



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2024년09월23일

(11) 등록번호 10-2709329

(24) 등록일자 2024년09월19일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 15/90 (2006.01) A61K 35/17 (2015.01)

C12N 5/078 (2010.01) C12N 5/0783 (2010.01)

C12N 9/22 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12N 15/907 (2013.01)

A61K 35/17 (2023.05)

(21) 출원번호 10-2019-7013626

(22) 출원일자(국제) 2017년10월19일

심사청구일자 2020년09월25일

(85) 번역문제출일자 2019년05월10일

(65) 공개번호 10-2019-0065397

(43) 공개일자 2019년06월11일

(86) 국제출원번호 PCT/EP2017/076798

(87) 국제공개번호 WO 2018/073391

국제공개일자 2018년04월26일

(30) 우선권주장

62/410,187 2016년10월19일 미국(US)

PA201670840 2016년10월27일 덴마크(DK)

(56) 선행기술조사문헌

KR1020150029651 A

(뒷면에 계속)

전체 청구항 수 : 총 27 항

심사관 : 최성호

(54) 발명의 명칭 개선된 면역 세포들 치료를 위한 타겟인 유전자 삽입

(57) 요약

본 발명은 적응 세포 면역요법의 분야에 대한 것이다. 그것은 면역 세포들이 감염되거나 또는 악성인 세포들에 대항하여 그것들의 면역 반응을 향하게 하는 것을 돕는 외인성 코딩 서열(들)의 유전적 삽입을 제공한다. 이들 외인성 코딩 서열들은 더욱 특히 면역 세포들 활성화에 민감성인 내생 유전자 프로모터들의 전사 조절 하에 삽입된다. 이러한 방법은 더 높은 치료 가능성의 더 안전한 면역 일차(primary) 세포들의 생산을 가능하게 한다.

대표도

(52) CPC특허분류

C12N 5/0634 (2023.05)

C12N 5/0636 (2023.05)

C12N 5/0638 (2023.05)

C12N 9/22 (2013.01)

C12N 2510/00 (2013.01)

C12N 2750/14143 (2013.01)

C12N 2830/008 (2013.01)

(72) 발명자

주일러렛, 알렉산드레

미국 뉴욕 10028, 뉴욕, 82번가, 이스트 444

포이룅, 로렌

프랑스 파리 75020, 루 데 라 리유니온, 10

발통, 줄리안

미국 뉴욕 10009, 뉴욕, 이스트 12번가 아파트 #5
디 533

(56) 선행기술조사문헌

W02015136001 A1

W02016124765 A1

W02016160721 A1

Cancer Res., 75(18):3853-3864(2015.9.15.)

KR1020160030103 A

삭제

명세서

청구범위

청구항 1

세포 면역요법을 위하여 조작된 면역 세포들을 준비하는 방법으로, 상기 조작된 면역 세포들은 조작된 T 세포들 또는 NK (자연 살해(natural killer)) 세포들이고, 상기 방법은 하기 단계들을 포함하는 방법:

- 일차(primary) T 세포들 또는 NK 세포들의 군집을 제공하는 단계;
- 상기 일차 T 세포들 또는 NK 세포들의 군집 중 일부 일차 T 세포들 또는 NK 세포들 내로 하기 i) 및 ii)를 도입하는 단계;

i) 사이토카인 또는 케모카인을 코딩하기 위하여 선택된 내생 자리에서 통합되는 외인성 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 적어도 하나의 핵산으로, 이때 상기 선택된 내생 자리는 a) 또는 b)인, 적어도 하나의 핵산;

