtaattctccttggaatttgccctttttgagtttggatcttggttcattctcaagcctcagacagtggttcaa
agttttttttcttccatttcaggtgtcgtgagaattctaatacgactcactatagggtgtgctgtctcatcattttggcaaagattggccaccaa
gcttgtcctgcaggagggtcgacgcctctagacgggcggccgctccggatccacgggtaccgatcacatatgccttaatttaaacact
agttctatagtgtcacctaaattcccttagtgagggttaatggccgtaggccgccagaattgggtccagacatgataagatacattgatg
agtttggacaaaccacaactagaatgcagtgaaaaaaatgctttatttgtgaaatttgtgatgctattgctttatttgtaaccattataagctg
caataaacaagttaacaacaacaattgcattcattttatgtttcaggttcaggggggaggtgtgggaggttttttcggactctaggacctgcg
catgcgcttggcgtaatcatggtcatagctgtttcctgttttccccgtatcccccccaggtgtctgcaggctcaaagagcagcgagaagcg
ttcagaggaaagcgatcccgtgccacctttcccgtgcccgggctgtccccgcacgctgccggctcggggatgcgggggggagcgcc
[0361] ggaccggagcggagccccgggcggctcgctgctgccccctagcgggggagggacgtaattacatccctgggggctttgggggggg

ggctgtcctctcaccgcggtggagctccagcttttgttcgaattggggccccccctcgagggtatcgatgatatctataacaagaaaat
atatatataataagttatcacgtaagtagaacatgaaataacaatataattatcgtatgagttaaatcttaaaagtcacgtaaaagataatcat
gcgtcattttgactcacgcggtcgttatagttcaaaatcagtgacacttaccgcattgacaagcacgcctcacgggagctccaagcggc
gactgagatgtcctaaatgcacagcgacggattcgcgctatttagaaagagagagcaatatttcaagaatgcatgcgtcaattttacgca
gactatctttctagggttaatctagctagccttaagggcgcctattgcgttgcgctcactgcccgctttccagtcgggaaacctgtcgtgc
cagctgcattaatgaatcggccaacgcgcggggagaggcggtttgcgtattgggcgctcttccgcttcctcgctcactgactcgctgc
gctcggtcgttcggctgcggcgagcggtatcagctcactcaaaggcggtaatacggttatccacagaatcaggggataacgcaggaa
agaacatgaccaaaatcccttaacgtgagttttcgttccactgagcgtcagaccccgtagaaaagatcaaaggatcttcttgagatccttt
ttttctgcgcgtaatctgctgcttgcaaacaaaaaaaccaccgctaccagcggtggtttgtttgccggatcaagagctaccaactctttttc
cgaaggtaactggcttcagcagagcgcagataccaaatactgttcttctagtgtagccgtagttaggccaccacttcaagaactctgtag
caccgcctacatacctcgctctgctaatcctgttaccagtggctgctgccagtggcgataagtcgtgtcttaccgggttggactcaagac
gatagttaccggataaggcgcagcggtcgggctgaacgggggttcgtgcacacagcccagcttggagcgaacgacctacaccga
actgagatacctacagcgtgagctatgagaaagcgccacgcttcccgaagggagaaaggcggacaggtatccggtaagcggcagg
gtcggaacaggagagcgcacgagggagcttccagggggaaacgcctggtatctttatagtcctgtcgggtttcgccacctctgacttg
agcgtcgatttttgtgatgctcgtcaggggggcggagcctatggaaaaacgccagcaacgcggcctttttacggttcctggccttttgct
ggccttttgctcacatgagattatcaaaaaggatcttcacctagatccttttaaattaaaaatgaagttttaaatcaatctaaagtatatatga
gtaaacttggtctgacagtcagaagaactcgtcaagaaggcgatagaaggcgatgcgctgcgaatcgggagcggcgataccgtaaa
gcacgaggaagcggtcagcccattcgccgccaagctcttcagcaatatcacgggtagccaacgctatgtcctgatagcggtccgcca
cacccagccggccacagtcgatgaatccagaaaagcggccattttccaccatgatattcggcaagcaggcatcgccatgggtcacga
cgagatcctcgccgtcgggcatgctcgccttgagcctggcgaacagttcggctggcgcgagcccctgatgctcttcgtccagatcatc
ctgatcgacaagaccggcttccatccgagtacgtgctcgctcgatgcgatgtttcgcttggtggtcgaatgggcaggtagccggatca
agcgtatgcagccgccgcattgcatcagccatgatggatactttctcggcaggagcaaggtgagatgacaggagatcctgccccggc
acttcgcccaatagcagccagtcccttcccgcttcagtgacaacgtcgagcacagctgcgcaaggaacgcccgtcgtggccagcca
cgatagccgcgctgcctcgtcttgcagttcattcagggcaccggacaggtcggtcttgacaaaaagaaccgggcgcccctgcgctga
cagccggaacacggcggcatcagagcagccgattgtctgttgtgcccagtcatagccgaatagcctctccacccaagcggccggag
aacctgcgtgcaatccatcttgttcaatcataatattattgaagcatttatcagggttcgtctcgtcccggtctcctcccaatgcatgtcaata
ttggccattagccatattattcattggttatatagcataaatcaatattggctattggccattgcatacgttgtatctatatcataata (서열
번호 35).

[0362]

[0363] 폴리뉴클레오티드는 경우에 따라 숙주에서의 증식을 위한 선별 마커를 함유하는 벡터에 연결될 수 있다. 일반적으로, 플라스미드 벡터는 인산 칼슘 침전물과 같은 침전물 또는 하전된 지질과의 복합체로 도입된다. 벡터가 바이러스일 경우, 적절한 패키징 세포주를 사용하여 시험관 내에서 패키징한 다음 숙주 세포로 형질도입될 수 있다.

[0364] DNA 삽입물은 적절한 프로모터에 작동 가능하게 연결되어야 한다. 발현 구조물은 전사 개시, 종결을 위한 부위 및 전사되는 영역 내에 번역을 위한 리보솜 결합 부위를 추가로 포함할 것이다. 구조물에 의해 발현되는 성숙한 전사체의 코딩 부분은 바람직하게는 번역되는 mRNA의 말단에 적절하게 위치된 개시 및 종결 코돈(예를 들어, UAA, UGA 또는 UAG)에서 번역 개시를 포함할 것이며, 포유동물 또는 진핵 세포 발현에서 UAA 및 UAG가 선호된다.

[0365] 발현 벡터는 바람직하게는 그러나 경우에 따라 적어도 하나의 선택 가능한 마커를 포함할 것이다. 이러한 마커로는 예를 들어, 진핵생물 세포 배양을 위한 암피실린, 제오신(*Sh ble* 유전자), 퓨로마이신(*pac* 유전자), 하이그로마이신 B(*hygB* 유전자), G418/제네티신(*neo* 유전자), 미코페놀산 또는 글루타민 신테타아제(GS, 미국 특허 제5,122,464호; 제5,770,359호; 제5,827,739호), 블라스티시딘(*bsd* 유전자) 내성 유전자뿐만 아니라 이. 콜라이 및 기타 박테리아 또는 원핵생물에서 배양하기 위한 암피실린, 제오신(*Sh ble* 유전자), 퓨로마이신(*pac* 유전자), 하이그로마이신 B(*hygB* 유전자), G418/제네티신(*neo* 유전자), 카나마이신, 스펙티노마이신, 스트렙토마이신, 카르베니실린, 블레오마이신, 에리트로마이신, 폴리믹신 B 또는 테트라사이클린(상기 특허는 이로써 전체가 본원에 참고로 포함됨) 내성 유전자가 포함되나 이에 제한되지는 않는다. 상기한 숙주 세포에 적절한 배양 배지 및 조건은 당 업계에 공지되어있다. 적합한 벡터는 당업자에게 기꺼이 명백할 것이다. 숙주 세포 내로 벡터 구조물의 도입은 인산칼슘 형질감염, DEAE-덱스트란 매개 형질감염, 양이온성 지질 매개 형질감염, 전기 천공, 형질도입, 감염 또는 다른 공지된 방법에 의해 수행될 수 있다. 이러한 방법은 상기 문헌[Sambrook, Chapter 1-4

and 16-18; Ausubel, Chapters 1, 9, 13, 15, 16]을 참조한다.

[0366] 발현 벡터는 바람직하게는 그러나 경우에 따라 본 발명의 조성물 및 방법에 의해 변형된 세포를 단리하기 위한 적어도 하나의 선별 가능한 세포 표면 마커를 포함할 것이다. 본 발명의 선별 가능한 세포 표면 마커는 세포 또는 세포의 서브세트를 세포의 정의된 또 다른 서브세트와 구별하는 표면 단백질, 당단백질 또는 단백질 군을 포함한다. 바람직하게는 선택 가능한 세포 표면 마커는 본 발명의 조성물 또는 방법에 의해 변형된 세포를 본 발명의 조성물 또는 방법에 의해 변형되지 않은 세포와 구별한다. 이러한 세포 표면 마커는 "세포 표면 항원 무리(cluster of designation)" 또는 "분류 결정 인자(classification of determinant)" 단백질(종종 "CD"로 약칭됨), 예를 들어 CD19, CD271, CD34, CD22, CD20, CD33, CD52, 또는 이들의 임의의 조합의 절두된 또는 전체 길이 형태를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 세포 표면 마커는 자살 유전자 마커 RQR8을 추가로 포함한다(Philip B et al. Blood. 2014 Aug 21; 124(8):1277-87).

[0367] 발현 벡터는 바람직하게는 그러나 경우에 따라, 본 발명의 조성물 및 방법에 의해 변형된 세포를 단리하기 위한 적어도 하나의 선별 가능한 약물 내성 마커를 포함할 것이다. 본 발명의 선별 가능한 약물 내성 마커는 야생형 또는 돌연변이 Neo, DHFR, TYMS, FRANCF, RAD51C, GCS, MDR1, ALDH1, NKX2.2, 또는 이들의 임의 조합을 포함할 수 있다.

[0368] 본 발명의 적어도 하나의 단백질 스캐폴드는 융합 단백질과 같은 변형된 형태로 발현될 수 있으며, 분비 신호뿐만 아니라 추가적인 이종 기능성 영역을 포함할 수 있다. 예를 들어, 추가 아미노산, 특히 하전된 아미노산의 영역이 숙주 세포에서, 정제 중에 또는 후속적인 취급 및 저장 중에 안정성 및 지속성을 향상시키기 위해 단백질 스캐폴드의 N- 말단에 첨가될 수 있다. 또한, 펩티드 모이어티는 정제를 용이하게 하기 위해 본 발명의 단백질 스캐폴드에 첨가될 수 있다. 이러한 영역은 단백질 스캐폴드 또는 이의 적어도 하나의 단편의 최종 제조 전에 제거될 수 있다. 이러한 방법은 상기 문헌[Sambrook, Chapters 17.29-17.42 and 18.1-18.74; Ausubel, Chapters 16, 17 and 18]과 같은 많은 표준 실험실 매뉴얼에 기술되어있다.

[0369] 당업자는 본 발명의 단백질을 코딩하는 핵산의 발현에 이용 가능한 다수의 발현 시스템에 대해 잘 알고 있다. 다르게는, 본 발명의 핵산은 본 발명의 단백질 스캐폴드를 코딩하는 내인성 DNA를 함유하는 숙주 세포에서 (조작에 의해) 작동시킴(turning on)으로써 숙주 세포에서 발현될 수 있다. 이러한 방법은 전체가 본원에 참고로 포함된 미국 특허 제5,580,734호, 제5,641,670호, 제5,733,746호 및 제5,733,761호에 기재된 바와 같이 당 업계에 잘 공지되어 있다.

[0370] 단백질 스캐폴드, 이의 특정 부분 또는 변이체의 생산에 유용한 세포 배양의 예는 당 업계에 공지된 바와 같이 박테리아, 효모 및 포유동물 세포이다. 포유동물 세포 현탁액 또는 생물 반응기가 사용될 수 있지만 포유동물 세포 시스템은 종종 세포의 단일 층의 형태로 존재할 것이다. 손상되지 않은 글리코실화된 단백질을 발현할 수 있는 다수의 적합한 숙주 세포주가 본 기술 분야에서 개발되었고, 예를 들어, 아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션(American Type Culture Collection)(버지니아주 마나사스 소재)(www.atcc.org)로부터 쉽게 이용 가능한 COS-1(예를 들어, ATCC CRL 1650), COS-7(예를 들어, ATCC CRL-1651), HEK293, BHK21(예를 들어, ATCC CRL-10), CHO(예를 들어, ATCC CRL 1610) 및 BSC-1(예를 들어, ATCC CRL-26) 세포주, Cos-7 세포, CHO 세포, hep G2 세포, P3X63Ag8.653, SP2/0-Ag14, 293 세포, HeLa 세포 등을 포함한다. 바람직한 숙주 세포는 골수종 및 림프종 세포와 같은 림프계 기원의 세포를 포함한다. 특히 바람직한 숙주 세포는 P3X63Ag8.653 세포(ATCC 수탁 번호 CRL-1580) 및 SP2/0-Ag14 세포(ATCC 수탁 번호 CRL-1851)이다. 특히 바람직한 실시양태에서, 재조합 세포는 P3X63Ab8.653 또는 SP2/0-Ag14 세포이다.

[0371] 이들 세포를 위한 발현 벡터는 하기와 같은 예를 들어, 그러나 이에 제한되지 않는, 하기 발현 조절 서열 중 하나 이상을 포함할 수 있다: 복제 기점; 프로모터(예를 들어, 후기 또는 초기 SV40 프로모터, CMV 프로모터(미국 특허 제5,168,062호; 제5,385,839호), HSV tk 프로모터, pgk(포스포글리세레이트 키나아제) 프로모터, EF-1 알파 프로모터(미국 특허 제5,266,491호), 적어도 하나의 인간 프로모터, 인핸서, 및/또는 프로세싱 정보 부위, 예를 들어 리보솜 결합 부위, RNA 스플라이스 부위, 폴리아데닐화 부위(예를 들어, SV40 거대 T Ag 폴리 A 첨가 부위) 및 전사 종결 서열. 예를 들어, 상기 문헌[Ausubel et al.; Sambrook, et al.]을 참조한다. 본 발명의 핵산 또는 단백질의 생산에 유용한 다른 세포는 공지되어 있거나, 예를 들어 세포주 및 하이브리도마의 아메리칸 타입 컬쳐 콜렉션 카탈로그(www.atcc.org) 또는 기타 공지된 또는 상용 공급처로부터 이용 가능하다.

[0372] 진핵 숙주 세포가 사용되는 경우, 폴리아데닐화 또는 전사 종결 서열이 전형적으로 벡터에 혼입된다. 종결 서열의 예는 소 성장 호르몬 유전자의 폴리아데닐화화 서열이다. 전사체의 정확한 스플라이싱을 위한 서열도 포함될 수 있다. 스플라이싱 서열의 예는 SV40의 VP1 인트론이다(Sprague, et al., J. Virol. 45:773-781 (1983)). 또

한, 숙주 세포에서 복제를 조절하기 위한 유전자 서열은 당 업계에 공지된 바와 같이 벡터에 혼입될 수 있다.

[0373] ***단백질 스캐폴드의 정제***

[0374] 단백질 스캐폴드는 단백질 A 정제, 황산 암모늄 또는 에탄올 침전, 산 추출, 음이온 또는 양이온 교환 크로마토그래피, 포스포셀룰로오스 크로마토그래피, 소수성(hydrophobic interaction) 크로마토그래피, 친화성 크로마토그래피, 히드록실아파타이트 크로마토그래피 및 렉틴 크로마토그래피를 포함하는, 그러나 이에 제한되지 않는 잘 공지된 방법에 의해 재조합 세포 배양물로부터 회수 및 정제될 수 있다. 고성능 액체 크로마토그래피("HPLC": High performance liquid chromatography)도 정제에 사용될 수 있다. 예를 들어, 문헌[Colligan, Current Protocols in Immunology, or Current Protocols in Protein Science, John Wiley & Sons, NY, N.Y., (1997-2001), 예를 들어, Chapters 1, 4, 6, 8, 9, 10]을 참조하며, 이들 각각은 전체가 본원에 참고로 포함된다.

[0375] 본 발명의 단백질 스캐폴드는 천연 정제 산물, 화학적 합성 절차의 산물, 및 예를 들어 이. 콜라이, 효모, 고등 식물, 곤충 및 포유동물 세포를 포함하는 원핵 또는 진핵 숙주로부터 재조합 기술에 의해 생산된 산물을 포함한다. 재조합 생산 절차에서 사용되는 숙주에 따라, 본 발명의 단백질 스캐폴드는 글리코실화될 수 있거나 글리코실화되지 않을 수 있다. 이러한 방법은 상기 문헌[Sambrook, Sections 17.37-17.42; Ausubel, Chapters 10, 12, 13, 16, 18 and 20, Colligan, Protein Science, Chapters 12-14, 이들 모두는 전체가 본원에 참고로 포함됨]와 같은 많은 표준 실험실 매뉴얼에 기술되어있다.

[0376] ***변이체***

[0377] 본 발명의 단백질 스캐폴드를 구성하는 아미노산은 종종 축약된다. 아미노산 표기는 당해 분야에서 잘 이해되는 바와 같이 단일 문자 코드, 3문자 코드, 명칭 또는 3개의 뉴클레오티드 코돈(들)에 의해 아미노산을 지정하여 나타낼 수 있다(문헌[Alberts, B., et al., Molecular Biology of The Cell, Third Ed., Garland Publishing, Inc., New York, 1994] 참조). 본원의 단백질 스캐폴드는 본원에서 특정된 바와 같은 자연적 돌연변이 또는 인간 조작으로부터의 하나 이상의 아미노산 치환, 결실 또는 첨가를 포함할 수 있다. 본 발명의 단백질 스캐폴드에서 기능에 필수적인 아미노산은 부위 지정 돌연변이 유발 또는 알라닌 스캐닝 돌연변이 유발에 의해 확인될 수 있다(예를 들어, 상기 문헌[Ausubel, Chapters 8, 15; Cunningham and Wells, Science 244:1081-1085 (1989)]). 후자의 절차는 분자 내의 모든 잔기에 단일 알라닌 돌연변이를 도입한다. 이어서, 생성된 돌연변이 분자를 생물학적 활성, 예를 들어, 그러나 이에 제한되지 않는, 하나 이상의 중화 활성에 대해 시험한다. 단백질 스캐폴드 결합에 결정적인 부위는 또한 결정화, 핵자기 공명 또는 광친화성 표지와 같은 구조 분석에 의해 확인될 수 있다(Smith, et al., J. Mol. Biol. 224:899-904 (1992) 및 de Vos, et al., Science 255:306-312 (1992)).

[0378] 본 명세서 전체에 걸쳐 사용되는 바와 같이, 용어 "실질적으로 상보적인"은 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 180, 270, 360, 450, 540개 이상의 뉴클레오티드 또는 아미노산의 영역에 대해 제2 서열의 상보체와 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 동일한 제1 서열을 지칭하거나, 두 서열이 엄격한 혼성화 조건하에서 혼성화함을 의미한다.

[0379] 본 명세서 전체에 걸쳐 사용되는 바와 같이, 용어 "실질적으로 동일한"은 제1 서열과 제2 서열이 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95, 100, 180, 270, 360, 450, 540개 이상의 뉴클레오티드 또는 아미노산의 영역에 대해 적어도 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% 또는 99% 동일함, 또는 핵산과 관련하여 제1 서열이 제2 서열의 상보체와 실질적으로 상보적일 경우를 지칭한다.

[0380] 본 명세서 전체에 걸쳐 사용되는 바와 같이, 용어 "변이체"는 핵산을 기술하는데 사용되는 경우, (i) 참조된 뉴클레오티드 서열의 일부 또는 단편; (ii) 참조된 뉴클레오티드 서열 또는 이의 일부의 상보체; (iii) 참조된 핵산 또는 이의 상보체와 실질적으로 동일한 핵산; 또는 (iv) 엄격한 조건하에 참조된 핵산, 이의 상보체 또는 이들과 실질적으로 동일한 서열에 혼성화하는 핵산을 지칭한다.

[0381] 본 명세서 전체에 걸쳐 사용되는 바와 같이, 용어 "벡터"는 복제 기점을 함유하는 핵산 서열을 지칭한다. 벡터는 바이러스 벡터, 박테리오파지, 박테리아 인공 염색체 또는 효모 인공 염색체일 수 있다. 벡터는 DNA 또는 RNA 벡터일 수 있다. 벡터는 자가 복제의 염색체 외 벡터일 수 있으며, 바람직하게는 DNA 플라스미드이다.

[0382] 본 명세서 전체에 걸쳐 사용되는 바와 같이, 용어 "변이체"는 펩티드 또는 폴리펩티드를 기술하는데 사용되는

경우, 아미노산의 삽입, 결실 또는 보존적 치환에 의해 아미노산 서열이 상이하지만, 적어도 하나의 생물학적 활성을 보유하는 펩티드 또는 폴리펩티드를 지칭한다. 또한, 변이체는 적어도 하나의 생물학적 활성을 보유하는 아미노산 서열을 가진 참조된 단백질과 실질적으로 동일한 아미노산 서열을 갖는 단백질을 의미할 수 있다.

[0383] 아미노산의 보존적 치환, 즉 아미노산을 유사한 특성(예를 들어, 친수성, 하전된 영역의 정도 및 분포)의 상이한 아미노산으로 대체하는 것은 일반적으로 사소한 변화를 수반하는 것으로 당 업계에서 인식된다. 이러한 사소한 변화는 당 분야에서 이해되는 바와 같이, 부분적으로, 아미노산의 소수친수 지수(hydropathic index)를 고려함으로써 확인될 수 있다(Kyte et al., J. Mol. Biol. 157: 105-132 (1982)). 아미노산의 소수친수 지수는 소수성 및 전하에 대한 고려사항에 기초한다. 유사한 소수친수 지수의 아미노산은 치환될 수 있고 단백질 기능을 여전히 유지할 수 있다. 한 양태에서, ± 2의 소수친수 지수를 갖는 아미노산이 치환된다. 아미노산의 친수성은 또한 단백질이 생물학적 기능을 유지하게 하는 치환을 밝히는데 사용될 수 있다. 펩티드와 관련하여 아미노산의 친수성을 고려하여 펩티드의 가장 큰 국소 평균 친수성을 계산할 수 있으며, 이는 항원성 및 면역원성과 우수한 상관관계가 있다고 보고된 유용한 측정법이다. 본원에서 전체가 참고로 포함된 미국 특허 제4,554,101호.

[0384] 유사한 친수성 값을 갖는 아미노산의 치환은 펩티드가 생물학적 활성, 예를 들어 면역원성을 유지하게 할 수 있다. 치환은 서로의 ± 2 이내의 친수성 값을 갖는 아미노산으로 수행될 수 있다. 아미노산의 소수성 지수 및 친수성 값은 모두 그 아미노산의 특정 측쇄에 의해 영향을 받는다. 그러한 관찰과 일치하여, 생물학적 기능에 호환되는 아미노산 치환은 소수성, 친수성, 전하, 크기 및 기타 특성에 의해 나타난 바와 같이 아미노산의 상대적인 유사성, 특히 아미노산의 측쇄에 따라 결정되는 것으로 이해된다.

[0385] 본원에서 사용되는 "보존적" 아미노산 치환은 하기 표 A, B 또는 C에 제시된 바와 같이 정의될 수 있다. 일부 실시양태에서, 융합 폴리펩티드 및/또는 이러한 융합 폴리펩티드를 코딩하는 핵산은 본 발명의 폴리펩티드를 코딩하는 폴리뉴클레오티드의 변형에 의해 도입된 보존적 치환을 포함한다. 아미노산은 물리적 특성 및 2차 및 3차 단백질 구조에 대한 기여도에 따라 분류될 수 있다. 보존적 치환은 하나의 아미노산에서 유사한 특성을 가진 또 다른 아미노산으로의 치환이다. 예시적인 보존적 치환은 표 A에 제시한다.

[0386] <표 A>

보존적 치환 I

측쇄 특징		아미노산
지방족	비극성	GAPILVF
	극성 - 비하전	CSTMNQ
	극성 - 하전	DEKR
방향족		HFWY
기타		NQDE

[0387]

[0388] 대안적으로, 보존적 아미노산은 표 B에 제시된 바와 같이 문헌[Lehninger, Biochemistry, Second Edition; Worth Publishers, Inc. NY, N.Y. (1975), pp.71-77]에 기재된 바와 같이 분류될 수 있다.

[0389] <표 B>

보존적 치환 II

측쇄 특징		아미노산
비극성 (소수성)	지방족:	A L I V P
	방향족:	F W Y
	황 함유:	M
	경계성:	G Y
비하전-극성	히드록실:	S T Y
	아미드:	N Q
	설프히드릴:	C
	경계성:	G Y
양하전 (염기성):		K R H
음하전 (산성):		D E

[0390]

[0391] 대안적으로, 예시적인 보존적 치환은 표 C에 제시한다.

[0392] <표 C>

보존적 치환 III

본래 잔기	예시적인 치환
Ala (A)	Val Leu Ile Met
Arg (R)	Lys His
Asn (N)	Gln
Asp (D)	Glu
Cys (C)	Ser Thr
Gln (Q)	Asn
Glu (E)	Asp
Gly (G)	Ala Val Leu Pro
His (H)	Lys Arg
Ile (I)	Leu Val Met Ala Phe
Leu (L)	Ile Val Met Ala Phe
Lys (K)	Arg His
Met (M)	Leu Ile Val Ala
Phe (F)	Trp Tyr Ile
Pro (P)	Gly Ala Val Leu Ile
Ser (S)	Thr
Thr (T)	Ser
Trp (W)	Tyr Phe Ile
Tyr (Y)	Trp Phe Thr Ser
Val (V)	Ile Leu Met Ala

[0393]

[0394] 본 발명의 폴리펩티드는 아미노산 잔기의 하나 이상의 삽입, 결실 또는 치환, 또는 이들의 임의의 조합뿐만 아니라 아미노산 잔기의 삽입, 결실 또는 치환 이외의 변형을 갖는 폴리펩티드를 포함하는 것을 의미하는 것으로

이해해야 한다. 본 발명의 폴리펩티드 또는 핵산은 하나 이상의 보존적 치환을 함유할 수 있다.

[0395] 본 명세서 전체에 걸쳐 사용되는 바와 같이, 용어 "하나 초과"의 상기 아미노산 치환은 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 또는 20개 이상의 상기 열거된 아미노산 치환을 포함한다. 용어 "하나 초과"라는 용어는 2, 3, 4 또는 5개의 열거된 아미노산 치환을 지칭할 수 있다.

[0396] 본 발명의 폴리펩티드 및 단백질, 이들의 전체 서열 또는 이들의 임의의 일부는 비자연 발생적일 수 있다. 본 발명의 폴리펩티드 및 단백질은 자연 발생적이지 않은 하나 이상의 돌연변이, 치환, 결실 또는 삽입을 함유할 수 있어, 전체 아미노산 서열을 비자연 발생적으로 만든다. 본 발명의 폴리펩티드 및 단백질은 하나 이상의 중복, 역전 또는 반복 서열을 함유할 수 있으며, 그 결과 서열은 자연 발생적이지 않으며, 전체 아미노산 서열이 비자연 발생적으로 만든다. 본 발명의 폴리펩티드 및 단백질은 자연 발생적이지 않은 변형, 인공 또는 합성 아미노산을 함유할 수 있어, 전체 아미노산 서열이 비자연 발생적으로 만든다.

[0397] 본 명세서 전체에 걸쳐 사용되는 바와 같이, "서열 동일성"은 디폴트 파라미터를 사용하여 미국 국립 생물공학 정보센터(NCBI: National Center for Biotechnology Information) ftp 사이트로부터 검색될 수 있는 2개의 서열(bl2seq)을 블라스팅(blasting)하기 위한 독립형 실행 가능 BLAST 엔진 프로그램을 사용하여 결정될 수 있다(Tatusova and Madden, FEMS Microbiol Lett., 1999, 174, 247-250; 이는 그 전문이 본원에 참고로 포함됨). 2개 이상의 핵산 또는 폴리펩티드 서열과 관련하여 사용될 때 용어 "동일한" 또는 "동일성"은 각각의 서열의 명시된 영역에 걸쳐 동일한 잔기의 명시된 퍼센트를 지칭한다. 퍼센트는 두 서열을 최적으로 정렬하고, 명시된 영역에 걸쳐 두 서열을 비교하고, 두 서열에서 동일한 잔기가 발생하는 위치의 수를 결정하여 일치된 위치의 수를 산출하고, 일치된 위치의 수를 명시된 영역의 총 위치 수로 나누고 결과에 100을 곱하여 서열 동일성의 퍼센트를 얻음으로써 계산될 수 있다. 두 서열의 길이가 상이하거나 정렬이 하나 이상의 엇갈린 말단(staggered end)을 생성하고 명시된 비교 영역이 단일 서열만을 포함하는 경우, 단일 서열의 잔기는 계산의 분모에는 포함되지만 분자에는 포함되지 않는다. DNA와 RNA를 비교할 때, 티민(T)과 우라실(U)은 동등한 것으로 간주할 수 있다. 동일성은 수동으로 또는 BLAST 또는 BLAST 2.0과 같은 컴퓨터 서열 알고리즘을 사용하여 얻을 수 있다.