a) PD1, PDL1, TIM3, CTLA4, PPP2CA, PPP2CB, PTPN6, PTPN22, LAG3, HAVCR2, BTLA, CD160, TIGIT, CD96, CRTAM, LAIR1, SIGLEC7, SIGLEC9, CD244, TNFRSF10B, TNFRSF10A, CASP8, CASP10, CASP3, CASP6, CASP7, FADD, FAS, TGFbR, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMAD10, SKI, SKIL, TGIF1, IL10RA, IL10RB, HMOX2, IL6R, IL6ST, EIF2AK4, CSK, PAG1, SIT1, FOXP3, PRDM1, BATF, GUCY1A2, GUCY1A3, GUCY1B2, GUCY1B3, CD25, CD69, TGFb, IL-10, IL-10R, GCN2, PRDM1, DCK, HPRT, GGH 또는 CD52를 코딩하는(encoding) 내생 자리,

b) Spata6, Itga6, Rcbtb2, Cd1d1, St8sia4, Itgae, Fam214a, IL3, IL2, Ccl4, IL21, Gp49a, Nr4a3, Lilrb4, Cd200, Cdkn1a, Gzmc, Nr4a2, Cish, Ccr8, Lad1, Crabp2, Gzmb, Tbx21, Plek, Chek1, Slamf7, Zbtb32, Tigit, Lag3, Gzma, Wee1, IL12rb2, Eeal 및 Dtl로부터 선택되는 내생 자리;

ii) 상기 선택된 내생 자리를 특이적으로 타겟으로 하는 적어도 하나의 서열-특이적 뉴클레아제 시약,

이때 상기 외인성 폴리뉴클레오타이드 서열은 상기 내생 자리 내로 타겟이 된 유전자 통합에 의하여 삽입되어, 상기 외인성 폴리뉴클레오타이드 서열이 상기 자리에 존재하는 내생 프로모터의 전사 조절 하 외인성 코딩 서열을 형성하고,

이때 상기 내생 프로모터의 전사 활성은 상기 조작된 면역 세포가 활성화되면 상향조절되고,

이때 키메라 항원 수용체(CAR) 또는 변형된 TCR은 상기 조작된 T 세포들 또는 NK 세포들에서 독립적으로 발현되고 있는,

방법.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 서열-특이적 뉴클레아제 시약은 서열-특이적 엔도뉴클레아제 시약인 방법.

청구항 3

제 1항 또는 제 2항에 있어서,

상기 타겟이 된 유전자 통합은 상기 일차 T 세포들 또는 NK 세포들 내로 상동 재조합 또는 NHEJ에 의하여 작동되는 방법.

청구항 4

삭제

청구항 5

제 1항 또는 제 2항에 있어서,

상기 외인성 폴리뉴클레오타이드 서열은 IL-2, IL-12 또는 IL-15를 코드하는 방법.

청구항 6

제 2항에 있어서,

상기 서열-특이적 엔도뉴클레아제 시약은, 세포 내로 번역되는 mRNA 하, 또는 폴리펩타이드로서 전기천공에 의하여 도입되는 방법.

청구항 7

제 1항에 있어서,

상기 외인성 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산은 DNA 벡터에 포함되는 방법.

청구항 8

삭제

청구항 9

삭제

청구항 10

제 7항에 있어서,

상기 서열-특이적 뉴클레아제 시약은 서열-특이적 엔도뉴클레아제 시약이고,

상기 외인성 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 핵산 및 상기 서열-특이적 엔도뉴클레아제 시약을 코드하는 핵산은 둘 다 상기 DNA 벡터 내로 포함되는 방법.

청구항 11

삭제

청구항 12

삭제

청구항 13

제 1항 또는 제 2항에 있어서,

상기 일차 T 세포들 또는 NK 세포들 내로 도입되는 상기 외인성 폴리뉴클레오타이드 서열이, 내생 유전자의 적어도 하나의 부분과 함께 상기 외인성 코딩 서열의 전사를 가능하게 하기 위하여 2A 펩타이드를 코드하는 서열이 뒤따르거나 또는 이에 앞서는 방법.

청구항 14

제 1항 또는 제 2항에 있어서,

상기 외인성 폴리뉴클레오타이드 서열은 상기 내생 자리에 처음에 존재하는 적어도 하나의 내생 게놈 서열의 발현을 불활성화시키는 효과와 함께 도입되는 방법.