[0398] **실시예**

[0399] **실시예 1: 줄기 유사 변형된 T 세포의 생산**

[0400] 다음은 T 세포의 바람직한 줄기 유사 특성을 유도하거나 보존하는 조건하에서 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현하도록 T 세포를 변형시키는 하나의 프로토콜의 예시적이지만 비제한적인 예이다.

[0401] 제0일: T 세포의 뉴클레오펙션

[0402] 37℃, 5% CO_2, 고습도 인큐베이터에서 이뮤노컬트™-XF T 세포 증식 배지(Stemcell Technologies, Cat #: 10981)를 미리 가온시킨다. $5x10^6$ T 세포/반응(100 ㎕ 큐벳 크기)에 대해, 6웰 플레이트의 단일 웰에 반응당 3 mL의 배지를 가온시킨다. $25x10^6$ T 세포/반응(100 ㎕ 큐벳 크기)에 대해, Gx-Rex10(Wilson Wolf, Cat # : 80040S)에 반응당 20 mL의 배지를 가온시킨다.

[0403] P3 1차 세포 용액(Lonza, Cat # : PBP3-02250)을 실온까지 가온시키고 필요하다면 보충물을 첨가한다.

[0404] X-유닛(Lonza, Cat #: AAF-1002X)을 제어하는 4D-뉴클레오펙터(Nucleofector)™ 시스템의 코어 유닛(Lonza, Cat #: AAF-1002B)을 켠다. P3 완충액을 사용하는데 필요한 뉴클레오펙션 수를 프로그래밍한다. EO-210 프로그램.

[0405] 큐벳을 표지하고, 트랜스퍼 피펫(론자(Lonza) P3 키트와 함께 제공됨)을 미리 개봉하고, 세포로 작업하기 전에 핵산의 적절한 희석액을 제조한다.

[0406] 트랜스포존 플라스미드일 경우, 뉴클레아제 무함유 H_2O 중 0.5 μg/㎕ 용액을 제조한다.

[0407] 클리니맥스 프로디지(CliniMACs Prodigy)를 사용하여 수집한 CD14, CD56, 및 CD19 제거된 세포를 계수하고 요구되는 세포 수에 필요한 부피를 계산한다.

[0408] 헤레우스 멀티퓨지(Heraeus Multifuge) X3R 벤치 탑 원심분리기(Thermofisher Scientific)에서 7에서 제동하면서 90 g에서 10분간 T 세포를 원심분리한다. 반응당 동일한 개수의 세포를 사용하여 여러 반응을 수행하는 경우, 단일 원심분리 관에서 필요한 모든 세포를 원심분리한다. 부피에 따라 15 mL(Fisher, Cat #: 14-959-49B) 또는 50 mL(Fisher, Cat #: 14-959-49A) 원뿔 튜브를 사용할 수 있다. 원심분리 과정에서 P3 1차 세포 용액 상

자(Lonza, Cat #: PBP3-02250)와 함께 제공되는 큐벳의 바닥에 핵산을 직접 첨가한다. 큐벳의 하단의 한 구석에 총 1 μg의 트랜스포존에 대해 단계 4에서 만든 0.5 μg/㎕ 트랜스포존 플라스미드 용액 2 ㎕를 첨가한다. 5 μg의 슈퍼 피기백™(SPB) 트랜스포사제 mRNA를 큐벳의 다른 구석에 첨가한다.

[0409] mRNA는 신속하게 분해될 수 있기 때문에, RN아제의 잠재적인 존재로 인해 전기 천공 전에 다른 핵산 용액 및 세포와 접촉하는 시간을 최소화하는 것이 최적이다. 이것이, 예를 들어, 혼합을 방지하기 위해 트랜스포존과 트랜스포사제를 큐벳의 반대 구석에 전달하는 이유이다. 또한, 핵산의 총 부피를 총 반응 부피를 10 ㎕(10%) 미만으로 유지하는 것이 최적이다.

[0410] 트랜스포존(1㎍)과 트랜스포사제(5㎍) 두 가지 모두의 양은 반응당 세포 수에 관계없이 동일하게 유지한다. 전위 효율은 $5x10^6$ 세포/100 ㎕ 반응과 $25x10^6$ 세포/100 ㎕ 반응 사이에서 변화없이 유지된다.

[0411] 원심분리 후, 세포 펠렛을 건드리지 않으면서 배지를 완전히 흡인한다.

[0412] 반응당 보충물을 함유하는 실온 P3 완충액 100 ㎕에 세포 펠렛을 현탁한다.

[0413] 최적으로 용액에 기포가 조금도 들어가지 않도록 주의하면서, 적합한 핵산을 함유하는 큐벳에 P3 완충액 중 세포 100 ㎕를 옮긴다. 한 번에 최대 2개의 큐벳에만 세포를 로딩할 것을 권장한다. 세포를 큐벳에 첨가한 후, 뉴클레오펙션 전에 세포와 mRNA의 접촉 시간을 줄이기 위해서 신속하고 효율적으로 작업하는 것이 최적이다. 최대 10분 동안 P3 완충액에 휴지하는 세포에 대해서는 전위 효율의 감소가 관찰되지 않았지만 P3에 세포가 남아있는 시간을 최소화할 것을 권장한다.

[0414] 여러 번 가볍게 쳐서 큐벳의 내용물을 혼합하고 최대 2개의 큐벳을 4D-뉴클레오펙터™ X-유닛에 로딩한다.

[0415] 프로그램 EO-210으로 세포에 펄스를 주어 기계에 의해 기록되는 오류가 없었는지를 확인한다.

[0416] 론자 P3 키트에 제공된 전용 피펫을 사용하여 뉴클레오펙션된 세포를 6웰 플레이트 또는 G-Rex10에 즉시 옮긴다. 세포를 옮기기 위해서, 먼저 6웰 플레이트 또는 G-Rex 플라스크에서 전용 피펫 안으로 미리 가온시킨 소량의 배지를 뽑아 올린다. 그런 후 배지를 큐벳에 페펫팅하고 큐벳의 전체 내용물을 피펫을 사용하여 최종 배양 접시에 옮긴다. 큐벳 또는 최종 배양 접시에서 세포를 위아래로 피펫팅하지 않을 것을 권장한다.

[0417] 남아있는 모든 반응에 대해 P3 완충액 중 세포를 적합한 핵산을 함유하는 큐벳으로 옮기기에서부터 뉴클레오펙션된 세포를 혼합하고, 펄스를 주고, 6웰 플레이트 또는 G-Rex10로 옮기기까지의 프로토콜을 반복한다.

[0418] 37℃, 5% CO_2, 고습도의 인큐베이터에 세포를 둔다.

[0419] 제2일: T 세포 활성화

[0420] 25 ㎕/mL의 이뮤토컬트™ 인간 CD3/CD28/CD2 T 세포 활성화제(Stemcell Technologies, Cat #: 10970)를 뉴클레오펙션된 세포에 첨가한다.

[0421] 세포를 피펫팅하여 부드럽게 혼합한다.

[0422] 37℃, 5% CO_2, 고습도의 인큐베이터에 세포를 다시 둔다.

[0423] *G-Rex 플라스크에서 배양하는 세포일 경우*: 뚜렷한 세포 덩어리가 관찰될 때까지 배양물을 건드리지 않는 것이 필수적이다. 따라서, 세포의 파괴/혼합/피펫팅과 배지 첨가 및 교환을 분리할 것을 권장한다.

[0424] *배양 배지 주의 사항*: G-Rex 플라스크에서 세포를 배양하는 경우, 배지 첨가 및/또는 교환은 글루코오스 및 다른 대사 물질 수준을 기준으로 수행되어야 한다. 글루코스 수준(또는 또 다른 지시 대사 물질)이 임계 수준(예를 들어, ~ 100 mg/dL의 글루코오스)으로 떨어지면 미리 가온시킨 이뮤노컬트™-XF T 세포 증식 배지를 사용하여 배지 부피를 2배로 늘리거나 배지 절반 교환으로 보충해야 한다. 배지 첨가는 천천히 수행해야 하며 가능한 세포를 거의 파괴하지 않도록 주의해야 한다. 배지 절반 교환은 세포가 배양 플라스크의 바닥에 완전히 정착할 수 있도록 세포 배양물의 물리적 파괴 후 적어도 12시간 후에 수행해야 한다.

[0425] *세포 샘플링 및 파괴:* 세포는 배양 기간의 대부분 동안 건드리지 않은 채 두어야 한다.

[0426] 크고 뚜렷한 세포 응집체가 형성되면 활성화 시약 첨가 후 세포 배양물의 1차 파괴를 수행해야 한다(응집체는 G-Rex 막에서 볼 수 있는 3 내지 4 X 3 내지 4의 사각형 격자로 측정될 것이다).

[0427] 세포 응집체가 요구되는 크기에 도달하면, 이들을 10 mL 혈청용 피펫을 사용하여 물리적으로 파괴할 수 있다.

이 시점은 공여 및 전위 효율에 따라 제11일 내지 제14일 사이에 일어날 수 있다. 어떤 경우에는, 이 시점은 예를 들어, 뉴클레오펙션에 수동 카세트, 큰 부피 및/또는 많은 세포 수를 사용하는 경우에, 제11일보다 제14일 가까이에 일어날 수 있다. 이 시점에서 세포 계수, 생존능 및 유동 분석을 위해 세포 샘플을 수집해야 한다. 이상적으로 이 시점에서 배양 배지의 부피는 사용된 초기 부피(G-Rex100의 경우 200mL)에서 두 배를 넘지 않을 것이다. 세포를 다시 건드릴 필요가 없도록 한 번에 필요한 모든 세포를 수집할 것을 권장한다.

[0428] 세포가 파괴되면, 세포를 시작한 동일한 부피의 배지에서 12시간 동안 건드리지 않고 두어야 한다. 세포는 이 시점에서 재응집해야 한다; 그러나 응집체는 더 작아지고 수가 더 많아질 것이다. 이 응집체는 G-Rex 막 격자에서 1 내지 2 X 1 내지 2개의 정사각형으로 측정되어야 한다.

[0429] 세포의 1차 파괴 후 3일(배양에 따라 제14일 내지 제17일)에, 이들을 두 번째로 피펫팅할 수 있다. 세포 수, 생존능 및 유세포 분석을 위해 샘플을 다시 취해야 한다. 다시 한번, 샘플링 후 적어도 12시간 동안 세포를 건드리지 않고 두어야 한다. 세포가 다시 건드릴 필요가 없도록 한 번에 필요한 모든 세포를 수집할 것을 권장한다.

[0430] 이 2차 파괴 후에, 세포는 아마도 덩어리를 전혀 형성하지 않을 것이며, 세포 성장 속도는 상당히 느려질 것이다.

[0431] 배양 제17일 내지 제20일에 세포의 2차 파괴 후 3일에 세포를 수거해야 한다.

[0432] 유세포 분석

[0433] 제5일, D-데이, D-데이 + 3일 및 D-데이 + 6일에 유동 분석을 실행해야 한다.

[0434] 제5일, D-데이, D-데이 + 3일에, CD45, CD4, CD8, 및 CARTyrin 유동 패널을 사용한다.

[0435] D-데이 + 6일에, 3가지 표적 패널이 있었다:

[0436] a. 패널 1: CD3, CD8, CD4, CARTyrin, CD45RA, CD45RO, CD62L

[0437] b. 패널 2: CD3, CD8, CD4, CARTyrin, CD25, CXCR4, PD-1

[0438] c. 패널 3: CD45, CD14, CD20, CD56, CD8, CD4, CD3

[0439] **실시예 2: CARTyrin+ 줄기 기억 T 세포의 기능적 특성화**

[0440] 부적절한 유전자 활성화 또는 사일런싱을 차단하여 CARTyrin 발현을 안정화하는 것을 돕기 위해 2개의 시스 조절 격리 인자가 측면에 위치한 CARTyrin을 코딩하는 플라스미드 DNA 트랜스포존을 사용하여 본 발명의 CARTyrin을 T 세포에 도입할 수 있다.

[0441] 본 발명의 방법의 특정 실시양태에서, 항원 특이적(암 항원 특이적 포함) 카르티닌을 휴지의 pan T 세포에 안정하게 통합시키는데 피기백™(PB) 트랜스포존 시스템을 사용할 수 있으며, 이에 의해 단일 전기 천공 반응에서 슈퍼 피기백™(SPB)이라고 불리는 mRNA 트랜스포사제 효소와 함께 트랜스포존을 동시 전달하였다. 피기백™ 트랜스포존을 접촉되지 않은 안정된 1차 인간 pan T 세포에 전달하여 20 내지 30%의 세포에 PB-전달된 유전자가 안정적으로 통합되고 발현되었다. 예상 외로, 이들 변형된 CARTyrin 발현 T 세포의 대부분은 줄기 기억 T 세포(T_{SCM} 세포)와 일반적으로 연관된 마커인 CD62L과 CD45RA의 발현이 양성이었다. 이 표현형이 CAR-T 세포 자극 및 증식시 유지되었다는 것을 확인하기 위해, CD62L 및 CD45RA의 발현에 양성인 변형된 CARTyrin 발현 T 세포를 CD3 및 CD28의 자극을 통해 활성화하였다. CD3 및 CD28를 자극한 결과로서, CARTyrin+ T 세포의 > 60%이 줄기 세포 기억 표현형을 나타냈다. 또한, 암 항원에 특이적인 CARTyrin을 발현한 이들 세포는 강력한 항종양 이펙터 기능을 충분히 발현할 수 있었다.

[0442] PB 시스템이 줄기 유사 마커의 발현을 향상시키는데 직접적으로 기여하는지를 결정하기 위해, PB 전위 또는 렌티바이러스(LV) 형질도입에 의해 생성된 CAR-T 세포의 표현형을 비교하였다. 이를 수행하기 위해, CARTyrin 전이유전자를 바이러스 생산을 위한 일반적인 LV 구조물에 서브클로닝하여 새로운 벡터를 제작하였다. PB 전위 또는 LV 형질도입에 의해 접촉되지 않은 휴지 T 세포에 CARTyrin을 도입한 후, CARTyrin+ 세포를 증식시킨 후 휴지 상태로 복귀되도록 하였다. 기억 및 고갈 관련 마커의 동역학 분석, 항상성 사이토카인 또는 종양 관련 Ag에 반응한 이차 증식, 사이토카인 생산, 및 표적 종양 세포에 반응한 용해능을 포함하는 다양한 표현형 및 기능적 특성을 측정하였다. PB 전위된 CARTyrin+ T 세포와 달리, LV 형질도입된 CARTyrin+ T 세포는 증가된 기억 표현형을 나타내지 않았다. 또한, PB 전위된 세포는 2차 증식 및 표적 종양 세포의 살해에 대해 동등 이상의 능력을 나타냈다. 종합적으로, 이러한 데이터는 PB 전위에 의해 생산된 CAR-T 세포가 대부분, CAR-T 분야에서 매우 바

람직한 산물 표현형인 T_{SCM} 세포임을 입증한다. 또한, 이러한 CARTyrin+ T 세포는 강력한 항종양 활성을 나타내며 토닉 신호전달 및 기능적 고갈의 경향이 적을 수 있는 Centyrin 기반 CAR의 사용으로 인해 생체 내에서 더 오래 지속하는 세포를 생성할 수 있다.

[0443] **실시예 3: 슬리핑 뷰티 전위는 대부분 T_{SCM} 표현형을 생성한다**

[0444] 슬리핑 뷰티(SB100x) 전위는 본 발명의 방법을 사용하여 대부분 T_{SCM} 표현형을 생성하였다. 인간 pan T 세포를 [도 10]에 나타낸 바와 같이 *슬리핑 뷰티* 또는 피기백 트랜스포존 플라스미드 및 *SB100x* 또는 SPB mRNA 각각 1 μg을 사용하여 전위시켰다. 전위 후, 세포를 생체 외에서 증식시키고 비전위된 모든 세포를 약물 선별 시스템을 사용하여 제거하였다. 배양 18일 후, 세포를 표현형 마커 CD4, CD8, CD45RA 및 CD62L로 염색하였다. 줄기세포 기억 표현형(Tscm)은 CD45RA 및 CD62L 이중 양성 세포에 의해 정의되며 모든 샘플에서 세포의 > 65%를 차지한다.

[0445] **실시예 4: 변형된 T 세포에서 인자 IX의 발현**

[0446] 인자 IX의 유전적 결핍(도 11)은 혈우병 B라고 불리는 생명을 위협하는 질환을 유발한다. 혈우병 B는 희귀 질환으로 2만 5천 명당 1명 내지 3만 명당 1명이 앓고 있다. 현재의 혈우병 B 치료는 연간 약 $ 250,000의 비용으로 2 내지 3일마다 재조합 인자 IX 단백질의 주입을 수반한다.

[0447] 줄기세포 T 세포(T_{SCM} 세포)는 수십 년 동안 인간에서 유지되고 있으며, 따라서 빈번한 수혈의 필요 없이도 혈우병 B 환자에서 결핍된 인자 IX를 공급하여 인자 IX를 분비하는 이상적인 매개체이다. T 세포를 인자 IX를 분비하는 피기백으로 형질전환시켰다. 인간 인자 IX 전이유전자를 코딩하는 형질전환 T 세포를 FACS를 사용하여 T 및 T_{SCM} 세포 마커에 대해 조사하였을 때, 전체 세포의 약 80%가 T_{SCM} 표현형을 나타냈다(도 12). 이들 변형된 T 세포는 인간 인자 IX를 분비할 수 있었고(도 13A), 이 분비된 인자 IX는 응고 활성을 제공하였다(도 13B).

[0448] **참고에 의한 포함**

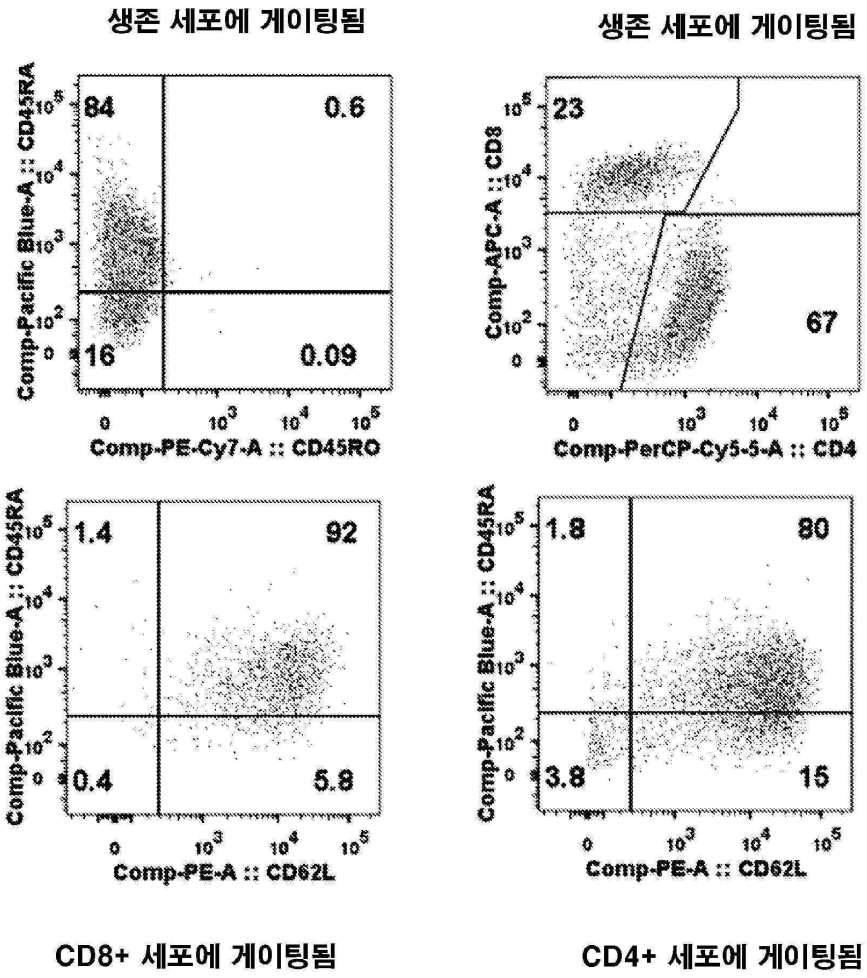
[0449] 임의의 상호 참조된 또는 관련된 특허 또는 출원을 포함하여 본원에 인용된 모든 문헌은 명백히 배제되거나 달리 제한되지 않는 한 이로써 그 전문으로 본원에 참고로 포함된다. 어떤 문헌의 인용도 이것이 본원에 개시 또는 청구된 어떤 발명에 관한 선행 기술임을 인정하거나 이것이 단독으로 또는 임의의 다른 참고 문헌 또는 문헌들과의 임의의 조합으로 상기 어떤 발명을 교시, 제안 또는 공개하는 것임을 인정하는 것은 아니다. 또한, 이 문서에서 용어의 어떤 의미 또는 정의가 참조로 포함된 문서에서 동일한 용어의 어떤 의미 또는 정의와 상충하는 정도까지 이 문서의 해당 용어에 지정된 의미 또는 정의가 적용될 것이다.

[0450] **다른 실시양태**

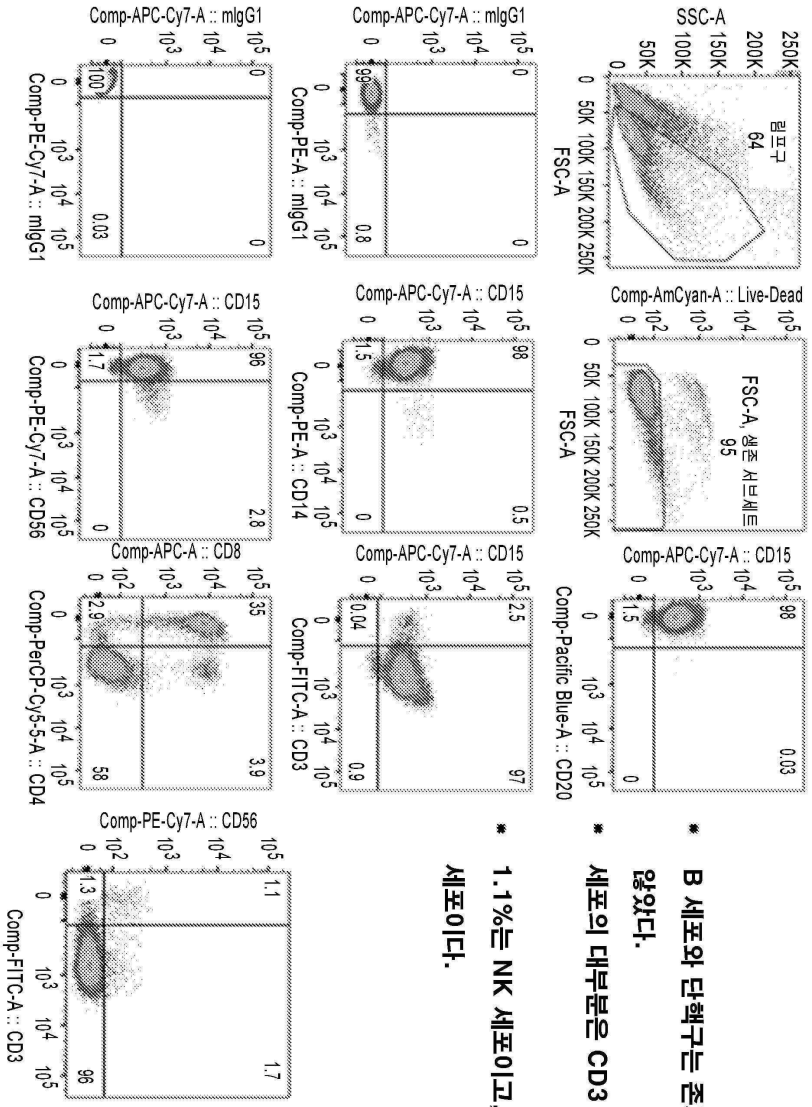
[0451] 본 발명의 특정 실시양태가 예시되고 기술되었지만, 본 발명의 취지 및 범위를 벗어나지 않고서 다양한 다른 변경 및 변형이 이루어질 수 있다. 첨부된 청구항의 범위는 본 발명의 범위 내에 있는 이러한 모든 변경 및 변형을 포함한다.

도면

도면1


생존 세포에 게이팅됨
생존 세포에 게이팅됨
Comp-Pacific Blue-A :: CD45RA
Comp-PE-Cy7-A :: CD45RO
84
0.6
16
0.09
Comp-APC-A :: CD8
Comp-PerCP-Cy5-5-A :: CD4
23
67
Comp-Pacific Blue-A :: CD45RA
Comp-PE-A :: CD62L
1.4
92
0.4
5.8
Comp-Pacific Blue-A :: CD45RA
Comp-PE-A :: CD62L
1.8
80
3.8
15
CD8+ 세포에 게이팅됨
CD4+ 세포에 게이팅됨

도면2

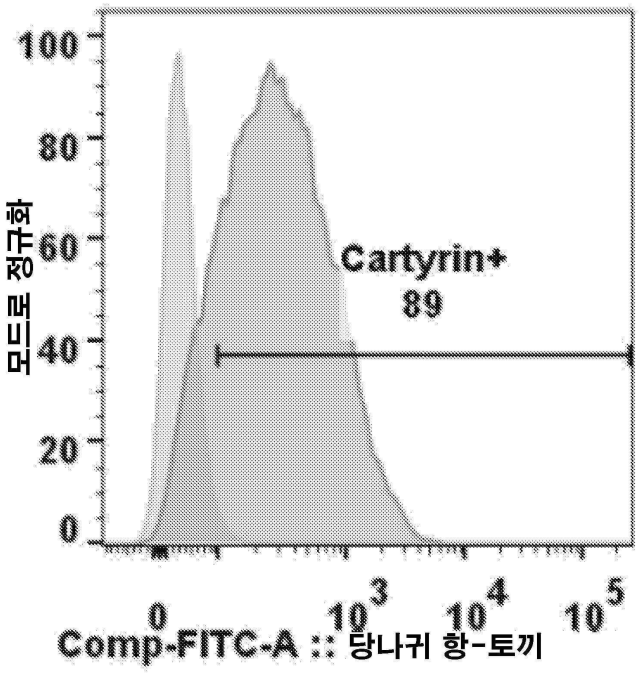


* B 세포와 단핵구는 존재하지 않았다.

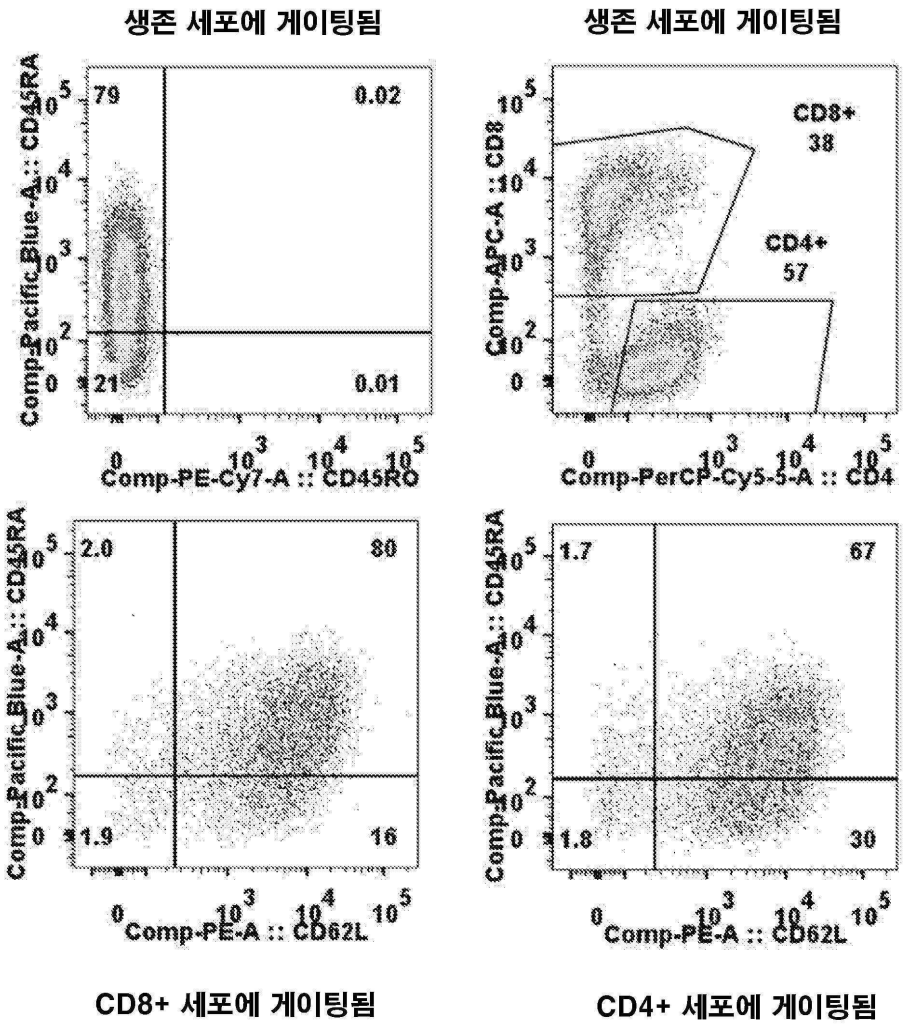
* 세포의 대부분은 CD3 T 세포이다.