청구항 15

제 14항에 있어서,

불활성화되는 상기 내생 게놈 서열은 TGFb, TGFbR, IL-10, IL-10R, GCN2 또는 PRDM1을 코딩하는 방법.

청구항 16

제 14항에 있어서,

불활성화되는 상기 내생 게놈 서열은 PD1, PDL1, CTLA4, TIM3 또는 LAG3을 코딩하는 방법.

청구항 17

제 14항에 있어서,

불활성화되는 상기 내생 게놈 서열은 DCK, HPRT 또는 GGH를 발현시키는 방법.

청구항 18

삭제

청구항 19

제 1항 또는 제 2항의 방법에 의하여 수득가능한 조작된 면역 세포.

청구항 20

키메라 항원 수용체 또는 변형된 TCR이 주어진(endowed) 조작된 면역 세포이며, 이때 상기 조작된 면역 세포는 조작된 T 세포 또는 자연 살해(NK) 세포이고, 그리고 상기 T 세포 또는 NK 세포는 a) 또는 b)인 내생 자리에서 존재하는 내생 유전자 프로모터의 전사 조절 하 사이토카인 또는 케모카인을 코딩하는(encoding) 외인성 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 조작된 면역 세포:

a) PD1, CTLA4, PPP2CA, PPP2CB, PTPN6, PTPN22, LAG3, HAVCR2, BTLA, CD160, TIGIT, CD96, CRTAM, LAIR1, SIGLEC7, SIGLEC9, CD244, TNFRSF10B, TNFRSF10A, CASP8, CASP10, CASP3, CASP6, CASP7, FADD, FAS, TGFBR1I, TGFBR1, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMAD10, SKI, SKIL, TGIF1, IL10RA, IL10RB, HMOX2, IL6R, IL6ST, EIF2AK4, CSK, PAG1, SIT1, FOXP3, PRDM1, BATF, GUCY1A2, GUCY1A3, GUCY1B2, GUCY1B3, CD25, CD69, TGFb, IL-10, IL-10R, GCN2, PRDM1, DCK, HPRT, GGH 또는 CD52를 코딩하는 내생 자리,

b) Spata6, Itga6, Rcbtb2, Cd1d1, St8sia4, Itgae, Fam214a, IL3, IL2, Ccl4, IL21, Gp49a, Nr4a3, Lilrb4, Cd200, Cdkn1a, Gzmc, Nr4a2, Cish, Ccr8, Lad1, Crabp2, Gzmb, Tbx21, Plek, Chek1, Slamf7, Zbtb32, Tigit, Lag3, Gzma, Weel, IL12rb2, Eeal 및 Dtl로부터 선택되는 내생 자리.

청구항 21

제 20항에 있어서,

상기 T 세포 또는 NK 세포는 각각 일차(primary) T-세포 또는 NK-세포인, 조작된 면역 세포.

청구항 22

제 20항에 있어서,

상기 내생 자리는 TGFb, IL-10, IL-10R, GCN2 또는 PRDM1을 코딩하는, 조작된 면역 세포.

청구항 23

제 20항에 있어서,

상기 내생 자리는 PD1, CTLA4, 또는 LAG3를 코딩하는, 조작된 면역 세포.

청구항 24

제 20항에 있어서,

상기 내생 자리는 DCK, HPRT 또는 GGH를 발현하는, 조작된 면역 세포.

청구항 25

제 20항에 있어서,

상기 세포는 TCR 자리(locus)에서 CAR를 코딩하는 첫 번째 외인성 폴리뉴클레오타이드 서열을 발현시키고, 이로써 TCR 발현을 방해하고(disrupting), PD1, CD25, CD71 또는 CD69로부터 선택된 내생 자리의 전사 활성 하 두 번째 외인성 폴리뉴클레오타이드 서열을 발현시키는, 조작된 면역 세포.

청구항 26

제 20항에 있어서,

상기 내생 유전자 프로모터의 상기 전사 조절은 상기 키메라 항원 수용체 (CAR)의 신호 활성화에 반응성인, 조작된 면역 세포.

청구항 27

적어도 30 %의 제 20항에 따른 세포들을 포함하는, 면역 세포들의 군집.

청구항 28

적어도 50 %의 제 20항에 따른 세포들을 포함하는 면역 세포들의 군집.

청구항 29

적어도 80 %의 제 20항에 따른 세포들을 포함하는 면역 세포들의 군집.

청구항 30

제 27항에 있어서,

상기 면역 세포들의 50% 초과가 TCR 음성(negative) T-세포들인, 면역 세포들의 군집.

청구항 31

제 27항에 있어서,

상기 면역 세포들의 50% 초과가 CAR 양성(positive) 세포들인, 면역 세포들의 군집.

청구항 32

암의 치료에 사용을 위한 약학적 조성물이며, 상기 조성물은 제 27항에 따른 면역 세포 군집을 포함하는 약학적 조성물.

청구항 33

암의 치료에 사용을 위한 약학적 조성물이며, 상기 조성물은 제 20항에 따른 조작된 면역 세포를 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 34

삭제

청구항 35

삭제

청구항 36

삭제

청구항 37

삭제

청구항 38

삭제

청구항 39

삭제

청구항 40

삭제

청구항 41

삭제

청구항 42

삭제

청구항 43

삭제

청구항 44

삭제

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001]

본 발명은 적응(adaptive) 세포 면역요법(immunotherapy) 분야와 관련된다. 그것은 종양들과 같은 면역 저항을 발달시키는 병적 측면들에 대항하는 일차(primary) 면역 세포들의 기능성을 향상시켜, 이들 면역(immune) 세포들의 치료 가능성을 개선하는 것을 목적으로 한다. 본 발명의 방법은 면역 세포들이 감염되거나 또는 악성인 세포들에 대항하게 그것들의 면역 반응을 향하는 것을 돕는 외인성 코딩(conding) 서열(들)의 유전적 삽입을 제공한다. 이들 외인성 코딩 서열들은 더욱 특히, 면역 세포들 활성화에 민감하지 않은 프로모터들 또는 생명에 위협이 되는 염증성 질병들 또는 종양 미세환경에 따라 상향 또는 하향조절되는 내생(endogenous) 유전자 프로모터들의 전사 통제 하 삽입된다. 본 발명은 또한 상기 특정 자리들에서 이러한 타겟이 된 삽입들을 수행하기 위하여, AAV 벡터들과 같은, 기증자(donor) DNA 벡터들 및 서열-특이적(specific) 엔도뉴클레아제 시약들

(reagents)을 제공한다. 본 발명의 방법은 세포 요법에서 그것들의 효율적인 사용을 위하여 조작된 일차(primary) 면역 세포들의 안전성 및 치료 가능성을 개선하는데 공헌한다.