* 1.1%는 NK 세포이고, 1.7%는 NKT 세포이다.

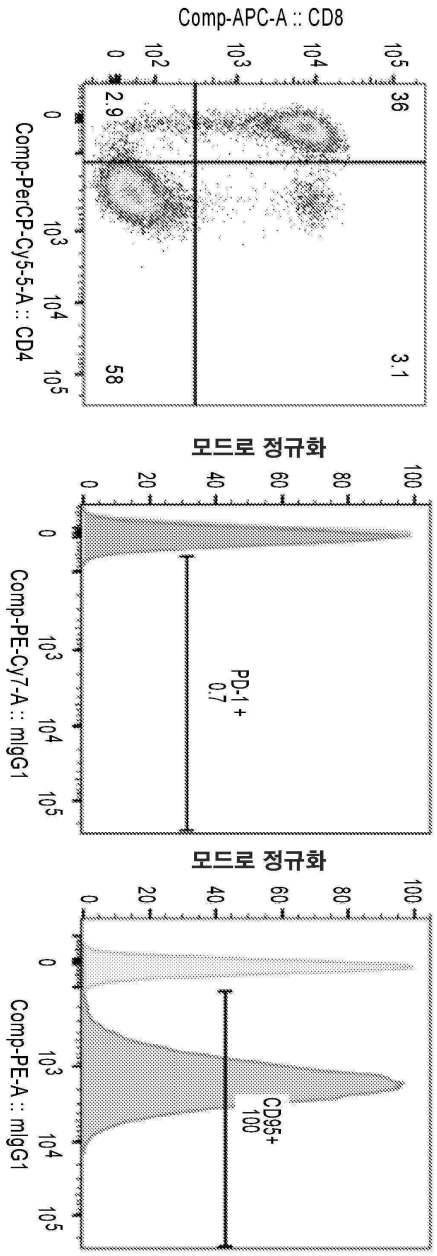
도면3


100
80
60
40
20
0
모드로 정규화
Cartyrin+
89
0
10^3
10^4
10^5
Comp-FITC-A :: 당나귀 항-토끼

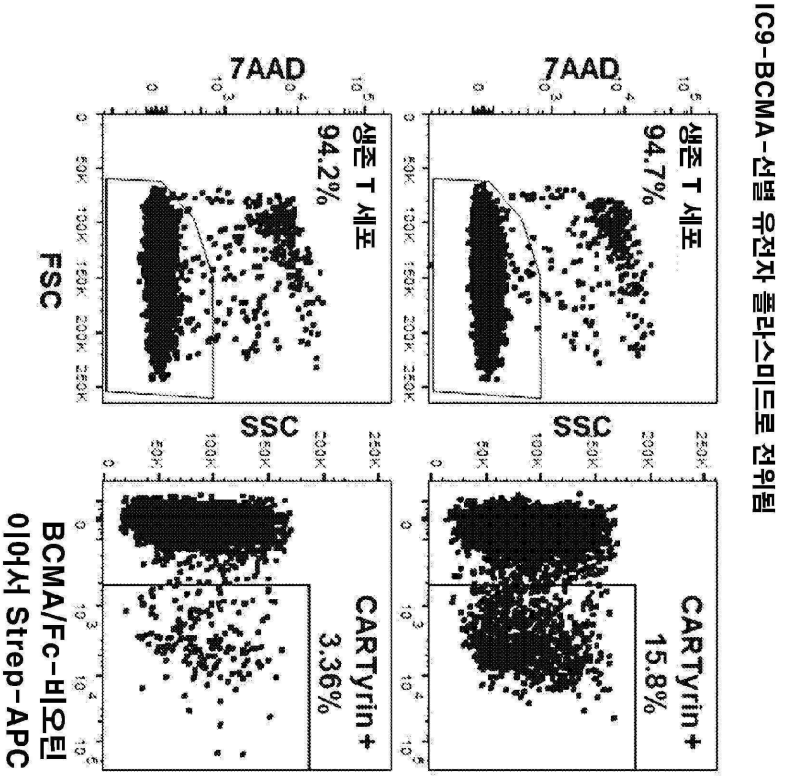
도면4


생존 세포에 게이팅됨
생존 세포에 게이팅됨
Comp-Pacific Blue-A :: CD45RA
Comp-PE-Cy7-A :: CD45RO
Comp-APC-A :: CD8
Comp-PerCP-Cy5-5-A :: CD4
79
0.02
21
0.01
CD8+
38
CD4+
57
2.0
80
1.9
16
1.7
67
1.8
30
Comp-PE-A :: CD62L
CD8+ 세포에 게이팅됨
CD4+ 세포에 게이팅됨

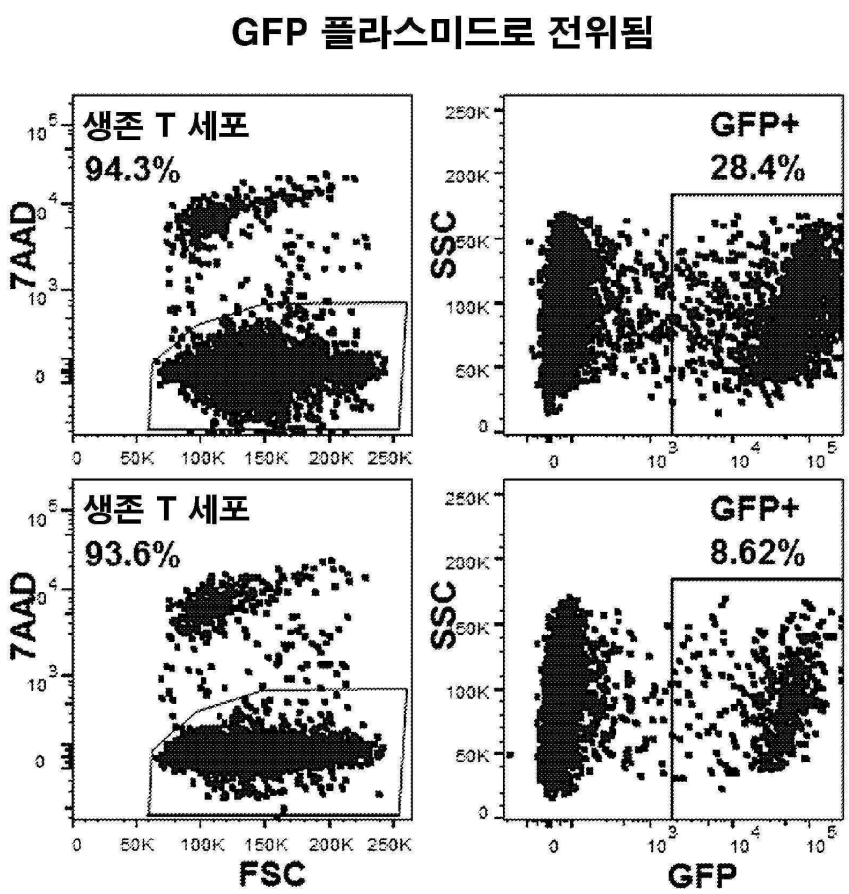
도면5


Comp-APC-A :: CD8
Comp-PerCP-Cy5-5-A :: CD4
2.9
36
58
3.1
모드로 정규화
Comp-PE-Cy7-A :: mIgG1
PD-1 +
0.7
모드로 정규화
Comp-PE-A :: mIgG1
CD95+
100

도면6a


IC9-BCMA-선별 유전자 플라스미드로 전위됨
슈퍼 피기백
야생형 피기백
7AAD
SSC
FSC
생존 T 세포
94.7%
CARTyrin+
15.8%
생존 T 세포
94.2%
CARTyrin+
3.36%
BCMA/Fc-비오틴
이어서 Strep-APC

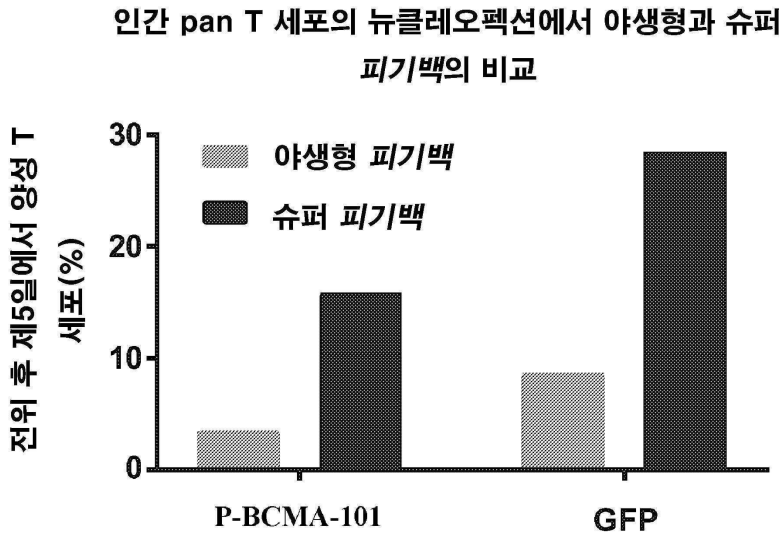
도면6b



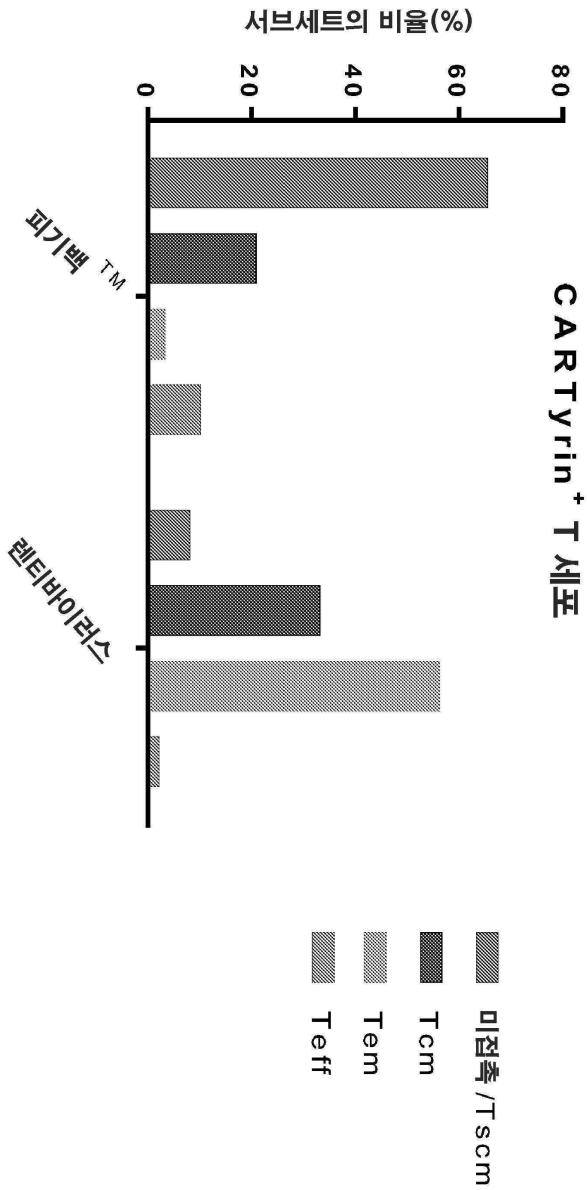
도면6c

	CARTyrin+	GFP+
야생형 피기백	3.4%	8.6%
슈퍼 피기백	15.8%	28.4%
증가 배율	4.7	3.3

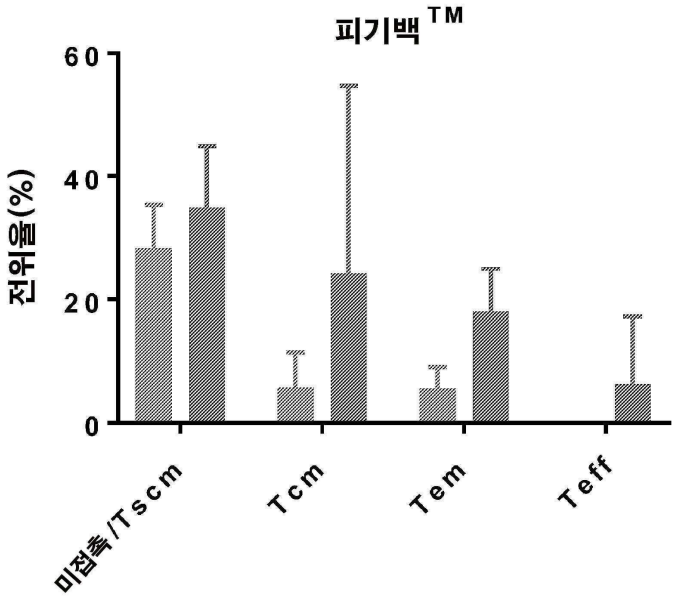
도면6d


인간 pan T 세포의 뉴클레오펙션에서 야생형과 슈퍼 피기백의 비교
전위 후 제5일에서 양성 T 세포(%)
30
20
10
0
야생형 피기백
슈퍼 피기백
P-BCMA-101
GFP

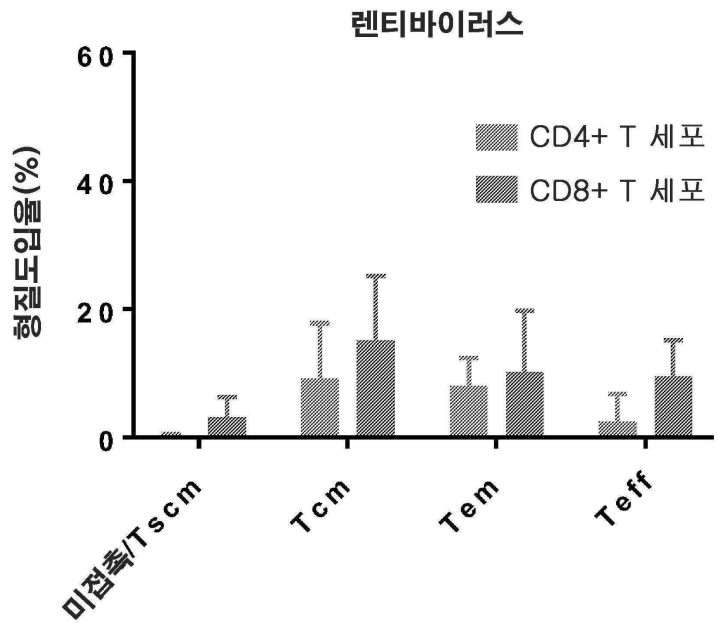
도면7


서브세트의 비율(%)
0
20
40
60
80
피기백 TM
렌티바이러스
CARTyrin+ T 세포
미접촉/Tscm
Tcm
Tem
Teff

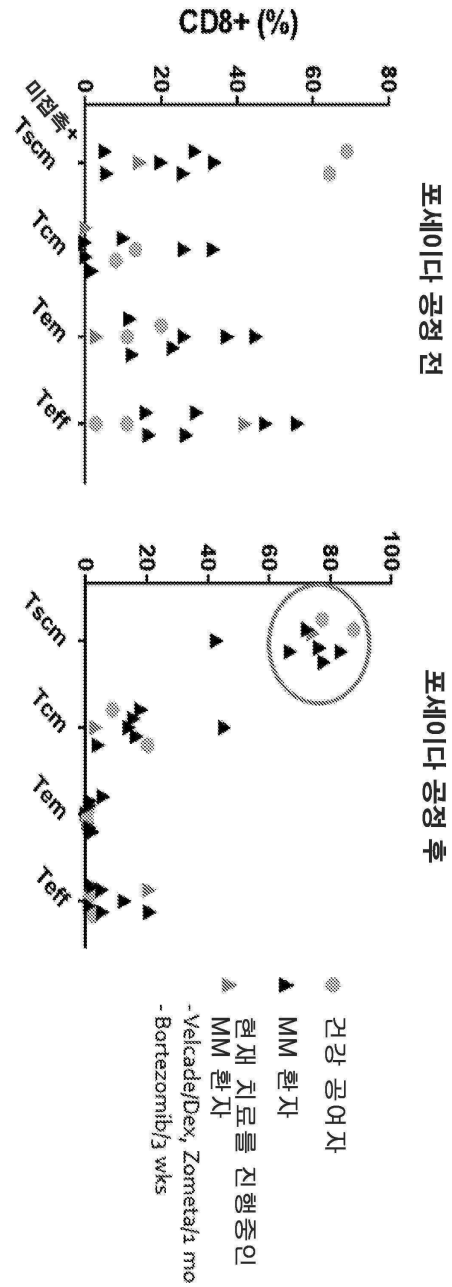
도면8a


피기백™
전위율(%)
60
40
20
0
미접촉/Tscm
Tcm
Tem
Teff

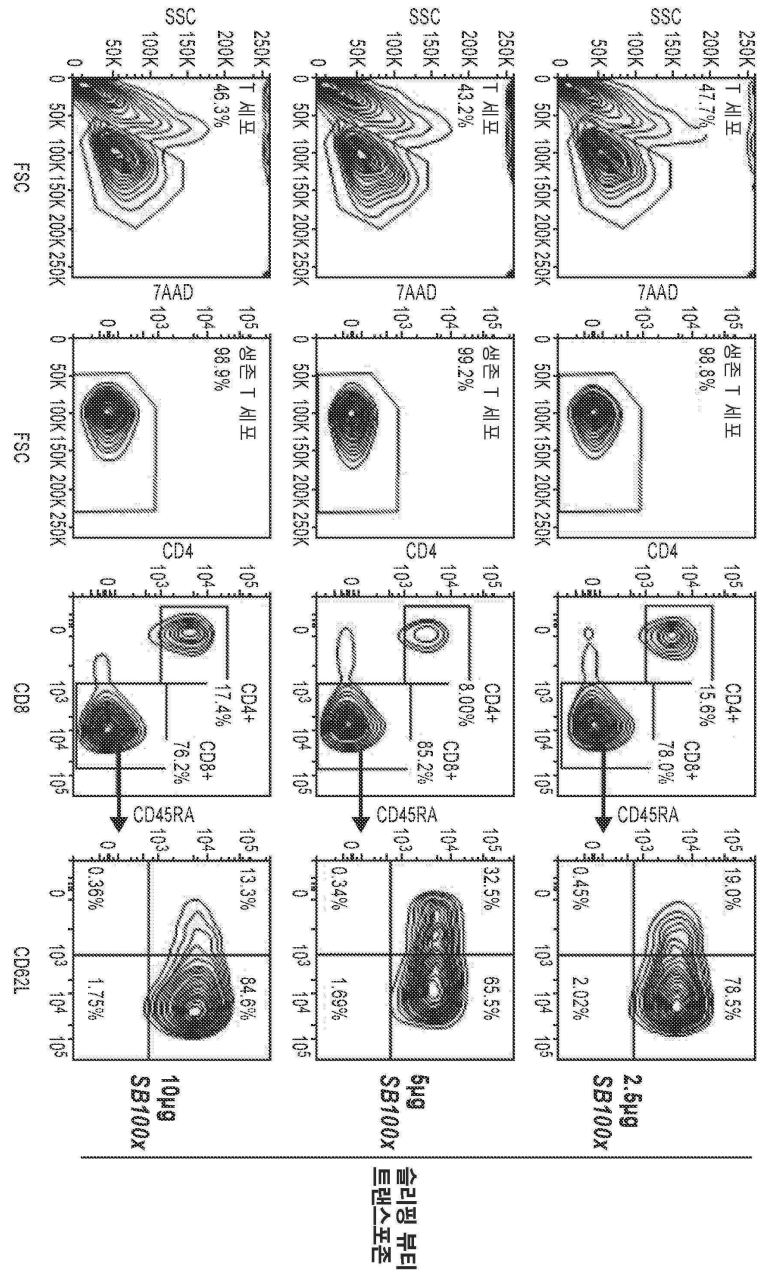
도면8b


렌티바이러스
형질도입율(%)
60
40
20
0
CD4+ T 세포
CD8+ T 세포
미접촉/Tscm
Tcm
Tem
Teff

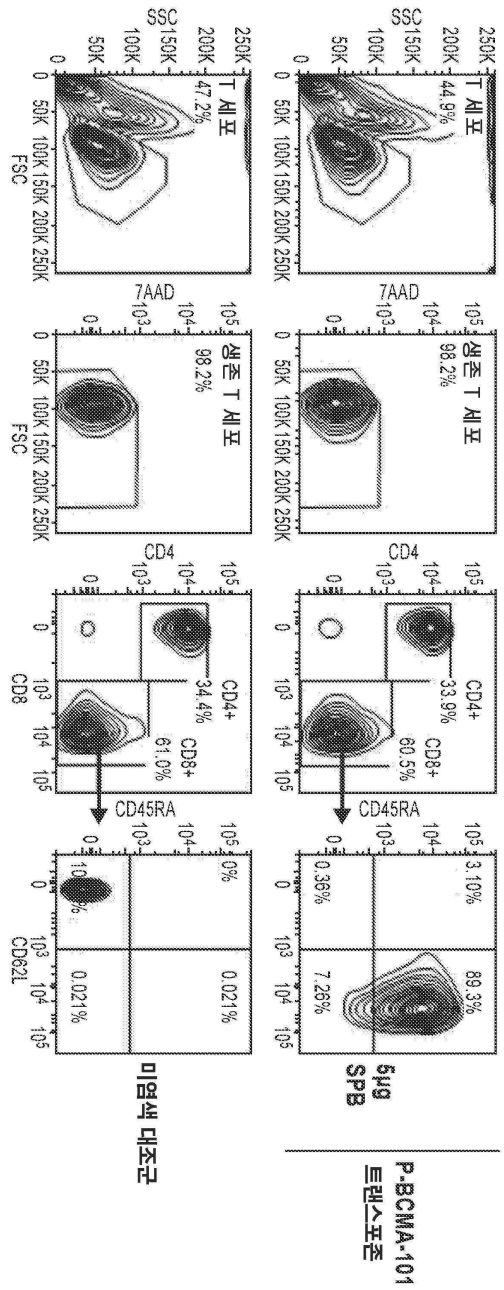
도면9


CD8+ (%)
0
20
40
60
80
100
미접촉+
Tscm
Tcm
Tem
Teff
포세이다 공정 전
포세이다 공정 후
건강 공여자
MM 환자
현재 치료를 진행중인 MM 환자
-Velcade/Dex, Zometa/1 mo
-Bortezomib/3 wks

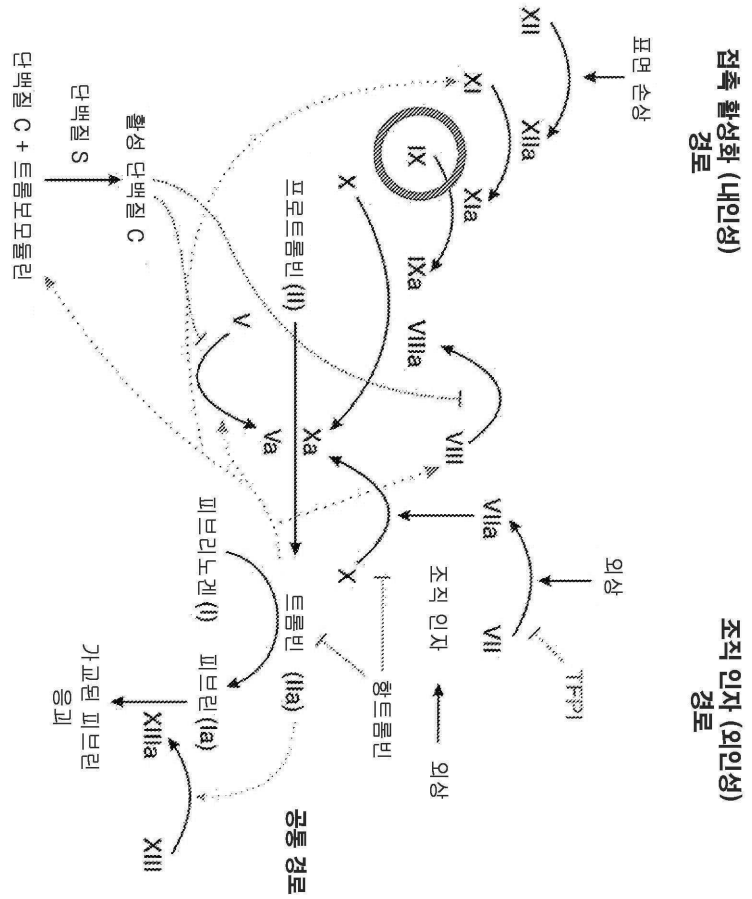
도면10a


슬리핑 뷰티 트랜스포존
2.5μg SB100x
5μg SB100x
10μg SB100x
SSC
FSC
T 세포
47.7%
43.2%
46.3%
7AAD
생존 T 세포
98.8%
99.2%
98.9%
CD4
CD8
CD4+
15.6%
8.00%
17.4%
CD8+
78.0%
85.2%
76.2%
CD45RA
CD62L
0.45%
19.0%
78.5%
2.02%
0.34%
32.5%
65.5%
1.69%
0.36%
13.3%
84.6%
1.75%

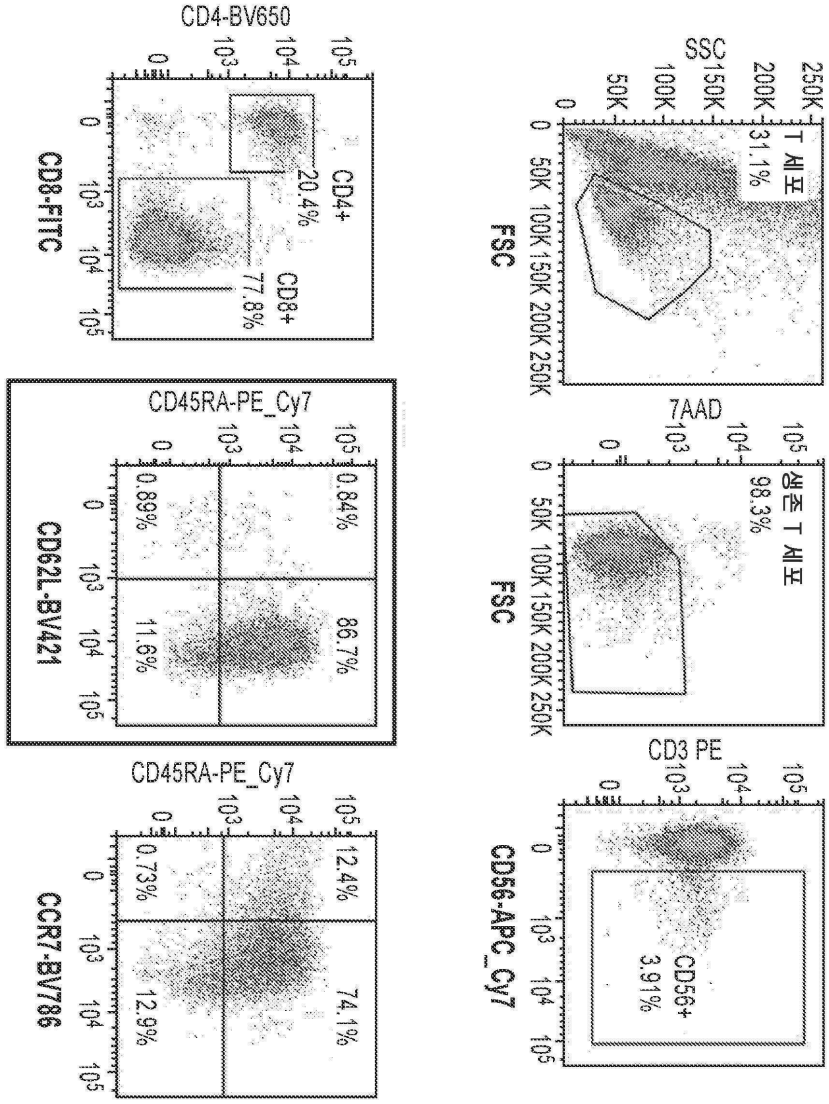
도면10b


P-BCMA-101
트랜스포존
5μg
SPB
미형성 대조군
T 세포
44.9%
47.2%
살아 있는 T 세포
98.2%
98.2%
CD4+
33.9%
34.4%
CD8+
60.5%
61.0%
CD45RA
3.10%
0%
89.3%
0.021%
7.26%
0.021%
SSC
FSC
7AAD
CD4
CD8
CD62L