배경 기술

- [0002] 조혈 세포 계통들(lineages)을 포함하는 일차(primary) 면역 세포 군집들(populations)의 효과적인 임상학적 적용이 특히 HIV 감염 및 백혈병인, 다양한 병적 측면들에 대하여 10 년 이상 다수의 임상 시험들에 의하여 확립되어 왔다 (Tristen S.J. et al. (2011) Treating cancer with genetically engineered T cells. Trends in Biotechnology. 29(11):550-557).
- [0003] 그러나, 이들 임상 시험들의 대부분은 환자 자신들로부터 또는 약립가능한 기증자들로부터 수득된, 주로 NK 및 T-세포들인 면역 세포들을 이용하여 왔는데, 이는 환자의 면역 체계를 감소시키거나 또는 약화시키기 위한(get around) 전략들을 이미 세운 질병들을 극복하기 위하여, 이용가능한 면역 세포들의 수, 그것들의 적합함, 및 그것들의 효율에 대하여 일부 제한들을 가져왔다.
- [0004] 동종이계(allogeneic) 면역 세포들의 조달로의 주된 진전으로서, "기성품인(off-the-shelf)" 치료적 제품들로서 이용가능한, 보편적인(universal) 면역 세포들이 유전자 편집에 의하여 생산되어 왔다. (Poirot et al. (2015) Multiplex Genome-Edited T-cell Manufacturing Platform for "Off-the-Shelf" Adoptive T-cell Immunotherapies Cancer Res. 75: 3853-64). 이들 보편적인 면역 세포들은 그것들의 자가-인식 유전적 결정 요인들인, 이중 사슬-개짐에 의하여 방해의 효과와 함께, 기증자들로부터 유래한 면역 세포들 내로 특정 희귀(rare)-절단(cutting) 엔도뉴클레아제를 발현시킴으로써 수득가능하다.
- [0005] 처음에 메가뉴클레아제들(Meganucleases)이라고 불렸던 (Smith et al. (2006) A combinatorial approach to create artificial homing endonucleases cleaving chosen sequences. Nucl. Acids Res. 34 (22):e149.) 세기가 바뀔 때까지 첫 번째 프로그램 작동이 가능한 서열-특이적 시약들의 출현 이래, 다른 종류들의 서열-특이적 엔도뉴클레아제들 시약들이 개선된 특이성, 안전성 및 신뢰성을 제공하며 개발되어 왔다.
- [0006] 절단 촉매적 도메인과 TALE 결합 도메인의 융합체인 TALE-뉴클레아제들 (WO2011072246)은 말초(peripheral) 혈액(blood) 단핵(mononuclear) 세포 (PBMC)로부터 특히 T-세포인, 일차(primary) 면역 세포들에 성공적으로 적용되어 왔다. TALEN®의 이름으로 시장에 나온, 이러한 TALE-뉴클레아제들은 특히 그 안에서 CD52 및 TCR (T-세포 수용체)을 코드하는 유전자들이 파괴되는(disrupted) 동종이계 치료적 T-세포들을 생산하기 위하여, 기증자들로부터 유래한 T-세포들에서, 유전자 서열들을 동시에 불활성화시키는데 현재 사용되는 것들이다. 이들 세포들은 암 환자들을 치료하기 위한 키메라(chimeric) 항원(antigen) 수용체들(receptors) (CAR)가 부여될(endowed) 수 있다 (US2013/0315884). TALE-뉴클레아제들은 매우 특이적인 시약들인데, 이는 그것들이 절단 도메인 Fok-1의 다이머화를 얻기 위한 필수적인(obligatory) 헤테로다이머 형태로 쌍에 의하여 DNA에 결합할 필요가 있기 때문이다. 왼쪽 및 오른쪽 헤테로다이머 멤버들 각각은 30 내지 50 bp 전체적인 특이성의 타겟 서열들의 스패닝(spanning)과 함께 약 14 내지 20 bp의 다른 핵(nucleic) 서열들을 인식한다.
- [0007] 다른 엔도뉴클레아제들 시약들이 박테리아 S. 피요게네스(pyogenes)의 타입 II 원핵세포의 CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short palindromic Repeats)의 요소들에 기초하여 개발되어 왔다. RNA-가이드된(guided) 뉴클레아제(nuclease) 시스템 Gasiunas, Barrangou et al. 2012; Jinek, Chylinski et al. 2012)으로 불리는 이들 멀티-요소 시스템은 몇몇 특정 게놈 서열들로 상기 뉴클레아제를 이끄는 능력을 가진 가이드 RNA 분자로 커플링된 Cas9 또는 Cpf1 엔도뉴클레아제 패밀리들의 멤버들을 수반한다 (Zetsche et al. (2015). Cpf1는 박테리아에서 면역을 제공하는 단일 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제로 포유류 세포들에서 게놈 편집을 위하여 적용될 수 있다. Cell 163:759-771). 이러한 프로그램 작동이 가능한 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제들은 생산하기 쉬운데, 이는 절단 특이성이 쉽게 설계되고 저렴하게 생산될 수 있는 RNA 가이드의 서열에 의하여 결정되기 때문이다. CRISPR/Cas9의 특이성은 그러나 타겟인 유전적 서열에서 특정(particular) 모티프(motif) (PAM) 가까이에 위치되어야 하는, 약 10 pb의 TAL-뉴클레아제들보다 더 짧은 서열들에 기초한다. 유사한 시스템들이 아르곤노트(Argonaute) 단백질들과 조합인 DNA 단일 가닥 올리고뉴클레오타이드 (DNA 가이드)를 이용하여 기재되어 왔다 (Gao, F. et al. DNA-guided genome editing using the Natronobacterium gregoryi Argonaute (2016) doi:10.1038/nbt.3547).
- [0008] 징크-핑거 뉴클레아제들 또는 TAL-뉴클레아제 (예: MegaTAL)와 조합되거나 또는 그렇지 않은, 호밍(homing) 엔도뉴클레아제들 (예: I-OnuI, 또는 I-CreI)로부터 유래된 다른 엔도뉴클레아제 시스템들이 또한 특이성을 입증하였으나, 지금까지 그다지 확장되지 않았다.