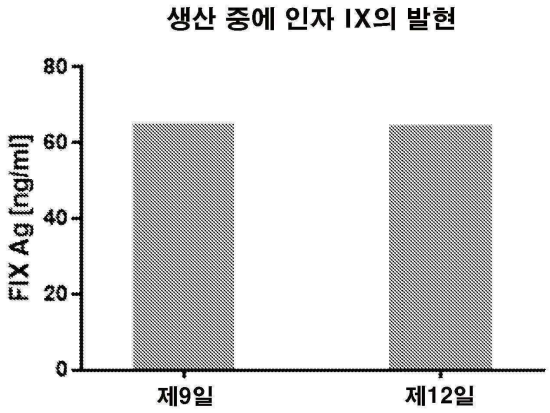
도면11


접촉 활성화 (내인성) 경로
조직 인자 (외인성) 경로
공통 경로
칼륨모포플라크 + C 단백질 S
S 결합 단백질 C
활성 단백질 C
프로트롬빈 (II)
트롬빈 (IIa)
피브리노겐 (I)
피브린 (Ia)
가교된 피브린
XIII
XIIIa
V
Va
X
Xa
VIII
VIIIa
IX
IXa
XI
XIa
XII
XIIa
표면 수산
VII
VIIa
외상
조직 인자
TF
황크롬머

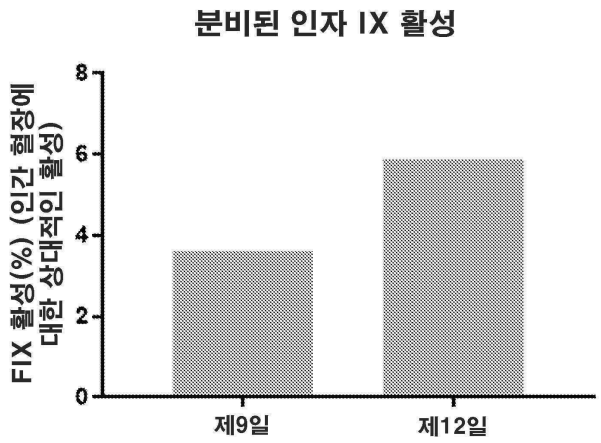
도면12


CD4-BV650
CD8-FITC
CD4+
20.4%
CD8+
77.8%
CD45RA-PE_Cy7
CD62L-BV421
0.89%
0.84%
11.6%
86.7%
CD45RA-PE_Cy7
CCR7-BV786
0.73%
12.4%
12.9%
74.1%
FSC
SSC
T 세포
31.1%
7AAD
생존 T 세포
98.3%
CD3 PE
CD56-APC_Cy7
CD56+
3.91%

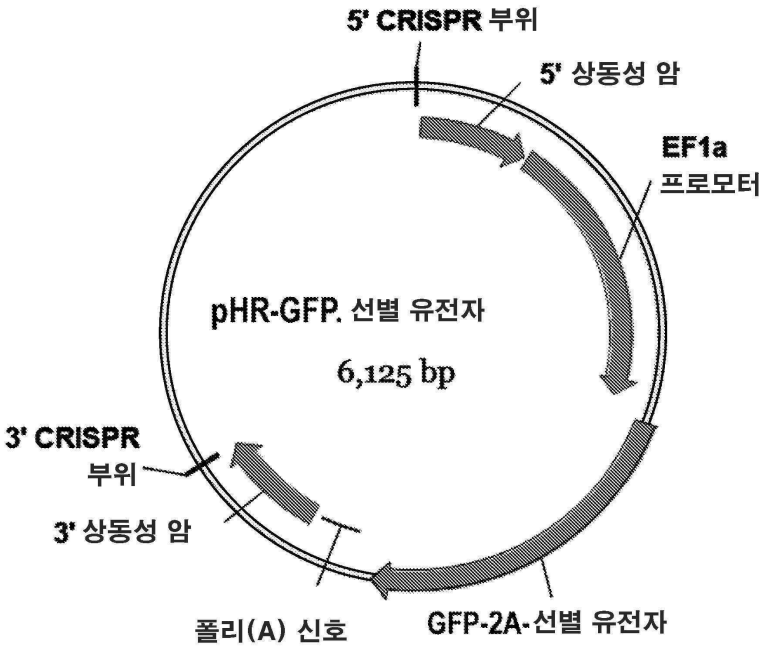
도면13a


생산 중에 인자 IX의 발현
FIX Ag [ng/ml]
80
60
40
20
0
제9일
제12일

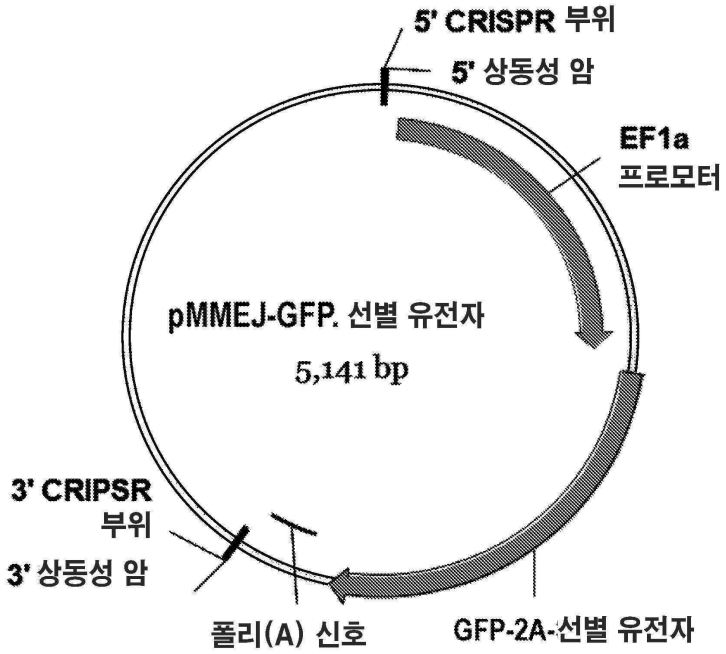
도면13b


분비된 인자 IX 활성
FIX 활성(%) (인간 혈장에 대한 상대적인 활성)
8
6
4
2
0
제9일
제12일

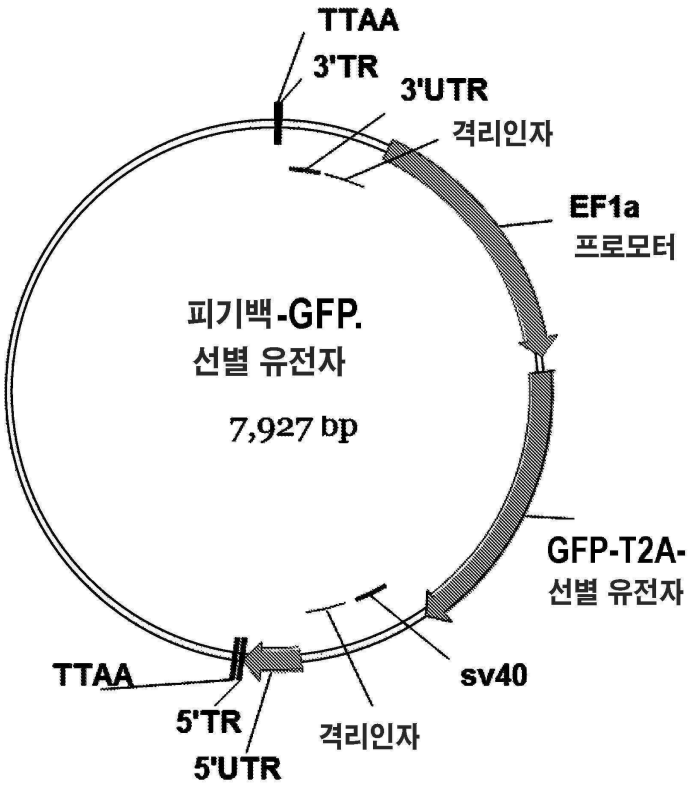
도면14a


5' CRISPR 부위
5' 상동성 암
EF1a
프로모터
pHR-GFP. 선별 유전자
6,125 bp
3' CRISPR
부위
3' 상동성 암
폴리(A) 신호
GFP-2A-선별 유전자

도면14b


5' CRISPR 부위
5' 상동성 암
EF1a
프로모터
pMMEJ-GFP. 선별 유전자
5,141 bp
3' CRIPSR
부위
3' 상동성 암
폴리(A) 신호
GFP-2A-선별 유전자

도면14c


TTAA
3'TR
3'UTR
격리인자
EF1a
프로모터
피기백-GFP.
선별 유전자
7,927 bp
GFP-T2A-
선별 유전자
sv40
TTAA
5'TR
5'UTR
격리인자

도면14d

pHR-GFP.선별 유전자: (5'과 3' CRISPR 부위 사이)

ggggccactagggacaggatcggcgtcttcactcgctgggttccctttttccttctcctttctggggcctgtgccat
ctctcgtttcttaggatggccttctccgacggatgtctcccttgcgtcccgcctcccctttcttgtaggcctgcat
catcaccgtttttctggacaaccccaaagtaccccgtctccctggctttagccacctctccatcctcttgctttc
tttgcctggacaccccgttctcctgtggattcgggtcacctctcactcctttcatttgggcagctcccctacccc
ccttacctctctagtctgtgctagctcttccagccccctgtcatggcatcttccaggggtccgagagctcagcta
gtcttcttcctccaacccgggcccctatgtccacttcaggacagcatgtttgctgcctccagggatcctgtgtcc
ccgagctgggaccaccttatatttcccagggccggttaatgtggctctggttctgggtacttttatctgtcccgac
gtccgatcgaaccatggacagttagctttgcaaagatggataaagttttaaacagagaggaatctttgcagctaa
tggaccttctaggtcttgaaaggagtgggaattggctccggtgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccaca
gtccccgagaagttgggggggagggtcggcaattgaaccggtgcctagagaaggtggcgcgggtaaactgggaa
agtgatgtcgtgtactggctccgccttttcccgagggtgggggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtg
aacgttcttttcgcaacgggtttgccgccagaacacaggtaagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctc
tttacgggttatggcccttgcgtgccttgaattacttccacctggctgcagtacgtgattcttgatcccgagctt
cgggttggaagtgggtgggagagttcgaggccttgcgcttaaggagccccttcgcctcgtgcttgagttgaggcc
tggcctgggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggcaccttcgcgcctgtctcgctgctttcgataagtct
ctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcgacgctttttttctggcaagatagtcttgtaaatgcgggccaa
gatctgcacactggtatttcggttttggggccgcgggcggcgacggggcccgtgcgtcccagcgcacatgttcg
gcgaggcggggcctgcgagcgcggccaccgagaatcggacgggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtg
cctggcctcgcgccgccgtgtatcgcccgccctgggcggcaaggctggcccggtcggcaccagttgcgtgagcg
gaaagatggccgcttcccggccctgctgcagggagctcaaaatggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgggt
gagtcacccacacaaaggaaaagggccttccgtcctcagccgtcgcttcatgtgactccacggagtaccgggcg
ccgtccaggcacctcgattagttctcgagcttttggagtacgtcgtctttaggttgggggagggggttttatgcg
atggagtttccccacactgagtgggtggagactgaagttaggccagcttggcacttgatgtaattctccttggaa
tttgccctttttgagtttggatcttggttcattctcaagcctcagacagtggttcaaagtttttttcttccattt
caggtgtcgtgagaattctaatacgactcactatagggtgtgctgtctcatcattttggcaaagattggccacca
agcttaccgccatggtgagcaagggcgaggagctgttcaccggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcg
acgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagt
tcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgct
tcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttcaagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagc
gcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgcgccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtga
accgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctggggcacaagctggagtacaactaca
acagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaaca
tcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcagaacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgc
ccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaagaccccaacgagaagcgtgatcacatggtcctgc
tggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggacgagctgtacaaggaaggaagaggcagcctgctga
catgtggcgacgtggaggagaaccctggcccaatggtgggcagcctgaattgtatcgtggccgtgtcccagaaca
tgggcatcggcaagaatggcgattttccttggccccctctgagaaatgagtccagatactttcagaggatgacca
caaccagctccgtggagggcaagcagaacctggtcatcatgggcaagaagacatggttctctatcccagagaaga
accgcccccctgaagggccggatcaatctggtgctgagcagggagctgaaggagccaccccagggagcacactttc
tgtccaggtctctggacgatgccctgaagctgaccgagcagcctgagctggccaacaaggtggacatggtgtgga
tcgtgggcggctctagcgtgtataaggaggccatgaatcaccctggccacctgaagctgttcgtgacacggatca
tgcaggactttgagtccgataccttctttccagagatcgacctggagaagtacaagctgctgcccgagtatcctg
gcgtgctgtctgatgtgcaggaggagaagggcatcaagtacaagttcgaggtgtatgagaagaacgattgataac
atatgcctttaattaaacactagttctatagtgtcacctaaattccctttagtgagggttaatggccgtaggccg
ccagaattgggtccagacatgataagatacattgatgagtttggacaaaccacaactagaatgcagtgaaaaaaa
tgctttatttgtgaaatttgtgatgctattgctttatttgtaaccattataagctgcaataaacaagttaacaac
aacaattgcattcattttatgtttcaggttcaggggaggtgtgggaggttttttcggactctaggacctgcgca
tgcgcttggggtacctaggatatcgacagaaaagccccatccttaggcctcctccttcctagtctcctgatattg
ggtctaacccccacctcctgttaggcagattccttatctggtgacacacccccatttcctggagccatctctctc
cttgccagaacctctaaggtttgcttacgatggagccagagaggatcctgggagggagagcttggcaggggggtgg
gagggaaggggggggatgcgtgacctgcccggttctcagtggccaccctgcgctaccctctcccagaacctgagct
gctctgacgcggccgtctggtgcgtttcactgatcctggtgctgcagcttccttacacttcccaagaggagaagc
agtttggaaaaacaaaatcagaataagttggtcctgagttctaactttggctcttcacctttctagtccccaatt
tatattgttcctccgtgcgtcagttttacctgtgagataaggccagtagccagccccgtcctggcagggctgtgc
ctctagggacaggattggtgacg

(서열 번호 41)

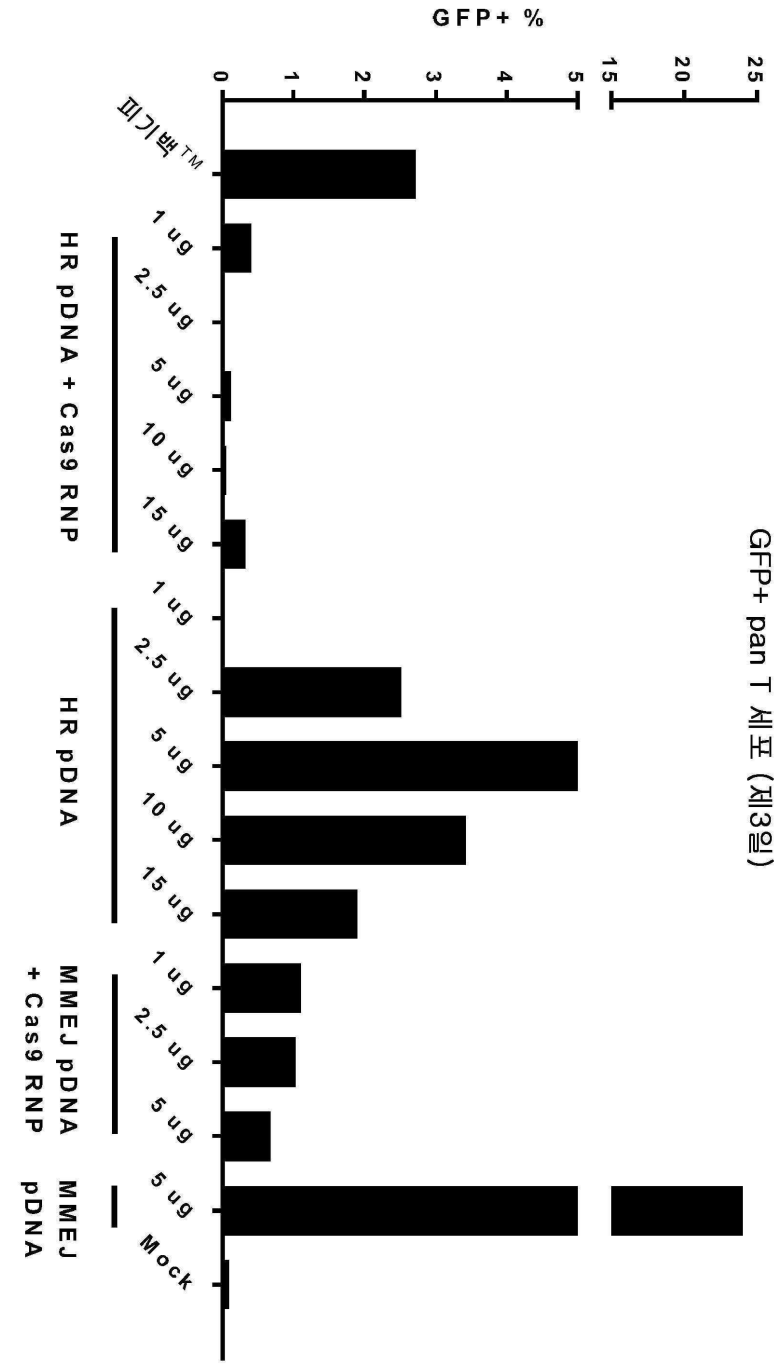
도면14e

pMMEJ-GFP.선별 유전자: (5'과 3' CRISPR 부위 사이)

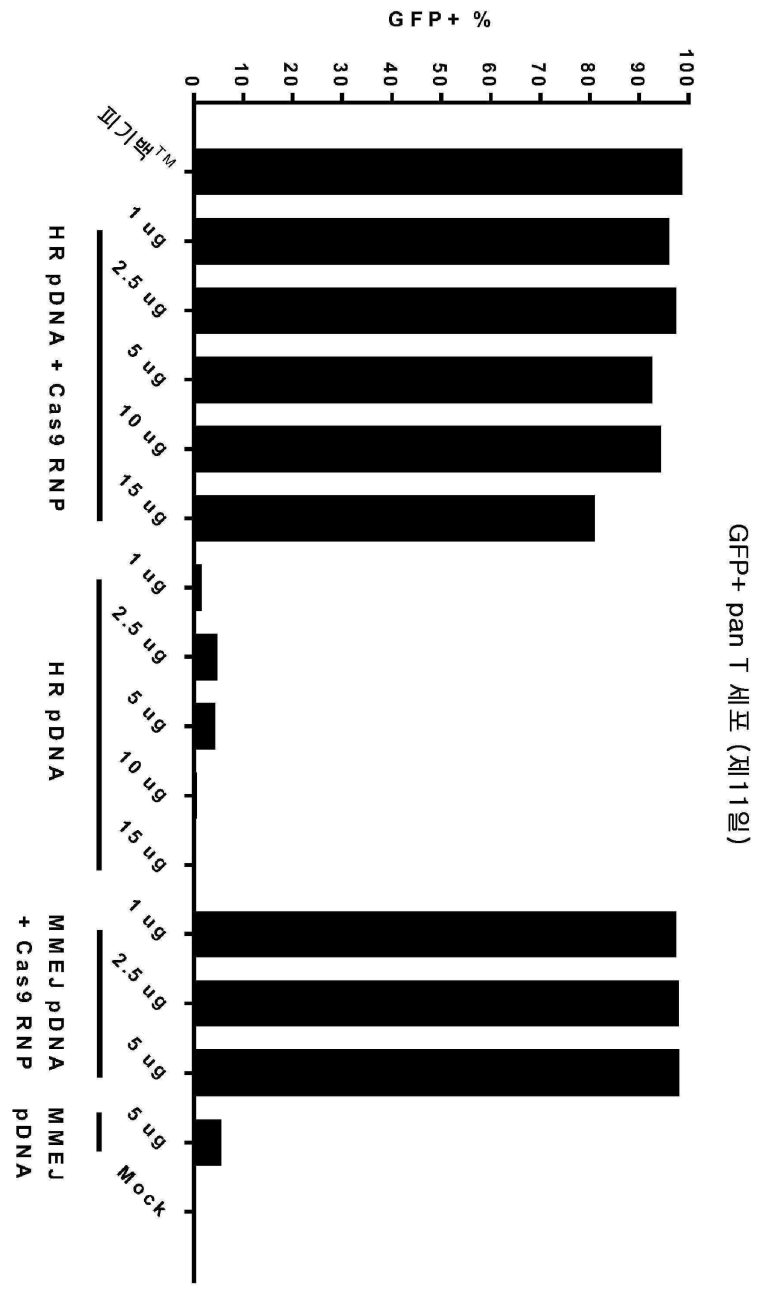
ccaatcctgtccctagtggccccactgtggggacgtccgatcgaaccatggacagttagctttgcaaagatggat
aaagttttaaacagagaggaatctttgcagctaatggaccttctaggtcttgaaaggagtgggaattggctccgg
tgcccgtcagtgggcagagcgcacatcgcccacagtccccgagaagttgggggggagggtcggcaattgaaccgg
tgcctagagaaggtggcgcggggtaaactgggaaagtgatgtcgtgtactggctccgccttttcccgagggtgg
gggagaaccgtatataagtgcagtagtcgccgtgaacgttcttttcgcaacgggtttgccgccagaacacaggt
aagtgccgtgtgtggttcccgcgggcctggcctctttacgggttatggcccttgcgtgccttgaattacttccac
ctggctgcagtacgtgattcttgatcccgagcttcgggttggaagtgggtgggagagttcgaggccttgcgctta
aggagccccttcgcctcgtgcttgagttgaggcctggcctgggcgctggggccgccgcgtgcgaatctggtggca
ccttcgcgcctgtctcgctgctttcgataagtctctagccatttaaaatttttgatgacctgctgcgacgctttt
tttctggcaagatagtcttgtaaatgcgggccaagatctgcacactggtatttcggttttggggccgcgggcgg
cgacggggcccgtgcgtcccagcgcacatgttcggcgaggcggggcctgcgagcgcggccaccgagaatcggacg
ggggtagtctcaagctggccggcctgctctggtgcctggcctcgcgccgccgtgtatcgccccgccctgggcggc
aaggctggcccggtcggcaccagttgcgtgagcggaaagatggccgcttcccggccctgctgcagggagctcaaa
atggaggacgcggcgctcgggagagcgggcgggtgagtcacccacacaaaggaaaagggcctttccgtcctcagc
cgtcgcttcatgtgactccacggagtaccgggcgccgtccaggcacctcgattagttctcgagcttttggagtac
gtcgtctttaggttgggggggagggggttttatgcgatggagtttccccacactgagtgggtggagactgaagttag
gccagcttggcacttgatgtaattctccttggaatttgccctttttgagtttggatcttggttcattctcaagcc
tcagacagtggttcaaagttttttttcttccatttcaggtgtcgtgagaattctaatacgactcactatagggtgt
gctgtctcatcattttggcaaagattggccaccaagcttaccgccatggtgagcaagggcgaggagctgttcacc
ggggtggtgcccatcctggtcgagctggacggcgacgtaaacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgag
ggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaagttcatctgcaccaccggcaagctgcccgtgccctggcccacc
ctcgtgaccaccctgacctacggcgtgcagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcacgacttcttc
aagtccgccatgcccgaaggctacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagacccgc
gccgaggtgaagttcgagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggc
aacatcctggggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaac
ggcatcaaggtgaacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccagcag
aacaccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcacccagtccgccctgagcaaa
gaccccaacgagaagcgtgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgccgccgggatcactctcggcatggac
gagctgtacaaggaaggaagaggcagcctgctgacatgtggcgacgtggaggagaaccctggcccaatggtgggc
agcctgaattgtatcgtggccgtgtcccagaacatgggcatcggcaagaatggcgattttccttggccccctctg
agaaatgagtccagatactttcagaggatgaccacaaccagctccgtggagggcaagcagaacctggtcatcatg
ggcaagaagacatggttctctatcccagagaagaaccgccccctgaagggccggatcaatctggtgctgagcagg
gagctgaaggagccaccccagggagcacactttctgtccaggtctctggacgatgccctgaagctgaccgagcag
cctgagctggccaacaaggtggacatggtgtggatcgtgggcggctctagcgtgtataaggaggccatgaatcac
cctggccacctgaagctgttcgtgacacggatcatgcaggactttgagtccgataccttctttccagagatcgac
ctggagaagtacaagctgctgcccgagtatcctggcgtgctgtctgatgtgcaggaggagaagggcatcaagtac
aagttcgaggtgtatgagaagaacgattgataacatatgcctttaattaaacactagttctatagtgtcacctaa
attccctttagtgagggttaatggccgtaggccgccagaattgggtccagacatgataagatacattgatgagtt
tggacaaaccacaactagaatgcagtgaaaaaaatgctttatttgtgaaatttgtgatgctattgctttatttgt
aaccattataagctgcaataaacaagttaacaacaacaattgcattcattttatgtttcaggttcaggggggaggt
gtgggaggtttttttcggactctaggacctgcgcatgcgcttggggtacctaggatatcggatggggcttttctgt
caccaatcctgagg

(서열 번호 42)

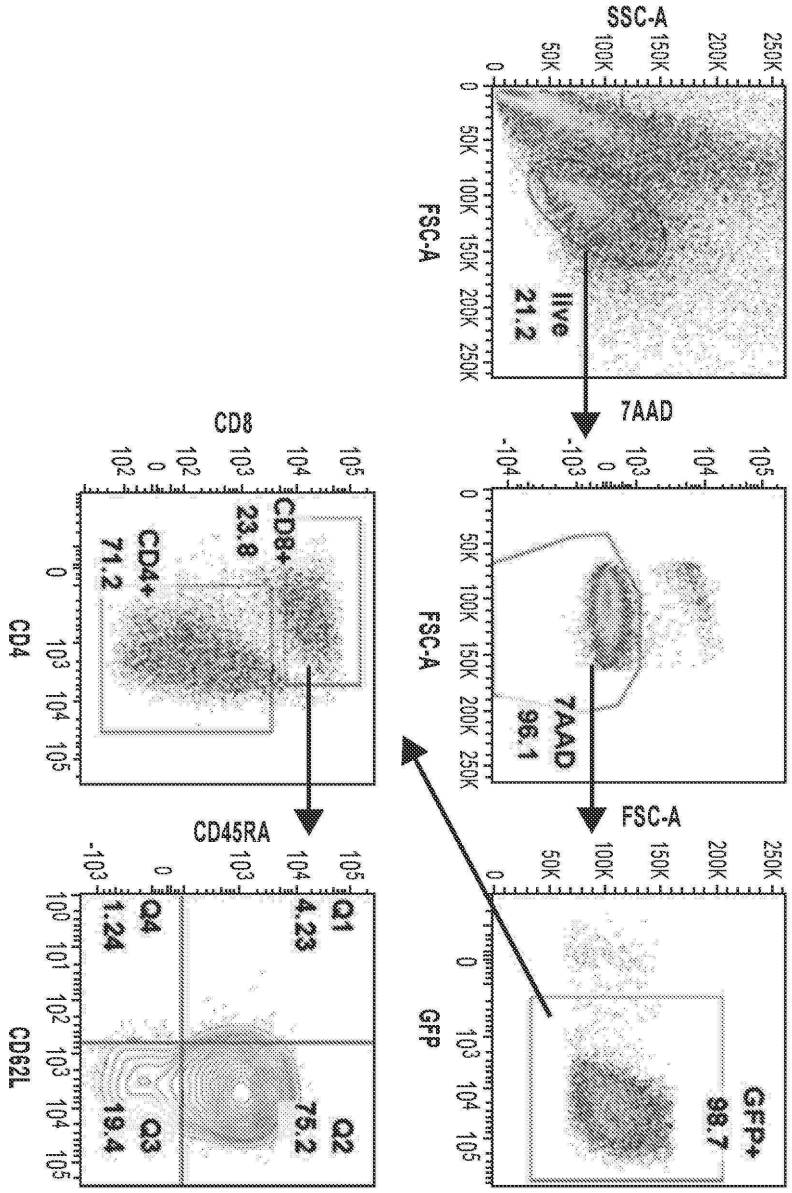
도면15


GFP+ %
0
1
2
3
4
5
15
20
25
피기백™
1 ug
2.5 ug
5 ug
10 ug
15 ug
1 ug
2.5 ug
5 ug
10 ug
15 ug
1 ug
2.5 ug
5 ug
5 ug
Mock
HR pDNA + Cas9 RNP
HR pDNA
MMEJ pDNA + Cas9 RNP
MMEJ pDNA
GFP+ pan T 세포 (제3일)