- [0009] 동시에, 신규한 특이성들이 이식유전자를 가진 T-세포 수용체들 또는 소위 키메라 항원 수용체들 (CARs)를 통하여 면역 세포들에 부여될 수 있다 (Jena et al. (2010) Redirecting T-cell specificity by introducing a tumor-specific chimeric antigen receptor. Blood. 116:1035-1044). CAR들은 단일 융합 분자에서 하나 이상의 신호전달(signaling) 도메인들과 관련된 타겟팅 모이어티를 포함하는 재조합 수용체들이다. 일반적으로, CAR의 결합 모이어티(moiety)는 가요성(flexible) 링커에 의하여 연결된 단일 클론 항체의 가벼운 그리고 무거운 가변 단편들을 포함하는 단일(single)-체인(chain) 항체(antibody) (scFv)의 항원-결합 도메인으로 구성된다. 수용체 또는 리간드 도메인들에 기초한 결합 모이어티들 또한 성공적으로 사용되어 왔다. 일 세대 CAR들을 위한 신호전달(signaling) 도메인들은 CD3제타(zeta) 또는 Fc 수용체 감마 체인들의 세포질(cytoplasmic) 영역으로부터 유래된다. 일 세대 CAR들은 T 세포 세포독성으로 성공적으로 방향전환(redirec)하는 것으로 보여져 왔으나, 그것들은 체내에서 항-종양 활성 및 연장된 확장을 제공하는데 실패하였다. CD28, OX-40 (CD134), ICOS 및 4-1BB (CD137)를 포함하는 공(co)-자극(stimulatory) 분자들로부터의 신호전달(signaling) 도메인들이 CAR 변형된 T 세포들의 생존을 향상시키고 증식을 증가시키기 위하여 단독으로 (이 세대) 또는 조합하여 (삼 세대) 첨가되어 왔다. CAR들은 T 세포들이 림프종들 및 고형 종양들을 포함하는 여러가지 악성종양들로부터의 종양 세포들의 표면에서 발현되는 항원들에 대항하여 방향전환되는 것을 성공적으로 가능하게 해왔다.
- [0010] 최근에 "UCART19" 제품으로도 불리는 CD19 악성 항원을 타겟으로 하는(targeting) 키메라 항원 수용체 (CAR)가 부여된(endowed) TALE-뉴클레아제들을 이용하여 그것들의 T-세포 수용체 (TCR)가 파괴된(disrupted) 조작된 T-세포들은 난치성(refractory) 백혈병을 가진 적어도 두 명의 유아들에게서 치료 가능성을 보여주었다 (Leukaemia success heralds wave of gene-editing therapies (2015) Nature 527:146-147). 이러한 UCART19 세포들을 얻기 위하여, TALE-뉴클레아제는 TCR 유전자 파괴(disruption)를 작동하기 위하여 캡이 된(capped) mRNA의 전기천공으로 일시적으로 세포들 내로 발현시킨 반면, 키메라 항원 수용체 (CAR CD19)를 코딩하는 카세트(cassette)가 레트로바이러스 벡터를 이용하여 게놈 내로 무작위로 도입되었다.