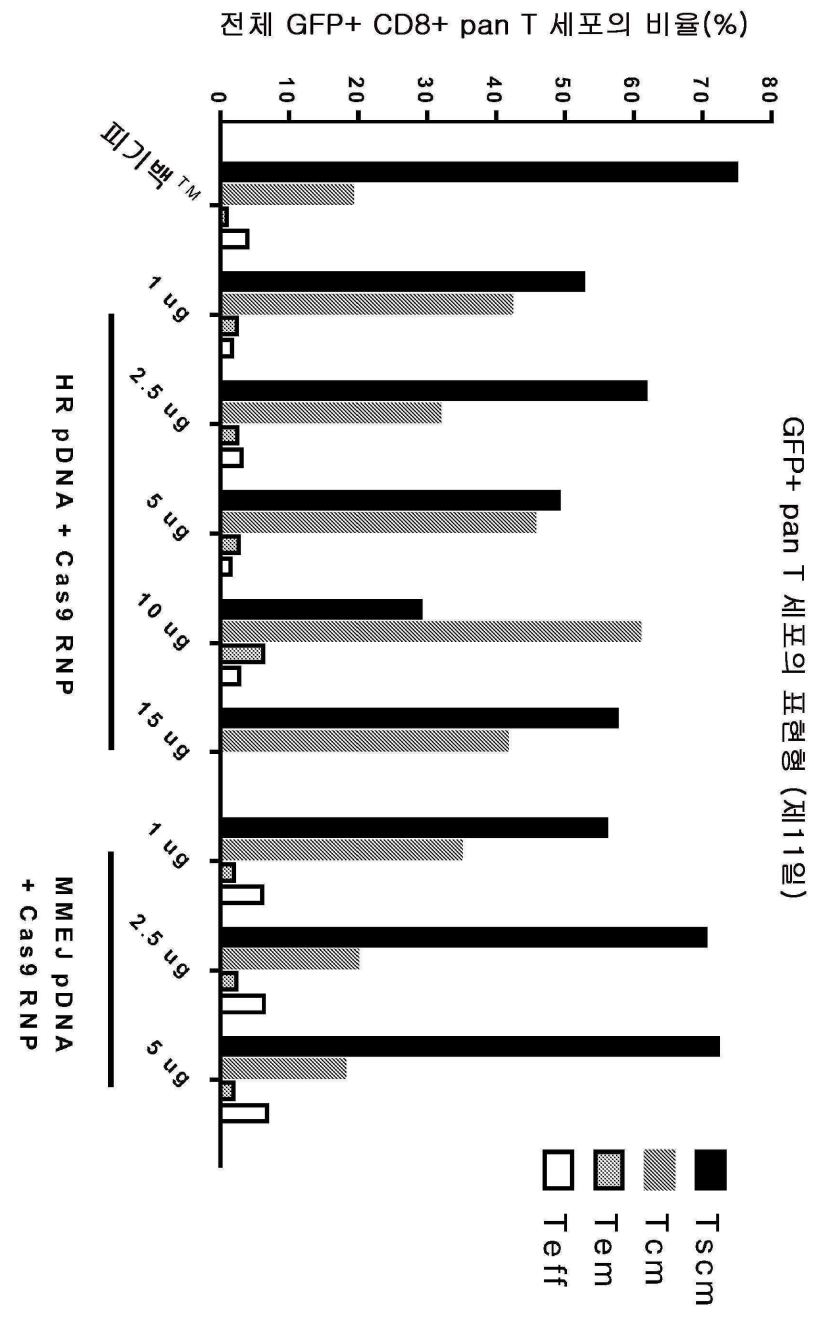
도면16


GFP+ %
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
피기팩™
1 ug
2.5 ug
5 ug
10 ug
15 ug
HR pDNA + Cas9 RNP
1 ug
2.5 ug
5 ug
10 ug
15 ug
HR pDNA
1 ug
2.5 ug
5 ug
MMEJ pDNA + Cas9 RNP
5 ug
Mock
MMEJ pDNA
GFP+ pan T 세포 (제11일)

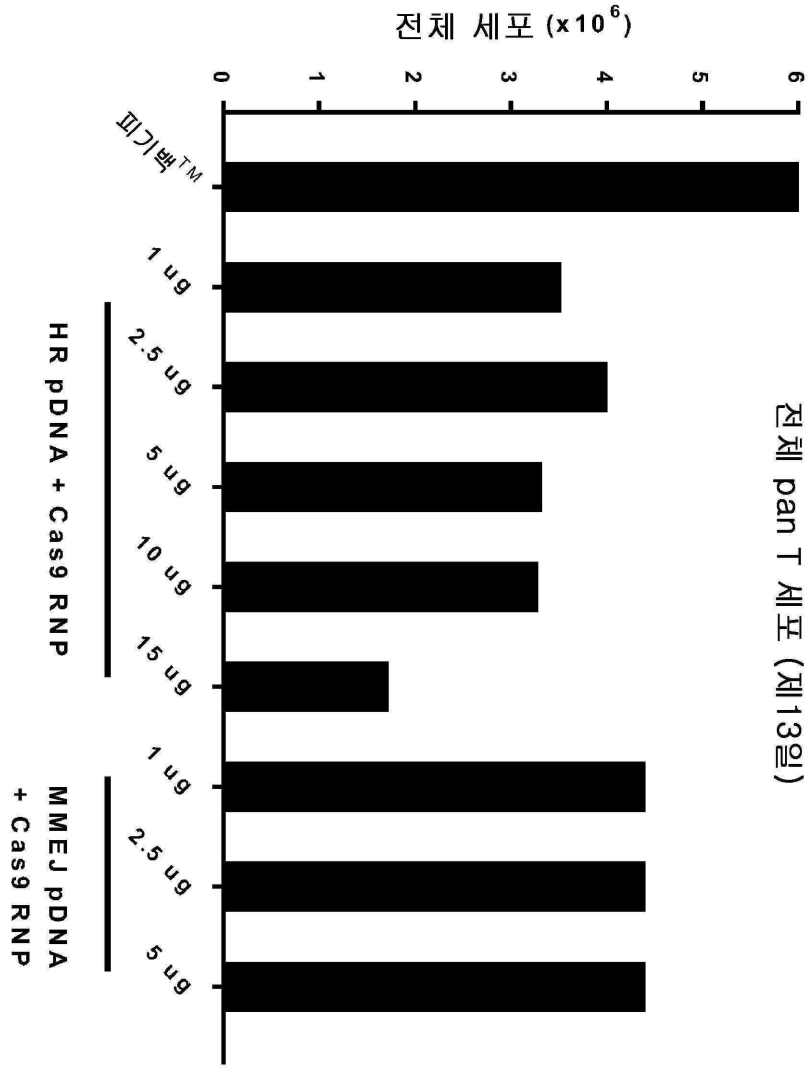
도면17a


SSC-A
FSC-A
live
21.2
7AAD
FSC-A
7AAD
96.1
FSC-A
GFP
GFP+
98.7
CD8
CD4
CD8+
23.8
CD4+
71.2
CD45RA
CD62L
Q1
4.23
Q4
1.24
Q2
75.2
Q3
19.4

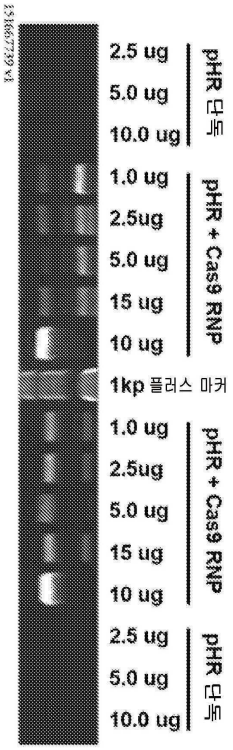
도면17b


전체 GFP+ CD8+ pan T 세포의 비율(%)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
피기백 TM
1 ug
2.5 ug
5 ug
10 ug
15 ug
1 ug
2.5 ug
5 ug
HR pDNA + Cas9 RNP
MMEJ pDNA + Cas9 RNP
GFP+ pan T 세포의 표현형 (제11일)
Tscm
Tcm
Tem
Teff

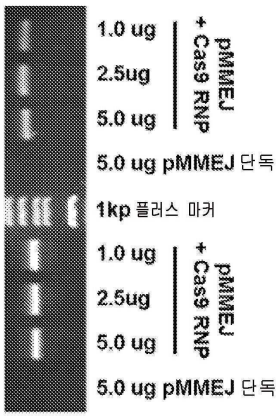
도면17c


전체 세포 (x10^6)
0
1
2
3
4
5
6
피기백™
1 ug
2.5 ug
5 ug
10 ug
15 ug
1 ug
2.5 ug
5 ug
HR pDNA + Cas9 RNP
MMEJ pDNA + Cas9 RNP
전체 pan T 세포 (제13일)

도면18



도 18A



도 18B

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Poseida Therapeutics

OSTERTAG, Eric

SHEDLOCK, Devon

<120> MODIFIED STEM CELL MEMORY T CELLS, METHODS OF MAKING AND METHODS OF USING SAME

<130> POTH-012/01WO

<150> 62/402,707

<151> 2016-09-30

<150> 62/553,058

<151> 2017-08-31

<150> 62/556,309

<151> 2017-09-08

<150> 62/502,508

<151> 2017-05-05

<160> 42

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 89

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> FN3 domain consensus sequence

<400> 1

Leu Pro Ala Pro Lys Asn Leu Val Val Ser Glu Val Thr Glu Asp Ser
1 5 10 15

Leu Arg Leu Ser Trp Thr Ala Pro Asp Ala Ala Phe Asp Ser Phe Leu
20 25 30

Ile Gln Tyr Gln Glu Ser Glu Lys Val Gly Glu Ala Ile Asn Leu Thr
35 40 45

Val Pro Gly Ser Glu Arg Ser Tyr Asp Leu Thr Gly Leu Lys Pro Gly
50 55 60

Thr Glu Tyr Thr Val Ser Ile Tyr Gly Val Lys Gly Gly His Arg Ser
65 70 75 80

Asn Pro Leu Ser Ala Glu Phe Thr Thr
85

<210> 2

<211> 90

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> FN3 consensus sequence

<400> 2

Met Leu Pro Ala Pro Lys Asn Leu Val Val Ser Glu Val Thr Glu Asp
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Trp Thr Ala Pro Asp Ala Ala Phe Asp Ser Phe

20 25 30
Leu Ile Gln Tyr Gln Glu Ser Glu Lys Val Gly Glu Ala Ile Asn Leu
35 40 45
Thr Val Pro Gly Ser Glu Arg Ser Tyr Asp Leu Thr Gly Leu Lys Pro
50 55 60
Gly Thr Glu Tyr Thr Val Ser Ile Tyr Gly Val Lys Gly Gly His Arg
65 70 75 80
Ser Asn Pro Leu Ser Ala Glu Phe Thr Thr
85 90

<210> 3

<211> 270

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> FN3 consensus sequence

<400> 3

atgctgcctg caccaaagaa cctggtggtg tctcatgtga cagaggatag tgccagactg 60
tcatggactg ctcccgacgc agccttcgat agttttatca tcgtgtaccg ggagaacatc 120
gaaaccggcg aggccattgt cctgacagtg ccagggtccg aacgctctta tgacctgaca 180
gatctgaagc ccggaactga gtactatgtg cagatcgccg gcgtcaaagg aggcaatatc 240
agcttccctc tgtccgcaat cttcaccaca 270

<210> 4

<211
> 594

<212> PRT

<213> Trichoplusia ni

<400> 4

Met Gly Ser Ser Leu Asp Asp Glu His Ile Leu Ser Ala Leu Leu Gln
1 5 10 15

Ser Asp Asp Glu Leu Val Gly Glu Asp Ser Asp Ser Glu Ile Ser Asp

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

Asp Glu Gln Asn Val Ile Glu Gln Pro Gly Ser Ser Leu Ala Ser Asn

65 70 75 80

Arg Ile Leu Thr Leu Pro Gln Arg Thr Ile Arg Gly Lys Asn Lys His

85 90 95

Cys Trp Ser Thr Ser Lys Ser Thr Arg Arg Ser Arg Val Ser Ala Leu

100 105 110

Asn Ile Val Arg Ser Gln Arg Gly Pro Thr Arg Met Cys Arg Asn Ile

115 120 125

Tyr Asp Pro Leu Leu Cys Phe Lys Leu Phe Phe Thr Asp Glu Ile Ile

130 135 140

Ser Glu Ile Val Lys Trp Thr Asn Ala Glu Ile Ser Leu Lys Arg Arg

145 150 155 160

Glu Ser Met Thr Gly Ala Thr Phe Arg Asp Thr Asn Glu Asp Glu Ile

165 170 175

Tyr Ala Phe Phe Gly Ile Leu Val Met Thr Ala Val Arg Lys Asp Asn

180 185 190

His Met Ser Thr Asp Asp Leu Phe Asp Arg Ser Leu Ser Met Val Tyr

195 200 205

Val Ser Val Met Ser Arg Asp Arg Phe Asp Phe Leu Ile Arg Cys Leu

210 215 220

Arg Met Asp Asp Lys Ser Ile Arg Pro Thr Leu Arg Glu Asn Asp Val

225 230 235 240

Phe Thr Pro Val Arg Lys Ile Trp Asp Leu Phe Ile His Gln Cys Ile

245 250 255

Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Ala His Leu Thr Ile Asp Glu Gln Leu Leu

260 265 270

Gly Phe Arg Gly Arg Cys Pro Phe Arg Met Tyr Ile Pro Asn Lys Pro

275 280 285

Ser Lys Tyr Gly Ile Lys Ile Leu Met Met Cys Asp Ser Gly Tyr Lys

290 295 300

Tyr Met Ile Asn Gly Met Pro Tyr Leu Gly Arg Gly Thr Gln Thr Asn

305 310 315 320

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

325 330 335

His Gly Ser Cys Arg Asn Ile Thr Cys Asp Asn Trp Phe Thr Ser Ile

340 345 350

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

355 360 365

Gly Thr Val Arg Ser Asn Lys Arg Glu Ile Pro Glu Val Leu Lys Asn

370 375 380

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

385 390 395 400

Leu Thr Leu Val Ser Tyr Lys Pro Lys Pro Ala Lys Met Val Tyr Leu

405 410 415

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

420 425 430

Pro Gln Met Val Met Tyr Tyr Asn Gln Thr Lys Gly Gly Val Asp Thr

435 440 445

Leu Asp Gln Met Cys Ser Val Met Thr Cys Ser Arg Lys Thr Asn Arg

450 455 460

Trp Pro Met Ala Leu Leu Tyr Gly Met Ile Asn Ile Ala Cys Ile Asn

465 470 475 480

Ser Phe Ile Ile Tyr Ser His Asn Val Ser Ser Lys Gly Glu Lys Val

485 490 495

Gln Ser Arg Lys Lys Phe Met Arg Asn Leu Tyr Met Ser Leu Thr Ser

500 505 510

Ser Phe Met Arg Lys Arg Leu Glu Ala Pro Thr Leu Lys Arg Tyr Leu
515 520 525
Arg Asp Asn Ile Ser Asn Ile Leu Pro Asn Glu Val Pro Gly Thr Ser
530 535 540
Asp Asp Ser Thr Glu Glu Pro Val Met Lys Lys Arg Thr Tyr Cys Thr
545 550 555 560
Tyr Cys Pro Ser Lys Ile Arg Arg Lys Ala Asn Ala Ser Cys Lys Lys

565 570 575
Cys Lys Lys Val Ile Cys Arg Glu His Asn Ile Asp Met Cys Gln Ser
580 585 590
Cys Phe

<210> 5
<211> 594
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> Super Piggybac Transposase
<400> 5
Met Gly Ser Ser Leu Asp Asp Glu His Ile Leu Ser Ala Leu Leu Gln
1 5 10 15
Ser Asp Asp Glu Leu Val Gly Glu Asp Ser Asp Ser Glu Val Ser Asp

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

85 90 95
Cys Trp Ser Thr Ser Lys Ser Thr Arg Arg Ser Arg Val Ser Ala Leu
100 105 110

Asn Ile Val Arg Ser Gln Arg Gly Pro Thr Arg Met Cys Arg Asn Ile
115 120 125
Tyr Asp Pro Leu Leu Cys Phe Lys Leu Phe Phe Thr Asp Glu Ile Ile
130 135 140
Ser Glu Ile Val Lys Trp Thr Asn Ala Glu Ile Ser Leu Lys Arg Arg

145 150 155 160
Glu Ser Met Thr Ser Ala Thr Phe Arg Asp Thr Asn Glu Asp Glu Ile
165 170 175
Tyr Ala Phe Phe Gly Ile Leu Val Met Thr Ala Val Arg Lys Asp Asn
180 185 190
His Met Ser Thr Asp Asp Leu Phe Asp Arg Ser Leu Ser Met Val Tyr
195 200 205
Val Ser Val Met Ser Arg Asp Arg Phe Asp Phe Leu Ile Arg Cys Leu

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

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

340 345 350
Pro Leu Ala Lys Asn Leu Leu Gln Glu Pro Tyr Lys Leu Thr Ile Val

355 360 365

Gly Thr Val Arg Ser Asn Lys Arg Glu Ile Pro Glu Val Leu Lys Asn

370 375 380

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

385 390 395 400

Leu Thr Leu Val Ser Tyr Lys Pro Lys Pro Ala Lys Met Val Tyr Leu

405 410 415

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

420 425 430

Pro Gln Met Val Met Tyr Tyr Asn Gln Thr Lys Gly Gly Val Asp Thr

435 440 445

Leu Asp Gln Met Cys Ser Val Met Thr Cys Ser Arg Lys Thr Asn Arg

450 455 460

Trp Pro Met Ala Leu Leu Tyr Gly Met Ile Asn Ile Ala Cys Ile Asn

465 470 475 480

Ser Phe Ile Ile Tyr Ser His Asn Val Ser Ser Lys Gly Glu Lys Val

485 490 495

Gln Ser Arg Lys Lys Phe Met Arg Asn Leu Tyr Met Ser Leu Thr Ser

500 505 510

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

515 520 525

Arg Asp Asn Ile Ser Asn Ile Leu Pro Lys Glu Val Pro Gly Thr Ser

530 535 540

Asp Asp Ser Thr Glu Glu Pro Val Met Lys Lys Arg Thr Tyr Cys Thr

545 550 555 560

Tyr Cys Pro Ser Lys Ile Arg Arg Lys Ala Asn Ala Ser Cys Lys Lys

565 570 575

Cys Lys Lys Val Ile Cys Arg Glu His Asn Ile Asp Met Cys Gln Ser

580 585 590

Cys Phe

<210> 6

<211> 340

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Sleeping Beauty Transposase

<400> 6

Met Gly Lys Ser Lys Glu Ile Ser Gln Asp Leu Arg Lys Lys Ile Val
1 5 10 15

Asp Leu His Lys Ser Gly Ser Ser Leu Gly Ala Ile Ser Lys Arg Leu
20 25 30

Lys Val Pro Arg Ser Ser Val Gln Thr Ile Val Arg Lys Tyr Lys His
35 40 45

His Gly Thr Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Ser Gly Arg Arg Arg Tyr Leu

50 55 60

Ser Pro Arg Asp Glu Arg Thr Leu Val Arg Lys Val Gln Ile Asn Pro
65 70 75 80

Arg Thr Thr Ala Lys Asp Leu Val Lys Met Leu Glu Glu Thr Gly Thr
85 90 95

Lys Val Ser Ile Ser Thr Val Lys Arg Val Leu Tyr Arg His Asn Leu
100 105 110

Lys Gly Arg Ser Ala Arg Lys Lys Pro Leu Leu Gln Asn Arg His Lys

115 120 125

Lys Ala Arg Leu Arg Phe Ala Thr Ala His Gly Asp Lys Asp Arg Thr
130 135 140

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

Gly His Asn Asp His Arg Tyr Val Trp Arg Lys Lys Gly Glu Ala Cys
165 170 175

Lys Pro Lys Asn Thr Ile Pro Thr Val Lys His Gly Gly Gly Ser Ile

180 185 190

Met Leu Trp Gly Cys Phe Ala Ala Gly Gly Thr Gly Ala Leu His Lys
195 200 205

Ile Asp Gly Ile Met Arg Lys Glu Asn Tyr Val Asp Ile Leu Lys Gln
210 215 220
His Leu Lys Thr Ser Val Arg Lys Leu Lys Leu Gly Arg Lys Trp Val
225 230 235 240
Phe Gln Met Asp Asn Asp Pro Lys His Thr Ser Lys Val Val Ala Lys

245 250 255
Trp Leu Lys Asp Asn Lys Val Lys Val Leu Glu Trp Pro Ser Gln Ser
260 265 270
Pro Asp Leu Asn Pro Ile Glu Asn Leu Trp Ala Glu Leu Lys Lys Arg
275 280 285
Val Arg Ala Arg Arg Pro Thr Asn Leu Thr Gln Leu His Gln Leu Cys
290 295 300
Gln Glu Glu Trp Ala Lys Ile His Pro Thr Tyr Cys Gly Lys Leu Val

305 310 315 320
Glu Gly Tyr Pro Lys Arg Leu Thr Gln Val Lys Gln Phe Lys Gly Asn
325 330 335
Ala Thr Lys Tyr
340

<210> 7
<211> 340
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> hyperactive sleeping beauty transposase
<400> 7
Met Gly Lys Ser Lys Glu Ile Ser Gln Asp Leu Arg Lys Arg Ile Val
1 5 10 15
Asp Leu His Lys Ser Gly Ser Ser Leu Gly Ala Ile Ser Lys Arg Leu

20 25 30
Ala Val Pro Arg Ser Ser Val Gln Thr Ile Val Arg Lys Tyr Lys His
35 40 45
His Gly Thr Thr Gln Pro Ser Tyr Arg Ser Gly Arg Arg Arg Tyr Leu
50 55 60

Ser Pro Arg Asp Glu Arg Thr Leu Val Arg Lys Val Gln Ile Asn Pro
65 70 75 80
Arg Thr Thr Ala Lys Asp Leu Val Lys Met Leu Glu Glu Thr Gly Thr

85 90 95
Lys Val Ser Ile Ser Thr Val Lys Arg Val Leu Tyr Arg His Asn Leu
100 105 110
Lys Gly His Ser Ala Arg Lys Lys Pro Leu Leu Gln Asn Arg His Lys
115 120 125
Lys Ala Arg Leu Arg Phe Ala Thr Ala His Gly Asp Lys Asp Arg Thr
130 135 140
Phe Trp Arg Asn Val Leu Trp Ser Asp Glu Thr Lys Ile Glu Leu Phe

145 150 155 160
Gly His Asn Asp His Arg Tyr Val Trp Arg Lys Lys Gly Glu Ala Cys
165 170 175
Lys Pro Lys Asn Thr Ile Pro Thr Val Lys His Gly Gly Gly Ser Ile
180 185 190
Met Leu Trp Gly Cys Phe Ala Ala Gly Gly Thr Gly Ala Leu His Lys
195 200 205
Ile Asp Gly Ile Met Asp Ala Val Gln Tyr Val Asp Ile Leu Lys Gln

210 215 220
His Leu Lys Thr Ser Val Arg Lys Leu Lys Leu Gly Arg Lys Trp Val
225 230 235 240
Phe Gln His Asp Asn Asp Pro Lys His Thr Ser Lys Val Val Ala Lys
245 250 255
Trp Leu Lys Asp Asn Lys Val Lys Val Leu Glu Trp Pro Ser Gln Ser
260 265 270
Pro Asp Leu Asn Pro Ile Glu Asn Leu Trp Ala Glu Leu Lys Lys Arg

275 280 285
Val Arg Ala Arg Arg Pro Thr Asn Leu Thr Gln Leu His Gln Leu Cys
290 295 300
Gln Glu Glu Trp Ala Lys Ile His Pro Asn Tyr Cys Gly Lys Leu Val

305 310 315 320

Glu Gly Tyr Pro Lys Arg Leu Thr Gln Val Lys Gln Phe Lys Gly Asn

325 330 335

Ala Thr Lys Tyr

340

<210> 8

<

211> 21

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 8

Met Ala Leu Pro Val Thr Ala Leu Leu Leu Pro Leu Ala Leu Leu Leu

1 5 10 15

His Ala Ala Arg Pro

20

<210> 9

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence for human CD8alpha signal peptide

<400> 9

atggcactgc cagtcaccgc cctgctgctg cctctggctc tgctgctgca cgcagctaga 60

cca 63

<210> 10

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 10

Ile Tyr Ile Trp Ala Pro Leu Ala Gly Thr Cys Gly Val Leu Leu Leu

1 5 10 15

Ser Leu Val Ile Thr Leu Tyr Cys

20

<210> 11

<211> 72

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence coding for human CD8alpha transmembrane domain

<400> 11

atctacattt gggcaccact ggccgggacc tgtggagtgc tgctgctgag cctggtcatc 60

acactgtact gc 72

<210> 12

<211> 112

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 12

Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr Lys Gln Gly
1 5 10 15

Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg Glu Glu Tyr
20 25 30

Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met Gly Gly Lys
35 40 45

Pro Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn Glu Leu Gln Lys
50 55 60

Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met Lys Gly Glu Arg
65 70 75 80

Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly Leu Ser Thr Ala
85 90 95

Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala Leu Pro Pro Arg
100 105 110

<210> 13

<211> 336

<212> DNA

<213> Artificial Sequenec

<220><223> nucleotide sequence encoding the CD28 costimulatory domain

<400> 13

cgcgtgaagt ttagtcgatc agcagatgcc ccagcttaca aacagggaca gaaccagctg 60

tataacgagc tgaatctggg ccgccgagag gaatatgacg tgctggataa gcggagagga 120

cgcgaccccg aaatgggagg caagcccagg cgcaaaaacc ctcaggaagg cctgtataac 180

gagctgcaga aggacaaaat ggcagaagcc tattctgaga tcggcatgaa gggggagcga 240

cggagaggca aagggcacga tgggctgtac cagggactga gcaccgccac aaaggacacc 300

tatgatgctc tgcatatgca ggcactgcct ccaagg 336

<210> 14

<211> 42

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 14

Lys Arg Gly Arg Lys Lys Leu Leu Tyr Ile Phe Lys Gln Pro Phe Met

1 5 10 15

Arg Pro Val Gln Thr Thr Gln Glu Glu Asp Gly Cys Ser Cys Arg Phe

20 25 30

Pro Glu Glu Glu Glu Gly Gly Cys Glu Leu

35 40

<210> 15

<211

> 126

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence encoding the 4-1BB costimulatory domain

<400> 15

aagagaggca ggaagaaact gctgtatatt ttcaaacagc ccttcatgcg ccccgtgcag 60

actacccagg aggaagacgg gtgctcctgt cgattccctg aggaagagga aggcgggtgt 120

gagctg 126

<210> 16

<211> 45

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 16

Thr Thr Thr Pro Ala Pro Arg Pro Pro Thr Pro Ala Pro Thr Ile Ala

1 5 10 15

Ser Gln Pro Leu Ser Leu Arg Pro Glu Ala Cys Arg Pro Ala Ala Gly
20 25 30

Gly Ala Val His Thr Arg Gly Leu Asp Phe Ala Cys Asp
35 40 45

<210> 17

<211> 135

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> nucleotide sequence encoding human CD8alpha hinge

<400> 17

actaccacac cagcacctag accaccaact ccagctccaa ccatcgcgag tcagcccctg 60

agtctgagac ctgaggcctg caggccagct gcaggaggag ctgtgcacac caggggcctg 120

gacttcgcct gcgac 135

<210> 18

<211> 18

<212> PRT

<213> Thosea asigna

<400> 18

Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu Glu Asn Pro
1 5 10 15

Gly Pro

<210> 19

<211> 21

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GSG-T2A

<400> 19

Gly Ser Gly Glu Gly Arg Gly Ser Leu Leu Thr Cys Gly Asp Val Glu
1 5 10 15

Glu Asn Pro Gly Pro

20

<210> 20

<211> 63

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> GSG-T2A

<400> 20

ggatctggag agggaagggg aagcctgctg acctgtggag acgtggagga aaacccagga 60

cca 63

<210> 21

<211> 20

<212> PRT

<213> Equine rhinitis A

<400> 21

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

1 5 10 15

Asn Pro Gly Pro

20

<210> 22

<211> 23

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GSG-E2A peptide

<400> 22

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

1 5 10 15

Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20

<210> 23

<211> 22

<212> PRT

<213> Foot and nout disease virus type O

<400> 23

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

1 5 10 15

Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20

<210> 24

<211> 25

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GSG-F2A peptide

<400> 24

Gly Ser Gly Val Lys Gln Thr Leu Asn Phe Asp Leu Leu Lys Leu Ala
1 5 10 15

Gly Asp Val Glu Ser Asn Pro Gly Pro
20 25

<210> 25

<211> 19

<212> PRT

<213> Porcine teschovirus-1

<400> 25

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

1 5 10 15

Pro Gly Pro

<210> 26

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GSG-P2A peptide

<400> 26

Gly Ser Gly Ala Thr Asn Phe Ser Leu Leu Lys Gln Ala Gly Asp Val
1 5 10 15

Glu Glu Asn Pro Gly Pro
20

<210> 27

<211> 5296

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Helraiser transposon

<400> 27

tcctatataa taaaagagaa acatgcaaat tgaccatccc tccgctacgc tcaagccacg 60

cccaccagcc aatcagaagt gactatgcaa attaacccaa caaagatggc agttaaattt 120

gcatacgcag gtgtcaagcg ccccaggagg caacggcggc cgcgggctcc caggaccttc 180

gctggccccg ggaggcgagg ccggccgcgc ctagccacac ccgcgggctc ccgggacctt 240

cgccagcaga gagcagagcg ggagagcggg cggagagcgg gaggtttgga ggacttggca 300

gagcaggagg ccgctggaca tagagcagag cgagagagag ggtggcttgg agggcgtggc 360

tccctctgtc accccagctt cctcatcaca gctgtggaaa ctgacagcag ggaggaggaa 420

gtcccacccc cacagaatca gccagaatca gccgttggtc agacagctct cagcggcctg 480

acagccagga ctctcattca cctgcatctc agaccgtgac agtagagagg tgggactatg 540

tctaaagaac aactgttgat acaacgtagc tctgcagccg aaagatgccg gcgttatcga 600

cagaaaatgt ctgcagagca acgtgcgtct gatcttgaaa gaaggcggcg cctgcaacag 660

aatgtatctg aagagcagct actggaaaaa cgtcgctctg aagccgaaaa acagcggcgt 720

catcgacaga aaatgtctaa agaccaacgt gcctttgaag ttgaaagaag gcggtggcga 780

cgacagaata tgtctagaga acagtcatca acaagtacta ccaataccgg taggaactgc 840

cttctcagca aaaatggagt acatgaggat gcaattctcg aacatagttg tggtggaatg 900

actgttcgat gtgaattttg cctatcacta aatttctctg atgaaaaacc atccgatggg 960

aaatttactc gatgttgtag caaagggaaa gtctgtccaa atgatataca ttttccagat 1020

tacccggcat atttaaaaag attaatgaca aacgaagatt ctgacagtaa aaatttcatg 1080

gaaaatattc gttccataaa tagttctttt gcttttgctt ccatgggtgc aaatattgca 1140

tcgccatcag gatatgggcc atactgtttt agaatacacg gacaagttta tcaccgtact 1200

ggaactttac atccttcgga tggtgtttct cggaagtttg ctcaactcta tattttggat 1260

acagccgaag ctacaagtaa aagattagca atgccagaaa accagggctg ctcagaaaga 1320

ctcatgatca acatcaacaa cctcatgcat gaaataaatg aattaacaaa atcgtacaag 1380

atgctacatg aggtagaaaa ggaagcccaa tctgaagcag cagcaaaagg tattgctccc 1440

acagaagtaa caatggcgat taaatacgat cgtaacagtg acccaggtag atataattct 1500

ccccgtgtaa ccgaggttgc tgtcatattc agaaacgaag atggagaacc tccttttgaa 1560

agggacttgc tcattcattg taaaccagat cccaataatc caaatgccac taaaatgaaa 1620

caaatcagta tcctgtttcc tacattagat gcaatgacat atcctattct ttttccacat 1680

ggtgaaaaag gctggggaac agatattgca ttaagactca gagacaacag tgtaatcgac 1740

aataatacta gacaaaatgt aaggacacga gtcacacaaa tgcagtatta tggatttcat 1800

ctctctgtgc gggacacgtt caatcctatt ttaaatgcag gaaaattaac tcaacagttt 1860

attgtggatt catattcaaa aatggaggcc aatcggataa atttcatcaa agcaaaccaa 1920

tctaagttga gagttgaaaa atatagtggt ttgatggatt atctcaaatc tagatctgaa 1980

aatgacaatg tgccgattgg taaaatgata atacttccat catcttttga gggtagtccc 2040

agaaatatgc agcagcgata tcaggatgct atggcaattg taacgaagta tggcaagccc 2100

gatttattca taaccatgac atgcaacccc aaatgggcag atattacaaa caatttacaa 2160

cgctggcaaa aagttgaaaa cagacctgac ttggtagcca gagtttttaa tattaagctg 2220

aatgctcttt taaatgatat atgtaaattc catttatttg gcaaagtaat agctaaaatt 2280

catgtcattg aatttcagaa acgcggactg cctcacgctc acatattatt gatattagat 2340

agtgagtcca aattacgttc agaagatgac attgaccgta tagttaaggc agaaattcca 2400

gatgaagacc agtgtcctcg acttttttcaa attgtaaaat caaatatggt acatggacca 2460

tgtggaatac aaaatccaaa tagtccatgt atggaaaatg gaaaatgttc aaagggatat 2520

ccaaaagaat ttcaaaatgc gaccattgga aatattgatg gatatcccaa atacaaacga 2580

agatctggta gcaccatgtc tattggaaat aaagttgtcg ataacacttg gattgtccct 2640

tataacccgt atttgtgcct taaatataac tgtcatataa atgttgaagt ctgtgcatca 2700

attaaaagtg tcaaatattt atttaaatac atctataaag ggcacgattg tgcaaatatt 2760

caaatttctg aaaaaaatat tatcaatcat gacgaagtac aggacttcat tgactccagg 2820

tatgtgagcg ctcctgaggc tgtttggaga ctttttgcaa tgcgaatgca tgaccaatct 2880

catgcaatca caagattagc tattcatttg ccaaatgatc agaatttgta ttttcatacc 2940

gatgattttg ctgaagtttt agatagggct aaaaggcata actcgacttt gatggcttgg 3000

ttcttattga atagagaaga ttctgatgca cgtaattatt attattggga gattccacag 3060

cattatgtgt ttaataattc tttgtggaca aaacgccgaa agggtgggaa taaagtatta 3120

ggtagactgt tcactgtgag ctttagagaa ccagaacgat attaccttag acttttgctt 3180

ctgcatgtaa aaggtgcgat aagttttgag gatctgcgaa ctgtaggagg tgtaacttat 3240

gatacatttc atgaagctgc taaacaccga ggattattac ttgatgacac tatctggaaa 3300

gatacgattg acgatgcaat catccttaat atgcccaaac aactacggca acttttgca 3360

tatatatgtg tgtttggatg tccttctgct gcagacaaat tatgggatga gaataaatct 3420

cattttattg aagatttctg ttggaaatta caccgaagag aaggtgcctg tgtgaactgt 3480
gaaatgcatg cccttaacga aattcaggag gtattcacat tgcatggaat gaaatgttca 3540
catttcaaac ttccggacta tcctttatta atgaatgcaa atacatgtga tcaattgtac 3600
gagcaacaac aggcagaggt tttgataaat tctctgaatg atgaacagtt ggcagccttt 3660
cagactataa cttcagccat cgaagatcaa actgtacacc ccaaatgctt tttcttggat 3720
ggtccaggtg gtagtggaaa aacatatctg tataaagttt taacacatta tattagaggt 3780
cgtggtggta ctgttttacc cacagcatct acaggaattg ctgcaaattt acttcttggt 3840

ggaagaacct ttcattccca atataaatta ccaattccat taaatgaaac ttcaatttct 3900
agactcgata taaagagtga agttgctaaa accattaaaa aggcccaact tctcattatt 3960
gatgaatgca ccatggcatc cagtcatgct ataaacgcca tagatagatt actaagagaa 4020
attatgaatt tgaatgttgc atttggtggg aaagttctcc ttctcggagg ggattttcga 4080
caatgtctca gtattgtacc acatgctatg cgatcggcca tagtacaaac gagtttaaag 4140
tactgtaatg tttggggatg tttcagaaag ttgtctctta aaacaaatat gagatcagag 4200
gattctgctt atagtgaatg gttagtaaaa cttggagatg gcaaacttga tagcagtttt 4260

catttaggaa tggatattat tgaaatcccc catgaaatga tttgtaacgg atctattatt 4320
gaagctacct ttggaaatag tatatctata gataatatta aaaatatatc taaacgtgca 4380
attctttgtc caaaaaatga gcatgttcaa aaattaaatg aagaaatttt ggatatactt 4440
gatggagatt ttcacacata tttgagtgat gattccattg attcaacaga tgatgctgaa 4500
aaggaaaatt ttcccatcga atttcttaat agtattactc cttcgggaat gccgtgtcat 4560
aaattaaaat tgaaagtggg tgcaatcatc atgctattga gaaatcttaa tagtaaatgg 4620
ggtctttgta atggtactag atttattatc aaaagattac gacctaacat tatcgaagct 4680

gaagtattaa caggatctgc agagggagag gttgttctga ttccaagaat tgatttgtcc 4740
ccatctgaca ctggcctccc atttaaatta attcgaagac agtttcccgt gatgccagca 4800
tttgcgatga ctattaataa atcacaagga caaactctag acagagtagg aatattccta 4860
cctgaacccg ttttcgcaca tggtcagtta tatgttgctt tctctcgagt tcgaagagca 4920
tgtgacgtta aagttaaagt tgtaaatact tcatcacaag ggaaattagt caagcactct 4980
gaaagtgttt ttactcttaa tgtggtatac agggagatat tagaataagt ttaatcactt 5040
tatcagtcat tgtttgcatc aatgttgttt ttatatcatg tttttgttgt ttttatatca 5100

tgtctttgtt gttgttatat catgttgtta ttgtttattt attaataaat ttatgtatta 5160

ttttcatata cattttactc atttcctttc atctctcaca cttctattat agagaaaggg 5220

caaatagcaa tattaaaata tttcctctaa ttaattccct ttcaatgtgc acgaatttcg 5280

tgcaccgggc cactag 5296

<210> 28

<211> 1496

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Helitron transposase

<400> 28

Met Ser Lys Glu Gln Leu Leu Ile Gln Arg Ser Ser Ala Ala Glu Arg
1 5 10 15

Cys Arg Arg Tyr Arg Gln Lys Met Ser Ala Glu Gln Arg Ala Ser Asp
20 25 30

Leu Glu Arg Arg Arg Arg Leu Gln Gln Asn Val Ser Glu Glu Gln Leu
35 40 45

Leu Glu Lys Arg Arg Ser Glu Ala Glu Lys Gln Arg Arg His Arg Gln
50 55 60

Lys Met Ser Lys Asp Gln Arg Ala Phe Glu Val Glu Arg Arg Arg Trp
65 70 75 80

Arg Arg Gln Asn Met Ser Arg Glu Gln Ser Ser Thr Ser Thr Thr Asn
85 90 95

Thr Gly Arg Asn Cys Leu Leu Ser Lys Asn Gly Val His Glu Asp Ala
100 105 110

Ile Leu Glu His Ser Cys Gly Gly Met Thr Val Arg Cys Glu Phe Cys
115 120 125

Leu Ser Leu Asn Phe Ser Asp Glu Lys Pro Ser Asp Gly Lys Phe Thr
130 135 140

Arg Cys Cys Ser Lys Gly Lys Val Cys Pro Asn Asp Ile His Phe Pro
145 150 155 160

Asp Tyr Pro Ala Tyr Leu Lys Arg Leu Met Thr Asn Glu Asp Ser Asp
165 170 175

Ser Lys Asn Phe Met Glu Asn Ile Arg Ser Ile Asn Ser Ser Phe Ala
180 185 190
Phe Ala Ser Met Gly Ala Asn Ile Ala Ser Pro Ser Gly Tyr Gly Pro
195 200 205

Tyr Cys Phe Arg Ile His Gly Gln Val Tyr His Arg Thr Gly Thr Leu
210 215 220
His Pro Ser Asp Gly Val Ser Arg Lys Phe Ala Gln Leu Tyr Ile Leu
225 230 235 240
Asp Thr Ala Glu Ala Thr Ser Lys Arg Leu Ala Met Pro Glu Asn Gln
245 250 255
Gly Cys Ser Glu Arg Leu Met Ile Asn Ile Asn Asn Leu Met His Glu
260 265 270

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

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

Asp Asn Asn Thr Arg Gln Asn Val Arg Thr Arg Val Thr Gln Met Gln
405 410 415
Tyr Tyr Gly Phe His Leu Ser Val Arg Asp Thr Phe Asn Pro Ile Leu

420 425 430

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

435 440 445

Met Glu Ala Asn Arg Ile Asn Phe Ile Lys Ala Asn Gln Ser Lys Leu

450 455 460

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

465 470 475 480

Glu Asn Asp Asn Val Pro Ile Gly Lys Met Ile Ile Leu Pro Ser Ser

485 490 495

Phe Glu Gly Ser Pro Arg Asn Met Gln Gln Arg Tyr Gln Asp Ala Met

500 505 510

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

515 520 525

Cys Asn Pro Lys Trp Ala Asp Ile Thr Asn Asn Leu Gln Arg Trp Gln

530 535 540

Lys Val Glu Asn Arg Pro Asp Leu Val Ala Arg Val Phe Asn Ile Lys

545 550 555 560

Leu Asn Ala Leu Leu Asn Asp Ile Cys Lys Phe His Leu Phe Gly Lys

565 570 575

Val Ile Ala Lys Ile His Val Ile Glu Phe Gln Lys Arg Gly Leu Pro

580 585 590

His Ala His Ile Leu Leu Ile Leu Asp Ser Glu Ser Lys Leu Arg Ser

595 600 605

Glu Asp Asp Ile Asp Arg Ile Val Lys Ala Glu Ile Pro Asp Glu Asp

610 615 620

Gln Cys Pro Arg Leu Phe Gln Ile Val Lys Ser Asn Met Val His Gly

625 630 635 640

Pro Cys Gly Ile Gln Asn Pro Asn Ser Pro Cys Met Glu Asn Gly Lys

645 650 655

Cys Ser Lys Gly Tyr Pro Lys Glu Phe Gln Asn Ala Thr Ile Gly Asn

660 665 670

Ile Asp Gly Tyr Pro Lys Tyr Lys Arg Arg Ser Gly Ser Thr Met Ser
675 680 685
Ile Gly Asn Lys Val Val Asp Asn Thr Trp Ile Val Pro Tyr Asn Pro
690 695 700
Tyr Leu Cys Leu Lys Tyr Asn Cys His Ile Asn Val Glu Val Cys Ala
705 710 715 720

Ser Ile Lys Ser Val Lys Tyr Leu Phe Lys Tyr Ile Tyr Lys Gly His
725 730 735
Asp Cys Ala Asn Ile Gln Ile Ser Glu Lys Asn Ile Ile Asn His Asp
740 745 750
Glu Val Gln Asp Phe Ile Asp Ser Arg Tyr Val Ser Ala Pro Glu Ala
755 760 765
Val Trp Arg Leu Phe Ala Met Arg Met His Asp Gln Ser His Ala Ile
770 775 780

Thr Arg Leu Ala Ile His Leu Pro Asn Asp Gln Asn Leu Tyr Phe His
785 790 795 800
Thr Asp Asp Phe Ala Glu Val Leu Asp Arg Ala Lys Arg His Asn Ser
805 810 815
Thr Leu Met Ala Trp Phe Leu Leu Asn Arg Glu Asp Ser Asp Ala Arg
820 825 830
Asn Tyr Tyr Tyr Trp Glu Ile Pro Gln His Tyr Val Phe Asn Asn Ser
835 840 845

Leu Trp Thr Lys Arg Arg Lys Gly Gly Asn Lys Val Leu Gly Arg Leu
850 855 860
Phe Thr Val Ser Phe Arg Glu Pro Glu Arg Tyr Tyr Leu Arg Leu Leu
865 870 875 880
Leu Leu His Val Lys Gly Ala Ile Ser Phe Glu Asp Leu Arg Thr Val
885 890 895
Gly Gly Val Thr Tyr Asp Thr Phe His Glu Ala Ala Lys His Arg Gly
900 905 910

Leu Leu Leu Asp Asp Thr Ile Trp Lys Asp Thr Ile Asp Asp Ala Ile

915 920 925

Ile Leu Asn Met Pro Lys Gln Leu Arg Gln Leu Phe Ala Tyr Ile Cys

930 935 940

Val Phe Gly Cys Pro Ser Ala Ala Asp Lys Leu Trp Asp Glu Asn Lys

945 950 955 960

Ser His Phe Ile Glu Asp Phe Cys Trp Lys Leu His Arg Arg Glu Gly

965 970 975

Ala Cys Val Asn Cys Glu Met His Ala Leu Asn Glu Ile Gln Glu Val

980 985 990

Phe Thr Leu His Gly Met Lys Cys Ser His Phe Lys Leu Pro Asp Tyr

995 1000 1005

Pro Leu Leu Met Asn Ala Asn Thr Cys Asp Gln Leu Tyr Glu Gln

1010 1015 1020

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

1025 1030 1035

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

1040 1045 1050

His Pro Lys Cys Phe Phe Leu Asp Gly Pro Gly Gly Ser Gly Lys

1055 1060 1065

Thr Tyr Leu Tyr Lys Val Leu Thr His Tyr Ile Arg Gly Arg Gly

1070 1075 1080

Gly Thr Val Leu Pro Thr Ala Ser Thr Gly Ile Ala Ala Asn Leu

1085 1090 1095

Leu Leu Gly Gly Arg Thr Phe His Ser Gln Tyr Lys Leu Pro Ile

1100 1105 1110

Pro Leu Asn Glu Thr Ser Ile Ser Arg Leu Asp Ile Lys Ser Glu

1115 1120 1125

Val Ala Lys Thr Ile Lys Lys Ala Gln Leu Leu Ile Ile Asp Glu

1130 1135 1140

Cys Thr Met Ala Ser Ser His Ala Ile Asn Ala Ile Asp Arg Leu

1145 1150 1155

Leu Arg Glu Ile Met Asn Leu Asn Val Ala Phe Gly Gly Lys Val
1160 1165 1170
Leu Leu Leu Gly Gly Asp Phe Arg Gln Cys Leu Ser Ile Val Pro
1175 1180 1185
His Ala Met Arg Ser Ala Ile Val Gln Thr Ser Leu Lys Tyr Cys
1190 1195 1200
Asn Val Trp Gly Cys Phe Arg Lys Leu Ser Leu Lys Thr Asn Met
1205 1210 1215

Arg Ser Glu Asp Ser Ala Tyr Ser Glu Trp Leu Val Lys Leu Gly
1220 1225 1230
Asp Gly Lys Leu Asp Ser Ser Phe His Leu Gly Met Asp Ile Ile
1235 1240 1245
Glu Ile Pro His Glu Met Ile Cys Asn Gly Ser Ile Ile Glu Ala
1250 1255 1260
Thr Phe Gly Asn Ser Ile Ser Ile Asp Asn Ile Lys Asn Ile Ser
1265 1270 1275

Lys Arg Ala Ile Leu Cys Pro Lys Asn Glu His Val Gln Lys Leu
1280 1285 1290
Asn Glu Glu Ile Leu Asp Ile Leu Asp Gly Asp Phe His Thr Tyr
1295 1300 1305
Leu Ser Asp Asp Ser Ile Asp Ser Thr Asp Asp Ala Glu Lys Glu
1310 1315 1320
Asn Phe Pro Ile Glu Phe Leu Asn Ser Ile Thr Pro Ser Gly Met
1325 1330 1335

Pro Cys His Lys Leu Lys Leu Lys Val Gly Ala Ile Ile Met Leu
1340 1345 1350
Leu Arg Asn Leu Asn Ser Lys Trp Gly Leu Cys Asn Gly Thr Arg
1355 1360 1365
Phe Ile Ile Lys Arg Leu Arg Pro Asn Ile Ile Glu Ala Glu Val
1370 1375 1380
Leu Thr Gly Ser Ala Glu Gly Glu Val Val Leu Ile Pro Arg Ile

1385 1390 1395

Asp Leu Ser Pro Ser Asp Thr Gly Leu Pro Phe Lys Leu Ile Arg
1400 1405 1410
Arg Gln Phe Pro Val Met Pro Ala Phe Ala Met Thr Ile Asn Lys
1415 1420 1425
Ser Gln Gly Gln Thr Leu Asp Arg Val Gly Ile Phe Leu Pro Glu
1430 1435 1440
Pro Val Phe Ala His Gly Gln Leu Tyr Val Ala Phe Ser Arg Val
1445 1450 1455

Arg Arg Ala Cys Asp Val Lys Val Lys Val Val Asn Thr Ser Ser
1460 1465 1470
Gln Gly Lys Leu Val Lys His Ser Glu Ser Val Phe Thr Leu Asn
1475 1480 1485
Val Val Tyr Arg Glu Ile Leu Glu
1490 1495

<210> 29
<211> 30
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Helraiser palindromic sequence
<400> 29
gtgcacgaat ttcgtgcacc gggccactag 30

<210> 30
<211> 649
<212> PRT
<213> Oryzias latipes
<400> 30
Met Glu Glu Val Cys Asp Ser Ser Ala Ala Ala Ser Ser Thr Val Gln
1 5 10 15
Asn Gln Pro Gln Asp Gln Glu His Pro Trp Pro Tyr Leu Arg Glu Phe
20 25 30
Phe Ser Leu Ser Gly Val Asn Lys Asp Ser Phe Lys Met Lys Cys Val

35 40 45

Leu Cys Leu Pro Leu Asn Lys Glu Ile Ser Ala Phe Lys Ser Ser Pro

50 55 60

Ser Asn Leu Arg Lys His Ile Glu Arg Met His Pro Asn Tyr Leu Lys

65 70 75 80

Asn Tyr Ser Lys Leu Thr Ala Gln Lys Arg Lys Ile Gly Thr Ser Thr

85 90 95

His Ala Ser Ser Ser Lys Gln Leu Lys Val Asp Ser Val Phe Pro Val

100 105 110

Lys His Val Ser Pro Val Thr Val Asn Lys Ala Ile Leu Arg Tyr Ile

115 120 125

Ile Gln Gly Leu His Pro Phe Ser Thr Val Asp Leu Pro Ser Phe Lys

130 135 140

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

145 150 155 160

Thr Leu Arg Ser Lys Ile Ala Glu Ala Ala Leu Ile Met Lys Gln Lys

165 170 175

Val Thr Ala Ala Met Ser Glu Val Glu Trp Ile Ala Thr Thr Thr Asp

180 185 190

Cys Trp Thr Ala Arg Arg Lys Ser Phe Ile Gly Val Thr Ala His Trp

195 200 205

Ile Asn Pro Gly Ser Leu Glu Arg His Ser Ala Ala Leu Ala Cys Lys

210 215 220

Arg Leu Met Gly Ser His Thr Phe Glu Val Leu Ala Ser Ala Met Asn

225 230 235 240

Asp Ile His Ser Glu Tyr Glu Ile Arg Asp Lys Val Val Cys Thr Thr

245 250 255

Thr Asp Ser Gly Ser Asn Phe Met Lys Ala Phe Arg Val Phe Gly Val

260 265 270

Glu Asn Asn Asp Ile Glu Thr Glu Ala Arg Arg Cys Glu Ser Asp Asp

275 280 285

```
Thr Asp Ser Glu Gly Cys Gly Glu Gly Ser Asp Gly Val Glu Phe Gln
    290                 295                 300
Asp Ala Ser Arg Val Leu Asp Gln Asp Asp Gly Phe Glu Phe Gln Leu

305                 310                 315                 320
Pro Lys His Gln Lys Cys Ala Cys His Leu Leu Asn Leu Val Ser Ser
                325                 330                 335
Val Asp Ala Gln Lys Ala Leu Ser Asn Glu His Tyr Lys Lys Leu Tyr
            340                 345                 350
Arg Ser Val Phe Gly Lys Cys Gln Ala Leu Trp Asn Lys Ser Ser Arg
        355                 360                 365
Ser Ala Leu Ala Ala Glu Ala Val Glu Ser Glu Ser Arg Leu Gln Leu

    370                 375                 380
Leu Arg Pro Asn Gln Thr Arg Trp Asn Ser Thr Phe Met Ala Val Asp
385                 390                 395                 400
Arg Ile Leu Gln Ile Cys Lys Glu Ala Gly Glu Gly Ala Leu Arg Asn
                405                 410                 415
Ile Cys Thr Ser Leu Glu Val Pro Met Phe Asn Pro Ala Glu Met Leu
            420                 425                 430
Phe Leu Thr Glu Trp Ala Asn Thr Met Arg Pro Val Ala Lys Val Leu

        435                 440                 445
Asp Ile Leu Gln Ala Glu Thr Asn Thr Gln Leu Gly Trp Leu Leu Pro
    450                 455                 460
Ser Val His Gln Leu Ser Leu Lys Leu Gln Arg Leu His His Ser Leu
465                 470                 475                 480
Arg Tyr Cys Asp Pro Leu Val Asp Ala Leu Gln Gln Gly Ile Gln Thr
                485                 490                 495
Arg Phe Lys His Met Phe Glu Asp Pro Glu Ile Ile Ala Ala Ala Ile

            500                 505                 510
Leu Leu Pro Lys Phe Arg Thr Ser Trp Thr Asn Asp Glu Thr Ile Ile
        515                 520                 525
Lys Arg Gly Met Asp Tyr Ile Arg Val His Leu Glu Pro Leu Asp His
```