- [0011] 이 후자의 접근에서, 유전자 불활성화 및 키메라 항원 수용체를 발현시키는 단계들은 "엑스(ex)-비보(vivo)"에서 T-세포의 활성화를 유도한 후 독립적으로 수행된다.
- [0012] 그러나 일차(primary) 면역 세포들을 조작하는 것은 이러한 세포들의 성장/생리에 어떠한 결과도 없지 않다. 특히 하나의 도전은 그것들의 면역 반응 및 수명을 상당히 감소시키는 세포들 소진(exhaustion)/무반응(anergy)을 피하는 것이다. 이것은 환자 내로 그것들의 주입보다 빨리 세포들이 인공적으로 활성화될 때 발생할 가능성이 높다. 그것은 또한 세포가 너무 반응을 하는 CAR를 가진 것으로 여겨지는 경우이다.
- [0013] 이들 곤란들을 피하기 위하여, 본 발명자들은 면역 세포들의 치료 가능성을 증가시키는 외인성(exogenous) 유전적 서열들을 발현시키기 위하여 T-세포 활성화 동안 몇몇 주요 유전자들의 전사 조절의 이점을 취한 것에 대하여 생각하였다. 면역 세포 활성화 후 공(co)-발현되거나 또는 발현되는 외인성 유전적 서열들은 서열-특이적 엔도뉴클레아제 시약들을 이용하여 유전자 타겟이 된 삽입에 의하여 도입되어, 그것들의 코딩 서열들이 상기 자리들(loci)에 존재하는 내생(endogenous) 프로모터들의 통제 하 전사된다(transcribed). 대체하여, 면역 세포 활성화 동안 발현되지 않는 자리들은 게놈의 어떠한 유해한 결과를 없이 발현 카세트들의 통합을 위한 "안전한-항구(harbor) 자리들"로서 사용될 수 있다.
- [0014] 본 발명에 따라 이들 세포 조작 전략들은 세포 고갈을 제한함으로써와 더불어, 특히 그것들의 수명, 지속성 및 면역 활성을 증가시킴으로써, 일반적으로 일차(primary) 면역 세포들의 치료 가능성(therapeutic potential)을 강화시키는 경향이 있다. 본 발명은 동종이계 치료 전략들의 부분으로서 기증자들로부터와 함께 자가조직의 (autologous) 치료 전략들의 부분으로서 환자들로부터 유래된 일차 세포들로 수행될 수 있다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1 : 특정 면역 세포 종류들에서 특이적으로 활성화되는 내생 프로모터들의 전사 조절 하 특정 자리들에서 외인성 서열들을 도입함으로써 조절 줄기 세포들 (HSCs)을 조작하기 위한 전략들. 도면은 본 발명에 따라 원하는 조절 계통들에서 발현을 위하여 외인성 코딩 서열(들)이 삽입될 수 있는 자리들인, 특정 내생 유전자들의 예들을 목록으로 한 것이다. 그 목표는 선택된 이식유전자들을 발현시킬, 그것들을 위하여 인-비보에서 면역 세포들을 생산하기 위하여, 환자들 내로 이식되는 조작된 HSC들을 엑스-비보에서 생산하는 반면, 그것들이 원하는 계통으로 분화되는 것이다.