530 535 540

Lys Lys Glu Leu Ala Asn Ser Ser Ser Asp Asp Glu Asp Phe Phe Ala

545 550 555 560

Ser Leu Lys Pro Thr Thr His Glu Ala Ser Lys Glu Leu Asp Gly Tyr

565 570 575

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

580 585 590

Ile Cys Ser Leu Ser Ile Lys Thr Asn Thr Pro Leu Pro Ala Ser Ala

595 600 605

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

610 615 620

Arg Ala Arg Leu Asp Thr Asn Asn Phe Glu Asn Gln Leu Leu Leu Lys

625 630 635 640

Leu Asn Leu Arg Phe Tyr Asn Phe Glu

645

<210> 31

<211> 4682

<212> DNA

<213> Oryzias latipes

<400> 31

cagaggtgta aagtacttga gtaattttac ttgattactg tacttaagta ttatttttgg 60

ggatttttac tttacttgag tacaattaaa aatcaatact tttacttta cttaattaca 120

ttttttttaga aaaaaaagta ctttttactc cttacaattt tatttacagt caaaaagtac 180

ttatttttg gagatcactt cattctattt tcccttgcta ttaccaaacc aattgaattg 240

cgctgatgcc cagtttaatt taaatgttat ttattctgcc tatgaaaatc gttttcacat 300

tatatgaaat tggtcagaca tgttcattgg tcctttggaa gtgacgtcat gtcacatcta 360

ttaccacaat gcacagcacc ttgacctgga aattagggaa attataacag tcaatcagtg 420

gaagaaaatg gaggaagtat gtgattcatc agcagctgcg agcagcacag tccaaaatca 480

gccacaggat caagagcacc cgtggccgta tcttcgcgaa ttcttttctt taagtggtgt 540

aaataaagat tcattcaaga tgaaatgtgt cctctgtctc ccgcttaata aagaaatatc 600

ggccttcaaa agttcgccat caaacctaag gaagcatatt gaggtaagta cattaagtat 660

tttgttttac tgatagtttt ttttttttt ttttttttt tttttgggtg tgcatgtttt 720

gacgttgatg gcgcgccttt tatatgtgta gtaggcctat tttcactaat gcatgcgatt 780

gacaatataa ggctcacgta ataaaatgct aaaatgcatt tgtaattggt aacgttaggt 840

ccacgggaaa tttggcgcct attgcagctt tgaataatca ttatcattcc gtgctctcat 900

tgtgtttgaa ttcatgcaaa acacaagaaa accaagcgag aaatttttt ccaaacatgt 960

tgtattgtca aaacggtaac actttacaat gaggttgatt agttcatgta ttaactaaca 1020

ttaaataacc atgagcaata catttgttac tgtatctgtt aatctttgtt aacgttagtt 1080

aatagaaata cagatgttca ttgtttgttc atgttagttc acagtgcatt aactaatgtt 1140

aacaagatat aaagtattag taaatgttga aattaacatg tatacgtgca gttcattatt 1200

agttcatgtt aactaatgta gttaactaac gaaccttatt gtaaaagtgt taccatcaaa 1260

actaatgtaa tgaaatcaat tcaccctgtc atgtcagcct tacagtcctg tgtttttgtc 1320

aatataatca gaaataaaat taatgtttga ttgtcactaa atgctactgt atttctaaaa 1380

tcaacaagta tttaacatta taaagtgtgc aattggctgc aaatgtcagt tttattaaag 1440

ggttagttca cccaaaaatg aaaataatgt cattaatgac tcgccctcat gtcgttccaa 1500

gcccgtaaga cctccgttca tcttcagaac acagtttaag atattttaga tttagtccga 1560

gagctttctg tgcctccatt gagaatgtat gtacggtata ctgtccatgt ccagaaaggt 1620

aataaaaaca tcaaagtagt ccatgtgaca tcagtgggtt agttagaatt ttttgaagca 1680

tcgaatacat tttggtccaa aaataacaaa acctacgact ttattcggca ttgtattctc 1740

ttccgggtct gttgtcaatc cgcgttcacg acttcgcagt gacgctacaa tgctgaataa 1800

agtcgtaggt tttgttattt ttggaccaaa atgtattttc gatgcttcaa ataattctac 1860

ctaacccact gatgtcacat ggactacttt gatgttttta ttacctttct ggacatggac 1920

agtataccgt acatacattt tcagtggagg gacagaaagc tctcggacta aatctaaaat 1980

atcttaaact gtgttccgaa gatgaacgga ggtgttacgg gcttggaacg acatgagggt 2040

gagtcattaa tgacatcttt tcatttttgg gtgaactaac cctttaatgc tgtaatcaga 2100

gagtgtatgt gtaattgtta catttattgc atacaatata aatatttatt tgttgttttt 2160

acagagaatg cacccaaatt acctcaaaaa ctactctaaa ttgacagcac agaagagaaa 2220

gatcgggacc tccacccatg cttccagcag taagcaactg aaagttgact cagttttccc 2280

agtcaaacat gtgtctccag tcactgtgaa caaagctata ttaaggtaca tcattcaagg 2340

acttcatcct ttcagcactg ttgatctgcc atcatttaaa gagctgatta gtacactgca 2400

gcctggcatt tctgtcatta caaggcctac tttacgctcc aagatagctg aagctgctct 2460

gatcatgaaa cagaaagtga ctgctgccat gagtgaagtt gaatggattg caaccacaac 2520

ggattgttgg actgcacgta gaaagtcatt cattggtgta actgctcact ggatcaaccc 2580

tggaagtctt gaaagacatt ccgctgcact tgcctgcaaa agattaatgg gctctcatac 2640

ttttgaggta ctggccagtg ccatgaatga tatccactca gagtatgaaa tacgtgacaa 2700

ggttgtttgc acaaccacag acagtggttc caactttatg aaggctttca gagtttttgg 2760

tgtggaaaac aatgatatcg agactgaggc aagaaggtgt gaaagtgatg acactgattc 2820

tgaaggctgt ggtgagggaa gtgatggtgt ggaattccaa gatgcctcac gagtcctgga 2880

ccaagacgat ggcttcgaat tccagctacc aaaacatcaa aagtgtgcct gtcacttact 2940

taacctagtc tcaagcgttg atgcccaaaa agctctctca aatgaacact acaagaaact 3000

ctacagatct gtctttggca aatgccaagc tttatggaat aaaagcagcc gatcggctct 3060

agcagctgaa gctgttgaat cagaaagccg gcttcagctt ttaaggccaa accaaacgcg 3120

gtggaattca acttttatgg ctgttgacag aattcttcaa atttgcaaag aagcaggaga 3180

aggcgcactt cggaatatat gcacctctct tgaggttcca atgtaagtgt ttttcccctc 3240

tatcgatgta aacaaatgtg ggttgttttt gtttaatact ctttgattat gctgatttct 3300

cctgtaggtt taatccagca gaaatgctgt tcttgacaga gtgggccaac acaatgcgtc 3360

cagttgcaaa agtactcgac atcttgcaag cggaaacgaa tacacagctg gggtggctgc 3420

tgcctagtgt ccatcagtta agcttgaaac ttcagcgact ccaccattct ctcaggtact 3480

gtgacccact tgtggatgcc ctacaacaag gaatccaaac acgattcaag catatgtttg 3540

aagatcctga gatcatagca gctgccatcc ttctccctaa atttcggacc tcttggacaa 3600

atgatgaaac catcataaaa cgaggtaaat gaatgcaagc aacatacact tgacgaattc 3660

taatctgggc aacctttgag ccataccaaa attattcttt tatttattta tttttgcact 3720

ttttaggaat gttatatccc atctttggct gtgatctcaa tatgaatatt gatgtaaagt 3780

attcttgcag caggttgtag ttatccctca gtgtttcttg aaaccaaact catatgtatc 3840

atatgtggtt tggaaatgca gttagatttt atgctaaaat aagggatttg catgatttta 3900

gatgtagatg actgcacgta aatgtagtta atgacaaaat ccataaaatt tgttcccagt 3960

cagaagcccc tcaaccaaac ttttctttgt gtctgctcac tgtgcttgta ggcatggact 4020

acatcagagt gcatctggag cctttggacc acaagaagga attggccaac agttcatctg 4080

atgatgaaga ttttttcgct tctttgaaac cgacaacaca tgaagccagc aaagagttgg 4140

atggatatct ggcctgtgtt tcagacacca gggagtctct gctcacgttt cctgctattt 4200

gcagcctctc tatcaagact aatacacctc ttcccgcatc ggctgcctgt gagaggcttt 4260

tcagcactgc aggattgctt ttcagcccca aaagagctag gcttgacact aacaattttg 4320

agaatcagct tctactgaag ttaaatctga ggttttacaa ctttgagtag cgtgtactgg 4380

cattagattg tctgtcttat agtttgataa ttaaatacaa acagttctaa agcaggataa 4440

aaccttgtat gcatttcatt taatgttttt tgagattaaa agcttaaaca agaatctcta 4500
gttttctttc ttgcttttac ttttacttcc ttaatactca agtacaattt taatggagta 4560
ctttttttact tttactcaag taagattcta gccagatact tttactttta attgagtaaa 4620
attttcccta agtacttgta ctttcacttg agtaaaattt ttgagtactt tttacacctc 4680
tg 4682

<210> 32

<211> 1053

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> dSaCas9

<400> 32

Met Lys Arg Asn Tyr Ile Leu Gly Leu Ala Ile Gly Ile Thr Ser Val

1 5 10 15

Gly Tyr Gly Ile Ile Asp Tyr Glu Thr Arg Asp Val Ile Asp Ala Gly
20 25 30

Val Arg Leu Phe Lys Glu Ala Asn Val Glu Asn Asn Glu Gly Arg Arg
35 40 45

Ser Lys Arg Gly Ala Arg Arg Leu Lys Arg Arg Arg Arg His Arg Ile
50 55 60

Gln Arg Val Lys Lys Leu Leu Phe Asp Tyr Asn Leu Leu Thr Asp His

65 70 75 80

Ser Glu Leu Ser Gly Ile Asn Pro Tyr Glu Ala Arg Val Lys Gly Leu
85 90 95

Ser Gln Lys Leu Ser Glu Glu Glu Phe Ser Ala Ala Leu Leu His Leu
100 105 110

Ala Lys Arg Arg Gly Val His Asn Val Asn Glu Val Glu Glu Asp Thr
115 120 125

Gly Asn Glu Leu Ser Thr Lys Glu Gln Ile Ser Arg Asn Ser Lys Ala

130 135 140

Leu Glu Glu Lys Tyr Val Ala Glu Leu Gln Leu Glu Arg Leu Lys Lys

145 150 155 160

Asp Gly Glu Val Arg Gly Ser Ile Asn Arg Phe Lys Thr Ser Asp Tyr

165 170 175

Val Lys Glu Ala Lys Gln Leu Leu Lys Val Gln Lys Ala Tyr His Gln

180 185 190

Leu Asp Gln Ser Phe Ile Asp Thr Tyr Ile Asp Leu Leu Glu Thr Arg

195 200 205

Arg Thr Tyr Tyr Glu Gly Pro Gly Glu Gly Ser Pro Phe Gly Trp Lys

210 215 220

Asp Ile Lys Glu Trp Tyr Glu Met Leu Met Gly His Cys Thr Tyr Phe

225 230 235 240

Pro Glu Glu Leu Arg Ser Val Lys Tyr Ala Tyr Asn Ala Asp Leu Tyr

245 250 255

Asn Ala Leu Asn Asp Leu Asn Asn Leu Val Ile Thr Arg Asp Glu Asn

260 265 270

Glu Lys Leu Glu Tyr Tyr Glu Lys Phe Gln Ile Ile Glu Asn Val Phe

275 280 285

Lys Gln Lys Lys Lys Pro Thr Leu Lys Gln Ile Ala Lys Glu Ile Leu

290 295 300

Val Asn Glu Glu Asp Ile Lys Gly Tyr Arg Val Thr Ser Thr Gly Lys

305 310 315 320

Pro Glu Phe Thr Asn Leu Lys Val Tyr His Asp Ile Lys Asp Ile Thr

325 330 335

Ala Arg Lys Glu Ile Ile Glu Asn Ala Glu Leu Leu Asp Gln Ile Ala

340 345 350

Lys Ile Leu Thr Ile Tyr Gln Ser Ser Glu Asp Ile Gln Glu Glu Leu

355 360 365

Thr Asn Leu Asn Ser Glu Leu Thr Gln Glu Glu Ile Glu Gln Ile Ser

370 375 380

Asn Leu Lys Gly Tyr Thr Gly Thr His Asn Leu Ser Leu Lys Ala Ile

385 390 395 400

Asn Leu Ile Leu Asp Glu Leu Trp His Thr Asn Asp Asn Gln Ile Ala
405 410 415
Ile Phe Asn Arg Leu Lys Leu Val Pro Lys Lys Val Asp Leu Ser Gln
420 425 430
Gln Lys Glu Ile Pro Thr Thr Leu Val Asp Asp Phe Ile Leu Ser Pro
435 440 445
Val Val Lys Arg Ser Phe Ile Gln Ser Ile Lys Val Ile Asn Ala Ile

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

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

580 585 590
Ser Ser Ser Asp Ser Lys Ile Ser Tyr Glu Thr Phe Lys Lys His Ile
595 600 605
Leu Asn Leu Ala Lys Gly Lys Gly Arg Ile Ser Lys Thr Lys Lys Glu
610 615 620
Tyr Leu Leu Glu Glu Arg Asp Ile Asn Arg Phe Ser Val Gln Lys Asp
625 630 635 640
Phe Ile Asn Arg Asn Leu Val Asp Thr Arg Tyr Ala Thr Arg Gly Leu

645 650 655

Met Asn Leu Leu Arg Ser Tyr Phe Arg Val Asn Asn Leu Asp Val Lys

660 665 670

Val Lys Ser Ile Asn Gly Gly Phe Thr Ser Phe Leu Arg Arg Lys Trp

675 680 685

Lys Phe Lys Lys Glu Arg Asn Lys Gly Tyr Lys His His Ala Glu Asp

690 695 700

Ala Leu Ile Ile Ala Asn Ala Asp Phe Ile Phe Lys Glu Trp Lys Lys

705 710 715 720

Leu Asp Lys Ala Lys Lys Val Met Glu Asn Gln Met Phe Glu Glu Lys

725 730 735

Gln Ala Glu Ser Met Pro Glu Ile Glu Thr Glu Gln Glu Tyr Lys Glu

740 745 750

Ile Phe Ile Thr Pro His Gln Ile Lys His Ile Lys Asp Phe Lys Asp

755 760 765

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

770 775 780

Asn Asp Thr Leu Tyr Ser Thr Arg Lys Asp Asp Lys Gly Asn Thr Leu

785 790 795 800

Ile Val Asn Asn Leu Asn Gly Leu Tyr Asp Lys Asp Asn Asp Lys Leu

805 810 815

Lys Lys Leu Ile Asn Lys Ser Pro Glu Lys Leu Leu Met Tyr His His

820 825 830

Asp Pro Gln Thr Tyr Gln Lys Leu Lys Leu Ile Met Glu Gln Tyr Gly

835 840 845

Asp Glu Lys Asn Pro Leu Tyr Lys Tyr Tyr Glu Glu Thr Gly Asn Tyr

850 855 860

Leu Thr Lys Tyr Ser Lys Lys Asp Asn Gly Pro Val Ile Lys Lys Ile

865 870 875 880

Lys Tyr Tyr Gly Asn Lys Leu Asn Ala His Leu Asp Ile Thr Asp Asp

885 890 895

Tyr Pro Asn Ser Arg Asn Lys Val Val Lys Leu Ser Leu Lys Pro Tyr

900 905 910

Arg Phe Asp Val Tyr Leu Asp Asn Gly Val Tyr Lys Phe Val Thr Val

915 920 925

Lys Asn Leu Asp Val Ile Lys Lys Glu Asn Tyr Tyr Glu Val Asn Ser

930 935 940

Lys Cys Tyr Glu Glu Ala Lys Lys Leu Lys Lys Ile Ser Asn Gln Ala

945 950 955 960

Glu Phe Ile Ala Ser Phe Tyr Asn Asn Asp Leu Ile Lys Ile Asn Gly

965 970 975

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

980 985 990

Glu Val Asn Met Ile Asp Ile Thr Tyr Arg Glu Tyr Leu Glu Asn Met

995 1000 1005

Asn Asp Lys Arg Pro Pro Arg Ile Ile Lys Thr Ile Ala Ser Lys

1010 1015 1020

Thr Gln Ser Ile Lys Lys Tyr Ser Thr Asp Ile Leu Gly Asn Leu

1025 1030 1035

Tyr Glu Val Lys Ser Lys Lys His Pro Gln Ile Ile Lys Lys Gly

1040 1045 1050

<210> 33

<211> 1368

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> dCas9 with X at position 1, X can be any amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(1)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 33

Xaa Asp Lys Lys Tyr Ser Ile Gly Leu Ala Ile Gly Thr Asn Ser Val

1 5 10 15

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

Tyr Leu Gln Glu Ile Phe Ser Asn Glu Met Ala Lys Val Asp Asp Ser
85 90 95
Phe Phe His Arg Leu Glu Glu Ser Phe Leu Val Glu Glu Asp Lys Lys
100 105 110
His Glu Arg His Pro Ile Phe Gly Asn Ile Val Asp Glu Val Ala Tyr
115 120 125
His Glu Lys Tyr Pro Thr Ile Tyr His Leu Arg Lys Lys Leu Val Asp
130 135 140

Ser Thr Asp Lys Ala Asp Leu Arg Leu Ile Tyr Leu Ala Leu Ala His
145 150 155 160
Met Ile Lys Phe Arg Gly His Phe Leu Ile Glu Gly Asp Leu Asn Pro
165 170 175
Asp Asn Ser Asp Val Asp Lys Leu Phe Ile Gln Leu Val Gln Thr Tyr
180 185 190
Asn Gln Leu Phe Glu Glu Asn Pro Ile Asn Ala Ser Gly Val Asp Ala
195 200 205

Lys Ala Ile Leu Ser Ala Arg Leu Ser Lys Ser Arg Arg Leu Glu Asn
210 215 220
Leu Ile Ala Gln Leu Pro Gly Glu Lys Lys Asn Gly Leu Phe Gly Asn
225 230 235 240
Leu Ile Ala Leu Ser Leu Gly Leu Thr Pro Asn Phe Lys Ser Asn Phe
245 250 255
Asp Leu Ala Glu Asp Ala Lys Leu Gln Leu Ser Lys Asp Thr Tyr Asp

260 265 270

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

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

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

Met Thr Arg Lys Ser Glu Glu Thr Ile Thr Pro Trp Asn Phe Glu Glu
465 470 475 480
Val Val Asp Lys Gly Ala Ser Ala Gln Ser Phe Ile Glu Arg Met Thr
485 490 495
Asn Phe Asp Lys Asn Leu Pro Asn Glu Lys Val Leu Pro Lys His Ser
500 505 510

Leu Leu Tyr Glu Tyr Phe Thr Val Tyr Asn Glu Leu Thr Lys Val Lys
515 520 525

Tyr Val Thr Glu Gly Met Arg Lys Pro Ala Phe Leu Ser Gly Glu Gln
530 535 540

Lys Lys Ala Ile Val Asp Leu Leu Phe Lys Thr Asn Arg Lys Val Thr
545 550 555 560

Val Lys Gln Leu Lys Glu Asp Tyr Phe Lys Lys Ile Glu Cys Phe Asp
565 570 575

Ser Val Glu Ile Ser Gly Val Glu Asp Arg Phe Asn Ala Ser Leu Gly
580 585 590

Thr Tyr His Asp Leu Leu Lys Ile Ile Lys Asp Lys Asp Phe Leu Asp
595 600 605

Asn Glu Glu Asn Glu Asp Ile Leu Glu Asp Ile Val Leu Thr Leu Thr
610 615 620

Leu Phe Glu Asp Arg Glu Met Ile Glu Glu Arg Leu Lys Thr Tyr Ala
625 630 635 640

His Leu Phe Asp Asp Lys Val Met Lys Gln Leu Lys Arg Arg Arg Tyr
645 650 655

Thr Gly Trp Gly Arg Leu Ser Arg Lys Leu Ile Asn Gly Ile Arg Asp
660 665 670

Lys Gln Ser Gly Lys Thr Ile Leu Asp Phe Leu Lys Ser Asp Gly Phe
675 680 685

Ala Asn Arg Asn Phe Met Gln Leu Ile His Asp Asp Ser Leu Thr Phe
690 695 700

Lys Glu Asp Ile Gln Lys Ala Gln Val Ser Gly Gln Gly Asp Ser Leu
705 710 715 720

His Glu His Ile Ala Asn Leu Ala Gly Ser Pro Ala Ile Lys Lys Gly
725 730 735

Ile Leu Gln Thr Val Lys Val Val Asp Glu Leu Val Lys Val Met Gly
740 745 750

Arg His Lys Pro Glu Asn Ile Val Ile Glu Met Ala Arg Glu Asn Gln

```
        755                 760                 765
Thr Thr Gln Lys Gly Gln Lys Asn Ser Arg Glu Arg Met Lys Arg Ile
    770                 775                 780

Glu Glu Gly Ile Lys Glu Leu Gly Ser Gln Ile Leu Lys Glu His Pro
785                 790                 795                 800
Val Glu Asn Thr Gln Leu Gln Asn Glu Lys Leu Tyr Leu Tyr Tyr Leu
                805                 810                 815
Gln Asn Gly Arg Asp Met Tyr Val Asp Gln Glu Leu Asp Ile Asn Arg
            820                 825                 830
Leu Ser Asp Tyr Asp Val Asp Ala Ile Val Pro Gln Ser Phe Leu Lys
        835                 840                 845

Asp Asp Ser Ile Asp Asn Lys Val Leu Thr Arg Ser Asp Lys Asn Arg
    850                 855                 860
Gly Lys Ser Asp Asn Val Pro Ser Glu Glu Val Val Lys Lys Met Lys
865                 870                 875                 880
Asn Tyr Trp Arg Gln Leu Leu Asn Ala Lys Leu Ile Thr Gln Arg Lys
                885                 890                 895
Phe Asp Asn Leu Thr Lys Ala Glu Arg Gly Gly Leu Ser Glu Leu Asp
            900                 905                 910

Lys Ala Gly Phe Ile Lys Arg Gln Leu Val Glu Thr Arg Gln Ile Thr
        915                 920                 925
Lys His Val Ala Gln Ile Leu Asp Ser Arg Met Asn Thr Lys Tyr Asp
    930                 935                 940
Glu Asn Asp Lys Leu Ile Arg Glu Val Lys Val Ile Thr Leu Lys Ser
945                 950                 955                 960
Lys Leu Val Ser Asp Phe Arg Lys Asp Phe Gln Phe Tyr Lys Val Arg
                965                 970                 975

Glu Ile Asn Asn Tyr His His Ala His Asp Ala Tyr Leu Asn Ala Val
            980                 985                 990
Val Gly Thr Ala Leu Ile Lys Lys  Tyr Pro Lys Leu Glu  Ser Glu Phe
        995                 1000                1005
```

Val Tyr Gly Asp Tyr Lys Val Tyr Asp Val Arg Lys Met Ile Ala
1010 1015 1020
Lys Ser Glu Gln Glu Ile Gly Lys Ala Thr Ala Lys Tyr Phe Phe
1025 1030 1035

Tyr Ser Asn Ile Met Asn Phe Phe Lys Thr Glu Ile Thr Leu Ala
1040 1045 1050
Asn Gly Glu Ile Arg Lys Arg Pro Leu Ile Glu Thr Asn Gly Glu
1055 1060 1065
Thr Gly Glu Ile Val Trp Asp Lys Gly Arg Asp Phe Ala Thr Val
1070 1075 1080
Arg Lys Val Leu Ser Met Pro Gln Val Asn Ile Val Lys Lys Thr
1085 1090 1095

Glu Val Gln Thr Gly Gly Phe Ser Lys Glu Ser Ile Leu Pro Lys
1100 1105 1110
Arg Asn Ser Asp Lys Leu Ile Ala Arg Lys Lys Asp Trp Asp Pro
1115 1120 1125
Lys Lys Tyr Gly Gly Phe Asp Ser Pro Thr Val Ala Tyr Ser Val
1130 1135 1140
Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys Lys Leu Lys
1145 1150 1155

Ser Val Lys Glu Leu Leu Gly Ile Thr Ile Met Glu Arg Ser Ser
1160 1165 1170
Phe Glu Lys Asn Pro Ile Asp Phe Leu Glu Ala Lys Gly Tyr Lys
1175 1180 1185
Glu Val Lys Lys Asp Leu Ile Ile Lys Leu Pro Lys Tyr Ser Leu
1190 1195 1200
Phe Glu Leu Glu Asn Gly Arg Lys Arg Met Leu Ala Ser Ala Gly
1205 1210 1215

Glu Leu Gln Lys Gly Asn Glu Leu Ala Leu Pro Ser Lys Tyr Val
1220 1225 1230
Asn Phe Leu Tyr Leu Ala Ser His Tyr Glu Lys Leu Lys Gly Ser

1235 1240 1245

Pro Glu Asp Asn Glu Gln Lys Gln Leu Phe Val Glu Gln His Lys

1250 1255 1260

His Tyr Leu Asp Glu Ile Ile Glu Gln Ile Ser Glu Phe Ser Lys

1265 1270 1275

Arg Val Ile Leu Ala Asp Ala Asn Leu Asp Lys Val Leu Ser Ala

1280 1285 1290

Tyr Asn Lys His Arg Asp Lys Pro Ile Arg Glu Gln Ala Glu Asn

1295 1300 1305

Ile Ile His Leu Phe Thr Leu Thr Asn Leu Gly Ala Pro Ala Ala

1310 1315 1320

Phe Lys Tyr Phe Asp Thr Thr Ile Asp Arg Lys Arg Tyr Thr Ser

1325 1330 1335

Thr Lys Glu Val Leu Asp Ala Thr Leu Ile His Gln Ser Ile Thr

1340 1345 1350

Gly Leu Tyr Glu Thr Arg Ile Asp Leu Ser Gln Leu Gly Gly Asp

1355 1360 1365

<210> 34

<211> 199

<212> PRT

<213> Clostridium sp. 7_2_43FAA

<400> 34

Glu Gly Ile Lys Ser Asn Ile Ser Leu Leu Lys Asp Glu Leu Arg Gly

1 5 10 15

Gln Ile Ser His Ile Ser His Glu Tyr Leu Ser Leu Ile Asp Leu Ala

20 25 30

Phe Asp Ser Lys Gln Asn Arg Leu Phe Glu Met Lys Val Leu Glu Leu

35 40 45

Leu Val Asn Glu Tyr Gly Phe Lys Gly Arg His Leu Gly Gly Ser Arg

50 55 60

Lys Pro Asp Gly Ile Val Tyr Ser Thr Thr Leu Glu Asp Asn Phe Gly

65 70 75 80

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

85 90 95

Ser Gln Ala Asp Glu Met Glu Arg Tyr Val Arg Glu Asn Ser Asn Arg

100 105 110

Asp Glu Glu Val Asn Pro Asn Lys Trp Trp Glu Asn Phe Ser Glu Glu

115 120 125

Val Lys Lys Tyr Tyr Phe Val Phe Ile Ser Gly Ser Phe Lys Gly Lys

130 135 140

Phe Glu Glu Gln Leu Arg Arg Leu Ser Met Thr Thr Gly Val Asn Gly

145 150 155 160

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

165 170 175

Ser Gly Glu Met Thr Ile Glu Glu Leu Glu Arg Ala Met Phe Asn Asn

180 185 190

Ser Glu Phe Ile Leu Lys Tyr

195

<210> 35

<211> 4897

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PB-EF1a vector

<400> 35

tgtacataga ttaaccctag aaagataatc atattgtgac gtacgttaaa gataatcatg 60

cgtaaaattg acgcatgtgt tttatcggtc tgtatatcga ggtttattta ttaatttgaa 120

tagatattaa gttttattat atttacactt acatactaat aataaattca acaaacaatt 180

tatttatgtt tatttattta ttaaaaaaaa acaaaaactc aaaatttctt ctataaagta 240

acaaaacttt tatcgaatac ctgcagcccg ggggatgcag agggacagcc ccccccaaa 300

gcccccaggg atgtaattac gtccctcccc cgctaggggg cagcagcgag ccgcccgggg 360

ctccgctccg gtccggcgct cccccgcat ccccgagccg gcagcgtgcg gggacagccc 420

gggcacgggg aaggtggcac gggatcgctt tcctctgaac gcttctcgct gctctttgag 480

cctgcagaca cctgggggga tacggggaaa agttgactgt gcctttcgat cgaaccatgg 540

acagttagct ttgcaaagat ggataaagtt ttaaacagag aggaatcttt gcagctaatg 600

gaccttctag gtcttgaaag gagtgggaat tggctccggt gcccgtcagt gggcagagcg 660

cacatcgccc acagtccccg agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa ccggtgccta 720

gagaaggtgg cgcggggtaa actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttttcc 780

cgagggtggg ggagaaccgt atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa 840

cgggtttgcc gccagaacac aggtaagtgc cgtgtgtggt tcccgcgggc ctggcctctt 900

tacgggttat ggcccttgcg tgccttgaat tacttccacc tggctgcagt acgtgattct 960

tgatcccgag cttcgggttg gaagtgggtg ggagagttcg aggccttgcg cttaaggagc 1020

cccttcgcct cgtgcttgag ttgaggcctg gcctgggcgc tggggccgcc gcgtgcgaat 1080

ctggtggcac cttcgcgcct gtctcgctgc tttcgataag tctctagcca tttaaaattt 1140

ttgatgacct gctgcgacgc tttttttctg gcaagatagt cttgtaaatg cgggccaaga 1200

tctgcacact ggtatttcgg tttttggggc cgcgggcggc gacggggccc gtgcgtccca 1260

gcgcacatgt tcggcgaggc ggggcctgcg agcgcggcca ccgagaatcg gacgggggta 1320

gtctcaagct ggccggcctg ctctggtgcc tggcctcgcg ccgccgtgta tcgccccgcc 1380

ctgggcggca aggctggccc ggtcggcacc agttgcgtga gcggaaagat ggccgcttcc 1440

cggccctgct gcagggagct caaaatggag gacgcggcgc tcgggagagc gggcgggtga 1500

gtcacccaca caaaggaaaa gggcctttcc gtcctcagcc gtcgcttcat gtgactccac 1560

ggagtaccgg gcgccgtcca ggcacctcga ttagttctcg agcttttgga gtacgtcgtc 1620

tttaggttgg ggggaggggt tttatgcgat ggagtttccc cacactgagt gggtggagac 1680

tgaagttagg ccagcttggc acttgatgta attctccttg gaatttgccc tttttgagtt 1740

tggatcttgg ttcattctca agcctcagac agtggttcaa agtttttttc ttccatttca 1800

ggtgtcgtga gaattctaat acgactcact atagggtgtg ctgtctcatc attttggcaa 1860

agattggcca ccaagcttgt cctgcaggag ggtcgacgcc tctagacggg cggccgctcc 1920

ggatccacgg gtaccgatca catatgcctt taattaaaca ctagttctat agtgtcacct 1980

aaattccctt tagtgagggt taatggccgt aggccgccag aattgggtcc agacatgata 2040

agatacattg atgagtttgg acaaaccaca actagaatgc agtgaaaaaa atgctttatt 2100

tgtgaaattt gtgatgctat tgctttattt gtaaccatta taagctgcaa taaacaagtt 2160

aacaacaaca attgcattca ttttatgttt caggttcagg gggaggtgtg ggaggttttt 2220

tcggactcta ggacctgcgc atgcgcttgg cgtaatcatg gtcatagctg tttcctgttt 2280

tccccgtatc cccccaggtg tctgcaggct caaagagcag cgagaagcgt tcagaggaaa 2340

gcgatcccgt gccaccttcc ccgtgcccgg gctgtccccg cacgctgccg gctcggggat 2400

gcgggggggag cgccggaccg gagcggagcc ccgggcggct cgctgctgcc ccctagcggg 2460

ggagggacgt aattacatcc ctgggggctt tgggggggggg ctgtccctct caccgcggtg 2520

gagctccagc ttttgttcga attggggccc cccctcgagg gtatcgatga tatctataac 2580

aagaaaatat atatataata agttatcacg taagtagaac atgaaataac aatataatta 2640

tcgtatgagt taaatcttaa aagtcacgta aaagataatc atgcgtcatt ttgactcacg 2700

cggtcgttat agttcaaaat cagtgacact taccgcattg acaagcacgc ctcacgggag 2760

ctccaagcgg cgactgagat gtcctaaatg cacagcgacg gattcgcgct atttagaaag 2820

agagagcaat atttcaagaa tgcatgcgtc aattttacgc agactatctt tctagggtta 2880

atctagctag ccttaagggc gcctattgcg ttgcgctcac tgcccgcttt ccagtcggga 2940

aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg cggtttgcgt 3000

attgggcgct cttccgcttc ctcgctcact gactcgctgc gctcggtcgt tcggctgcgg 3060

cgagcggtat cagctcactc aaaggcggta atacggttat ccacagaatc aggggataac 3120

gcaggaaaga acatgaccaa aatcccttaa cgtgagtttt cgttccactg agcgtcagac 3180

cccgtagaaa agatcaaagg atcttcttga gatccttttt ttctgcgcgt aatctgctgc 3240

ttgcaaacaa aaaaaccacc gctaccagcg gtggtttgtt tgccggatca agagctacca 3300

actcttttc cgaaggtaac tggcttcagc agagcgcaga taccaaatac tgttcttcta 3360

gtgtagccgt agttaggcca ccacttcaag aactctgtag caccgcctac atacctcgct 3420

ctgctaatcc tgttaccagt ggctgctgcc agtggcgata agtcgtgtct taccgggttg 3480

gactcaagac gatagttacc ggataaggcg cagcggtcgg gctgaacggg gggttcgtgc 3540

acacagccca gcttggagcg aacgacctac accgaactga gatacctaca gcgtgagcta 3600

tgagaaagcg ccacgcttcc cgaagggaga aaggcggaca ggtatccggt aagcggcagg 3660

gtcggaacag gagagcgcac gagggagctt ccagggggaa acgcctggta tctttatagt 3720

cctgtcgggt ttcgccacct ctgacttgag cgtcgatttt tgtgatgctc gtcaggggggg 3780

cggagcctat ggaaaaacgc cagcaacgcg gccttttac ggttcctggc cttttgctgg 3840

cctttgctc acatgagatt atcaaaaagg atcttcacct agatcctttt aaattaaaaa 3900

tgaagtttta aatcaatcta aagtatatat gagtaaactt ggtctgacag tcagaagaac 3960

tcgtcaagaa ggcgatagaa ggcgatgcgc tgcgaatcgg gagcggcgat accgtaaagc 4020

acgaggaagc ggtcagccca ttcgccgcca agctcttcag caatatcacg ggtagccaac 4080

gctatgtcct gatagcggtc cgccacaccc agccggccac agtcgatgaa tccagaaaag 4140

cggccatttt ccaccatgat attcggcaag caggcatcgc catgggtcac gacgagatcc 4200

tcgccgtcgg gcatgctcgc cttgagcctg gcgaacagtt cggctggcgc gagcccctga 4260

tgctcttcgt ccagatcatc ctgatcgaca agaccggctt ccatccgagt acgtgctcgc 4320
tcgatgcgat gtttcgcttg gtggtcgaat gggcaggtag ccggatcaag cgtatgcagc 4380
cgccgcattg catcagccat gatggatact ttctcggcag gagcaaggtg agatgacagg 4440
agatcctgcc ccggcacttc gcccaatagc agccagtccc ttcccgcttc agtgacaacg 4500
tcgagcacag ctgcgcaagg aacgcccgtc gtggccagcc acgatagccg cgctgcctcg 4560
tcttgcagtt cattcagggc accggacagg tcggtcttga caaaaagaac cgggcgcccc 4620
tgcgctgaca gccggaacac ggcggcatca gagcagccga ttgtctgttg tgcccagtca 4680

tagccgaata gcctctccac ccaagcggcc ggagaacctg cgtgcaatcc atcttgttca 4740
atcataatat tattgaagca tttatcaggg ttcgtctcgt cccggtctcc tcccaatgca 4800
tgtcaatatt ggccattagc catattattc attggttata tagcataaat caatattggc 4860
tattggccat tgcatacgtt gtatctatat cataata 4897

<210> 36
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> EF1a-2r primer
<400> 36
caccggagcc aattcccact 20

<210> 37
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> AAVS-3r primer
<400> 37
ctgcaccacg tgatgtcctc 20

<210> 38
<211> 28
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> SV40pA-1r primer
<400> 38

gtaaccatta taagctgcaa taaacaag 28

<210> 39

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> AAVS-2f primer

<400> 39

ctggggactc tttaaggaaa gaag 24

<210> 40

<211> 1591

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> dCas9-Clo051

<400> 40

Met Ala Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Glu Gly Ile Lys Ser Asn Ile
1 5 10 15

Ser Leu Leu Lys Asp Glu Leu Arg Gly Gln Ile Ser His Ile Ser His
20 25 30

Glu Tyr Leu Ser Leu Ile Asp Leu Ala Phe Asp Ser Lys Gln Asn Arg
35 40 45

Leu Phe Glu Met Lys Val Leu Glu Leu Leu Val Asn Glu Tyr Gly Phe

50 55 60

Lys Gly Arg His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ile Val Tyr
65 70 75 80

Ser Thr Thr Leu Glu Asp Asn Phe Gly Ile Ile Val Asp Thr Lys Ala
85 90 95

Tyr Ser Glu Gly Tyr Ser Leu Pro Ile Ser Gln Ala Asp Glu Met Glu
100 105 110

Arg Tyr Val Arg Glu Asn Ser Asn Arg Asp Glu Glu Val Asn Pro Asn

115 120 125

Lys Trp Trp Glu Asn Phe Ser Glu Glu Val Lys Lys Tyr Tyr Phe Val
130 135 140

Phe Ile Ser Gly Ser Phe Lys Gly Lys Phe Glu Glu Gln Leu Arg Arg
145 150 155 160
Leu Ser Met Thr Thr Gly Val Asn Gly Ser Ala Val Asn Val Val Asn
165 170 175
Leu Leu Leu Gly Ala Glu Lys Ile Arg Ser Gly Glu Met Thr Ile Glu

180 185 190
Glu Leu Glu Arg Ala Met Phe Asn Asn Ser Glu Phe Ile Leu Lys Tyr
195 200 205
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Lys Lys Tyr Ser Ile Gly Leu Ala Ile Gly
210 215 220
Thr Asn Ser Val Gly Trp Ala Val Ile Thr Asp Glu Tyr Lys Val Pro
225 230 235 240
Ser Lys Lys Phe Lys Val Leu Gly Asn Thr Asp Arg His Ser Ile Lys

245 250 255
Lys Asn Leu Ile Gly Ala Leu Leu Phe Asp Ser Gly Glu Thr Ala Glu
260 265 270
Ala Thr Arg Leu Lys Arg Thr Ala Arg Arg Arg Tyr Thr Arg Arg Lys
275 280 285
Asn Arg Ile Cys Tyr Leu Gln Glu Ile Phe Ser Asn Glu Met Ala Lys
290 295 300
Val Asp Asp Ser Phe Phe His Arg Leu Glu Glu Ser Phe Leu Val Glu

305 310 315 320
Glu Asp Lys Lys His Glu Arg His Pro Ile Phe Gly Asn Ile Val Asp
325 330 335
Glu Val Ala Tyr His Glu Lys Tyr Pro Thr Ile Tyr His Leu Arg Lys
340 345 350
Lys Leu Val Asp Ser Thr Asp Lys Ala Asp Leu Arg Leu Ile Tyr Leu
355 360 365
Ala Leu Ala His Met Ile Lys Phe Arg Gly His Phe Leu Ile Glu Gly

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

385 390 395 400

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

405 410 415

Gly Val Asp Ala Lys Ala Ile Leu Ser Ala Arg Leu Ser Lys Ser Arg

420 425 430

Arg Leu Glu Asn Leu Ile Ala Gln Leu Pro Gly Glu Lys Lys Asn Gly

435 440 445

Leu Phe Gly Asn Leu Ile Ala Leu Ser Leu Gly Leu Thr Pro Asn Phe

450 455 460

Lys Ser Asn Phe Asp Leu Ala Glu Asp Ala Lys Leu Gln Leu Ser Lys

465 470 475 480

Asp Thr Tyr Asp Asp Asp Leu Asp Asn Leu Leu Ala Gln Ile Gly Asp

485 490 495

Gln Tyr Ala Asp Leu Phe Leu Ala Ala Lys Asn Leu Ser Asp Ala Ile

500 505 510

Leu Leu Ser Asp Ile Leu Arg Val Asn Thr Glu Ile Thr Lys Ala Pro

515 520 525

Leu Ser Ala Ser Met Ile Lys Arg Tyr Asp Glu His His Gln Asp Leu

530 535 540

Thr Leu Leu Lys Ala Leu Val Arg Gln Gln Leu Pro Glu Lys Tyr Lys

545 550 555 560

Glu Ile Phe Phe Asp Gln Ser Lys Asn Gly Tyr Ala Gly Tyr Ile Asp

565 570 575

Gly Gly Ala Ser Gln Glu Glu Phe Tyr Lys Phe Ile Lys Pro Ile Leu

580 585 590

Glu Lys Met Asp Gly Thr Glu Glu Leu Leu Val Lys Leu Asn Arg Glu

595 600 605

Asp Leu Leu Arg Lys Gln Arg Thr Phe Asp Asn Gly Ser Ile Pro His

610 615 620

Gln Ile His Leu Gly Glu Leu His Ala Ile Leu Arg Arg Gln Glu Asp

625 630 635 640

Phe Tyr Pro Phe Leu Lys Asp Asn Arg Glu Lys Ile Glu Lys Ile Leu
645 650 655
Thr Phe Arg Ile Pro Tyr Tyr Val Gly Pro Leu Ala Arg Gly Asn Ser
660 665 670
Arg Phe Ala Trp Met Thr Arg Lys Ser Glu Glu Thr Ile Thr Pro Trp
675 680 685
Asn Phe Glu Glu Val Val Asp Lys Gly Ala Ser Ala Gln Ser Phe Ile

690 695 700
Glu Arg Met Thr Asn Phe Asp Lys Asn Leu Pro Asn Glu Lys Val Leu
705 710 715 720
Pro Lys His Ser Leu Leu Tyr Glu Tyr Phe Thr Val Tyr Asn Glu Leu
725 730 735
Thr Lys Val Lys Tyr Val Thr Glu Gly Met Arg Lys Pro Ala Phe Leu
740 745 750
Ser Gly Glu Gln Lys Lys Ala Ile Val Asp Leu Leu Phe Lys Thr Asn

755 760 765
Arg Lys Val Thr Val Lys Gln Leu Lys Glu Asp Tyr Phe Lys Lys Ile
770 775 780
Glu Cys Phe Asp Ser Val Glu Ile Ser Gly Val Glu Asp Arg Phe Asn
785 790 795 800
Ala Ser Leu Gly Thr Tyr His Asp Leu Leu Lys Ile Ile Lys Asp Lys
805 810 815
Asp Phe Leu Asp Asn Glu Glu Asn Glu Asp Ile Leu Glu Asp Ile Val

820 825 830
Leu Thr Leu Thr Leu Phe Glu Asp Arg Glu Met Ile Glu Glu Arg Leu
835 840 845
Lys Thr Tyr Ala His Leu Phe Asp Asp Lys Val Met Lys Gln Leu Lys
850 855 860
Arg Arg Arg Tyr Thr Gly Trp Gly Arg Leu Ser Arg Lys Leu Ile Asn
865 870 875 880
Gly Ile Arg Asp Lys Gln Ser Gly Lys Thr Ile Leu Asp Phe Leu Lys

885 890 895

Ser Asp Gly Phe Ala Asn Arg Asn Phe Met Gln Leu Ile His Asp Asp

900 905 910

Ser Leu Thr Phe Lys Glu Asp Ile Gln Lys Ala Gln Val Ser Gly Gln

915 920 925

Gly Asp Ser Leu His Glu His Ile Ala Asn Leu Ala Gly Ser Pro Ala

930 935 940

Ile Lys Lys Gly Ile Leu Gln Thr Val Lys Val Val Asp Glu Leu Val

945 950 955 960

Lys Val Met Gly Arg His Lys Pro Glu Asn Ile Val Ile Glu Met Ala

965 970 975

Arg Glu Asn Gln Thr Thr Gln Lys Gly Gln Lys Asn Ser Arg Glu Arg

980 985 990

Met Lys Arg Ile Glu Glu Gly Ile Lys Glu Leu Gly Ser Gln Ile Leu

995 1000 1005

Lys Glu His Pro Val Glu Asn Thr Gln Leu Gln Asn Glu Lys Leu

1010 1015 1020

Tyr Leu Tyr Tyr Leu Gln Asn Gly Arg Asp Met Tyr Val Asp Gln

1025 1030 1035

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

1040 1045 1050

Val Pro Gln Ser Phe Leu Lys Asp Asp Ser Ile Asp Asn Lys Val

1055 1060 1065

Leu Thr Arg Ser Asp Lys Asn Arg Gly Lys Ser Asp Asn Val Pro

1070 1075 1080

Ser Glu Glu Val Val Lys Lys Met Lys Asn Tyr Trp Arg Gln Leu

1085 1090 1095

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

1100 1105 1110

Lys Ala Glu Arg Gly Gly Leu Ser Glu Leu Asp Lys Ala Gly Phe

1115 1120 1125

Ile Lys Arg Gln Leu Val Glu Thr Arg Gln Ile Thr Lys His Val

1130 1135 1140

Ala Gln Ile Leu Asp Ser Arg Met Asn Thr Lys Tyr Asp Glu Asn

1145 1150 1155

Asp Lys Leu Ile Arg Glu Val Lys Val Ile Thr Leu Lys Ser Lys

1160 1165 1170

Leu Val Ser Asp Phe Arg Lys Asp Phe Gln Phe Tyr Lys Val Arg

1175 1180 1185

Glu Ile Asn Asn Tyr His His Ala His Asp Ala Tyr Leu Asn Ala

1190 1195 1200

Val Val Gly Thr Ala Leu Ile Lys Lys Tyr Pro Lys Leu Glu Ser

1205 1210 1215

Glu Phe Val Tyr Gly Asp Tyr Lys Val Tyr Asp Val Arg Lys Met

1220 1225 1230

Ile Ala Lys Ser Glu Gln Glu Ile Gly Lys Ala Thr Ala Lys Tyr

1235 1240 1245

Phe Phe Tyr Ser Asn Ile Met Asn Phe Phe Lys Thr Glu Ile Thr

1250 1255 1260

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

1265 1270 1275

Gly Glu Thr Gly Glu Ile Val Trp Asp Lys Gly Arg Asp Phe Ala

1280 1285 1290

Thr Val Arg Lys Val Leu Ser Met Pro Gln Val Asn Ile Val Lys

1295 1300 1305

Lys Thr Glu Val Gln Thr Gly Gly Phe Ser Lys Glu Ser Ile Leu

1310 1315 1320

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

1325 1330 1335

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

1340 1345 1350

Ser Val Leu Val Val Ala Lys Val Glu Lys Gly Lys Ser Lys Lys

1355 1360 1365

Leu Lys Ser Val Lys Glu Leu Leu Gly Ile Thr Ile Met Glu Arg

1370 1375 1380

Ser Ser Phe Glu Lys Asn Pro Ile Asp Phe Leu Glu Ala Lys Gly

1385 1390 1395

Tyr Lys Glu Val Lys Lys Asp Leu Ile Ile Lys Leu Pro Lys Tyr

1400 1405 1410

Ser Leu Phe Glu Leu Glu Asn Gly Arg Lys Arg Met Leu Ala Ser

1415 1420 1425

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

1430 1435 1440

Tyr Val Asn Phe Leu Tyr Leu Ala Ser His Tyr Glu Lys Leu Lys

1445 1450 1455

Gly Ser Pro Glu Asp Asn Glu Gln Lys Gln Leu Phe Val Glu Gln

1460 1465 1470

His Lys His Tyr Leu Asp Glu Ile Ile Glu Gln Ile Ser Glu Phe

1475 1480 1485

Ser Lys Arg Val Ile Leu Ala Asp Ala Asn Leu Asp Lys Val Leu

1490 1495 1500

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

1505 1510 1515

Glu Asn Ile Ile His Leu Phe Thr Leu Thr Asn Leu Gly Ala Pro

1520 1525 1530

Ala Ala Phe Lys Tyr Phe Asp Thr Thr Ile Asp Arg Lys Arg Tyr

1535 1540 1545

Thr Ser Thr Lys Glu Val Leu Asp Ala Thr Leu Ile His Gln Ser

1550 1555 1560

Ile Thr Gly Leu Tyr Glu Thr Arg Ile Asp Leu Ser Gln Leu Gly

1565 1570 1575

Gly Asp Gly Ser Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ser Ser

1580 1585 1590

<210> 41

<211> 4073

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> pHR-GFP- selection gene plasmid

<400> 41

ggggccacta gggacaggat cggcgtcttc actcgctggg ttccctttc cttctccttc 60

tggggcctgt gccatctctc gtttcttagg atggccttct ccgacggatg tctcccttgc 120

gtcccgcctc cccttcttgt aggcctgcat catcaccgtt tttctggaca accccaaagt 180

accccgtctc cctggcttta gccacctctc catcctcttg ctttctttgc ctggacaccc 240

cgttctcctg tggattcggg tcacctctca ctcctttcat ttgggcagct cccctacccc 300

ccttacctct ctagtctgtg ctagctcttc cagccccctg tcatggcatc ttccaggggt 360

ccgagagctc agctagtctt cttcctccaa cccgggcccc tatgtccact tcaggacagc 420

atgtttgctg cctccaggga tcctgtgtcc ccgagctggg accaccttat attcccaggg 480

ccggttaatg tggctctggt tctgggtact tttatctgtc ccgacgtccg atcgaaccat 540

ggacagttag ctttgcaaag atggataaag ttttaaacag agaggaatct ttgcagctaa 600

tggaccttct aggtcttgaa aggagtggga attggctccg gtgcccgtca gtgggcagag 660

cgcacatcgc ccacagtccc cgagaagttg gggggagggg tcggcaattg aaccggtgcc 720

tagagaaggt ggcgcggggt aaactgggaa agtgatgtcg tgtactggct ccgccttttt 780

cccgagggtg ggggagaacc gtatataagt gcagtagtcg ccgtgaacgt tctttttcgc 840

aacgggtttg ccgccagaac acaggtaagt gccgtgtgtg gttcccgcgg gcctggcctc 900

tttacgggtt atggcccttg cgtgccttga attacttcca cctggctgca gtacgtgatt 960

cttgatcccg agcttcgggt tggaagtggg tgggagagtt cgaggccttg cgcttaagga 1020

gccccttcgc ctcgtgcttg agttgaggcc tggcctgggc gctggggccg ccgcgtgcga 1080

atctggtggc accttcgcgc ctgtctcgct gctttcgata agtctctagc catttaaaat 1140

ttttgatgac ctgctgcgac gctttttttc tggcaagata gtcttgtaaa tgcgggccaa 1200

gatctgcaca ctggtatttc ggtttttggg gccgcgggcg gcgacggggc ccgtgcgtcc 1260

cagcgcacat gttcggcgag gcggggcctg cgagcgcggc caccgagaat cggacggggg 1320

tagtctcaag ctggccggcc tgctctggtg cctggcctcg cgccgccgtg tatcgccccg 1380

ccctgggcgg caaggctggc ccggtcggca ccagttgcgt gagcggaaag atggccgctt 1440

cccggccctg ctgcagggag ctcaaaatgg aggacgcggc gctcgggaga gcgggcgggt 1500

gagtcaccca cacaaaggaa aagggccttt ccgtcctcag ccgtcgcttc atgtgactcc 1560

acggagtacc gggcgccgtc caggcacctc gattagttct cgagcttttg gagtacgtcg 1620

tctttaggtt ggggggaggg gttttatgcg atggagtttc cccacactga gtgggtggag 1680

actgaagtta ggccagcttg gcacttgatg taattctcct tggaatttgc ccttttgag 1740

tttggatctt ggttcattct caagcctcag acagtggttc aaagtttttt tcttccattt 1800

caggtgtcgt gagaattcta atacgactca ctatagggtg tgctgtctca tcattttggc 1860

aaagattggc caccaagctt accgccatgg tgagcaaggg cgaggagctg ttcaccgggg 1920

tggtgcccat cctggtcgag ctggacggcg acgtaaacgg ccacaagttc agcgtgtccg 1980

gcgagggcga gggcgatgcc acctacggca agctgaccct gaagttcatc tgcaccaccg 2040

gcaagctgcc cgtgccctgg cccaccctcg tgaccaccct gacctacggc gtgcagtgct 2100

tcagccgcta ccccgaccac atgaagcagc acgacttctt caagtccgcc atgcccgaag 2160

gctacgtcca ggagcgcacc atcttcttca aggacgacgg caactacaag acccgcgccg 2220

aggtgaagtt cgagggcgac accctggtga accgcatcga gctgaagggc atcgacttca 2280

aggaggacgg caacatcctg gggcacaagc tggagtacaa ctacaacagc cacaacgtct 2340

atatcatggc cgacaagcag aagaacggca tcaaggtgaa cttcaagatc cgccacaaca 2400

tcgaggacgg cagcgtgcag ctcgccgacc actaccagca gaacaccccc atcggcgacg 2460

gccccgtgct gctgcccgac aaccactacc tgagcaccca gtccgccctg agcaaagacc 2520

ccaacgagaa gcgtgatcac atggtcctgc tggagttcgt gaccgccgcc gggatcactc 2580

tcggcatgga cgagctgtac aaggaaggaa gaggcagcct gctgacatgt ggcgacgtgg 2640

aggagaaccc tggcccaatg gtgggcagcc tgaattgtat cgtggccgtg tcccagaaca 2700

tgggcatcgg caagaatggc gattttcctt ggccccctct gagaaatgag tccagatact 2760

ttcagaggat gaccacaacc agctccgtgg agggcaagca gaacctggtc atcatgggca 2820

agaagacatg gttctctatc ccagagaaga accgcccccct gaagggccgg atcaatctgg 2880

tgctgagcag ggagctgaag gagccacccc agggagcaca ctttctgtcc aggtctctgg 2940

acgatgccct gaagctgacc gagcagcctg agctggccaa caaggtggac atggtgtgga 3000

tcgtgggcgg ctctagcgtg tataaggagg ccatgaatca ccctggccac ctgaagctgt 3060

tcgtgacacg gatcatgcag gactttgagt ccgatacctt ctttccagag atcgacctgg 3120

agaagtacaa gctgctgccc gagtatcctg gcgtgctgtc tgatgtgcag gaggagaagg 3180

gcatcaagta caagttcgag gtgtatgaga agaacgattg ataacatatg cctttaatta 3240

aacactagtt ctatagtgtc acctaaattc cctttagtga gggttaatgg ccgtaggccg 3300

ccagaattgg gtccagacat gataagatac attgatgagt ttggacaaac cacaactaga 3360

atgcagtgaa aaaaatgctt tatttgtgaa atttgtgatg ctattgcttt atttgtaacc 3420

attataagct gcaataaaca agttaacaac aacaattgca ttcattttat gtttcaggtt 3480

caggggggagg tgtgggaggt tttttcggac tctaggacct gcgcatgcgc ttggggtacc 3540

taggatatcg acagaaaagc cccatcctta ggcctcctcc ttcctagtct cctgatattg 3600

ggtctaaccc ccacctcctg ttaggcagat tccttatctg gtgacacacc cccatttcct 3660

ggagccatct ctctccttgc cagaacctct aaggtttgct tacgatggag ccagagagga 3720

tcctgggagg gagagcttgg caggggggtgg gagggaaggg ggggatgcgt gacctgcccg 3780

gttctcagtg gccaccctgc gctaccctct cccagaacct gagctgctct gacgcggccg 3840

tctggtgcgt ttcactgatc ctggtgctgc agcttcctta cacttcccaa gaggagaagc 3900

agtttggaaa aacaaaatca gaataagttg gtcctgagtt ctaactttgg ctcttcacct 3960

ttctagtccc caatttatat tgttcctccg tgcgtcagtt ttacctgtga gataaggcca 4020

gtagccagcc ccgtcctggc agggctgtgc ctctagggac aggattggtg acg 4073

<210> 42

<211> 3089

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> pMMEJ-GFP-selection gene plasmid

<400> 42

ccaatcctgt ccctagtggc cccactgtgg ggacgtccga tcgaaccatg gacagttagc 60

tttgcaaaga tggataaagt tttaaacaga gaggaatctt tgcagctaat ggaccttcta 120

ggtcttgaaa ggagtgggaa ttggctccgg tgcccgtcag tgggcagagc gcacatcgcc 180

cacagtcccc gagaagttgg ggggaggggt cggcaattga accggtgcct agagaaggtg 240

gcgcggggta aactgggaaa gtgatgtcgt gtactggctc cgccttttc ccgagggtgg 300

gggagaaccg tatataagtg cagtagtcgc cgtgaacgtt ctttttcgca acgggtttgc 360

cgccagaaca caggtaagtg ccgtgtgtgg ttcccgcggg cctggcctct ttacgggtta 420

tggcccttgc gtgccttgaa ttacttccac ctggctgcag tacgtgattc ttgatcccga 480

gcttcgggtt ggaagtgggt gggagagttc gaggccttgc gcttaaggag ccccttcgcc 540

tcgtgcttga gttgaggcct ggcctgggcg ctggggccgc cgcgtgcgaa tctggtggca 600

ccttcgcgcc tgtctcgctg ctttcgataa gtctctagcc atttaaaatt tttgatgacc 660

tgctgcgacg ctttttttct ggcaagatag tcttgtaaat gcgggccaag atctgcacac 720

tggtatttcg gtttttgggg ccgcgggcgg cgacggggcc cgtgcgtccc agcgcacatg 780

ttcggcgagg cggggcctgc gagcgcggcc accgagaatc ggacgggggt agtctcaagc 840

tggccggcct gctctggtgc ctggcctcgc gccgccgtgt atcgccccgc cctgggcggc 900

aaggctggcc cggtcggcac cagttgcgtg agcggaaaga tggccgcttc ccggccctgc 960

tgcagggagc tcaaaatgga ggacgcggcg ctcgggagag cgggcgggtg agtcacccac 1020

acaaaggaaa agggcctttc cgtcctcagc cgtcgcttca tgtgactcca cggagtaccg 1080

ggcgccgtcc aggcacctcg attagttctc gagcttttgg agtacgtcgt ctttaggttg 1140

gggggagggg ttttatgcga tggagtttcc ccacactgag tgggtggaga ctgaagttag 1200

gccagcttgg cacttgatgt aattctcctt ggaatttgcc ctttttgagt ttggatcttg 1260

gttcattctc aagcctcaga cagtggttca aagtttttt cttccatttc aggtgtcgtg 1320

agaattctaa tacgactcac tatagggtgt gctgtctcat cattttggca aagattggcc 1380

accaagctta ccgccatggt gagcaagggc gaggagctgt tcaccggggt ggtgcccatc 1440

ctggtcgagc tggacggcga cgtaaacggc cacaagttca gcgtgtccgg cgagggcgag 1500

ggcgatgcca cctacggcaa gctgaccctg aagttcatct gcaccaccgg caagctgccc 1560

gtgccctggc ccaccctcgt gaccaccctg acctacggcg tgcagtgctt cagccgctac 1620

cccgaccaca tgaagcagca cgacttcttc aagtccgcca tgcccgaagg ctacgtccag 1680

gagcgcacca tcttcttcaa ggacgacggc aactacaaga cccgcgccga ggtgaagttc 1740

gagggcgaca ccctggtgaa ccgcatcgag ctgaagggca tcgacttcaa ggaggacggc 1800

aacatcctgg ggcacaagct ggagtacaac tacaacagcc acaacgtcta tatcatggcc 1860

gacaagcaga agaacggcat caaggtgaac ttcaagatcc gccacaacat cgaggacggc 1920

agcgtgcagc tcgccgacca ctaccagcag aacaccccca tcggcgacgg ccccgtgctg 1980

ctgcccgaca accactacct gagcacccag tccgccctga gcaaagaccc caacgagaag 2040

cgtgatcaca tggtcctgct ggagttcgtg accgccgccg ggatcactct cggcatggac 2100

gagctgtaca aggaaggaag aggcagcctg ctgacatgtg gcgacgtgga ggagaaccct 2160

ggcccaatgg tgggcagcct gaattgtatc gtggccgtgt cccagaacat gggcatcggc 2220

aagaatggcg attttccttg gcccccctctg agaaatgagt ccagatactt tcagaggatg 2280

accacaacca gctccgtgga gggcaagcag aacctggtca tcatgggcaa gaagacatgg 2340

ttctctatcc cagagaagaa ccgccccctg aagggccgga tcaatctggt gctgagcagg 2400

gagctgaagg agccacccca gggagcacac tttctgtcca ggtctctgga cgatgccctg 2460

aagctgaccg agcagcctga gctggccaac aaggtggaca tggtgtggat cgtgggcggc 2520

tctagcgtgt ataaggaggc catgaatcac cctggccacc tgaagctgtt cgtgacacgg 2580

atcatgcagg actttgagtc cgataccttc tttccagaga tcgacctgga gaagtacaag 2640

ctgctgcccg agtatcctgg cgtgctgtct gatgtgcagg aggagaaggg catcaagtac 2700

aagttcgagg tgtatgagaa gaacgattga taacatatgc ctttaattaa acactagttc 2760

tatagtgtca cctaaattcc ctttagtgag ggttaatggc cgtaggccgc cagaattggg 2820

tccagacatg ataagataca ttgatgagtt tggacaaacc acaactagaa tgcagtgaaa 2880

aaaatgcttt atttgtgaaa tttgtgatgc tattgcttta tttgtaacca ttataagctg 2940

caataaacaa gttaacaaca acaattgcat tcattttatg tttcaggttc agggggaggt 3000

gtgggaggtt ttttcggact ctaggacctg cgcatgcgct tggggtacct aggatatcgg 3060

atggggcttt tctgtcacca atcctgagg 3089