도 2: TRAC 자리에서 항-CD22 CAR 외인성 코딩 서열, 그리고 또한 CD25 및 PD1 자리들에서 IL-15 외인성 코딩 서열을 삽입하기 위하여 실험 섹션에서 사용된 기증자 서열들의 개략적인 대표. A: 면역 세포에 의하여 CD25 및

IL-15 폴리펩타이드들의 공동-전사를 수득하기 위하여 CD25 자리에서 IL-15의 부위 특이적 삽입을 위하여 설계된 기증자 주형 (지정된 IL-15m-CD25). 서열들은 실시예들에 상세히 기재되어 있다. B: PD1 내생 유전자의 프로모터의 전사 활성 하 IL-15의 전사를 수득하기 위하여 PD1 자리에서 IL-15의 부위 특이적 삽입을 위하여 설계된 기증자 주형 (지정된 IL-15m-PD1). PD1 오른쪽 및 왼쪽 경계 서열들은 PD1 내생 코딩 서열을 온전하거나 또는 파괴된 것이 유지되도록 선택될 수 있다. 이 후자의 경우에서, PD1은 Nick아웃되는 반면 IL-15은 Nick인되고 전사된다. C: TCR 자리 (예: TRAC) 내로 키메라 항원 수용체 (예: 항-CD22 CAR)의 부위 특이적 삽입을 위하여 설계된 기증자 주형. 일반적으로 왼쪽 및 오른쪽 경계들은 환자들 내로 동종이게 이식에 적합한 [TCR]^{양성}[CAR]^{양성} 조작된 면역 세포들을 수득하기 위하여 TCR을 파괴하도록 선택된다.

도 3: 항-CD22 CAR가 또한 TRAC TALEN®을 이용하여 TRAC 자리에서 통합되는 문맥에서, 각각 PD1 또는 CD25 TALEN®을 이용하여, PD1 또는 CD25 자리에서 IL-15m의 타겟된 통합의 빈도의 유동세포 분석법 측정. 이들 결과들은 TRAC 자리에서 CAR 항-CD22와 함께 PD1 또는 CD25 자리들에서 IL-15 코딩 서열 둘 다의 효율적인 타겟이 된 통합을 보여준다. A: 가짜(mock) 형질주입된 일차 T-세포들. B: TCR 및 PD1 자리들에서 이중 통합을 위하여 특정 TALEN® 및 도 1에 기재된 기증자 서열들로 형질주입된 일차 T-세포들 (B 및 C). C: TCR 및 CD25 자리들에서 이중 통합을 위한 특정 TALEN® 및 도 1에 기재된 기증자 서열들로 형질주입된 일차 T-세포들 (A 및 C).

도 4: 도 5 및 6에 보여진 결과들을 얻기 위하여 일차(primary) 면역 세포들을 형질주입하기 위한 실험 섹션에서 사용된 외인성 서열들의 개략적 대표도.

도 5 및 6: 항 CD3/CD28 비-특이적 활성화 (Dynabeads®) 되면(upon) 그리고 CAR 의존적 종양 세포 활성화 (raji 종양 세포들) 되면, 특정 TALEN® (TCR 및 CD25) 및 도 4의 기증자 주형들로 형질주입된 독자생존가능한 T-세포들 중 LNGFR 발현에 대한 유동세포 분석법 측정. 도 6에 보여지는 대로, LNGFR 발현은 CAR/종양 이용 (engagement)되면 [CAR 항-CD22]^{양성} 세포들에서 특이적으로 유도되었다.

도 7 및 8: 종양 세포 활성화 (raji 종양 세포들) 및 항CD3/CD28 비-특이적 활성화 (Dynabeads®) 되면 특정 TALEN® (TCR 및 CD25) 및 도 4의 기증자 주형들로 형질주입된 독자생존가능한 T-세포들 중 CD25 발현에 대한 유동세포 분석법 측정. 도 8에 보여지는 대로, CD25 발현은 CAR/종양 이용되면 [CAR 항-CD22]^{양성} 세포들에서 특이적으로 유도되었다.

도 9: 도 11 및 12에 보여진 결과들을 얻기 위하여, 일차(primary) 면역 세포들을 형질주입하기 위하여 실험 섹션에서 사용된 외인성 서열들의 개략적 대표도.

도 10 및 11: 종양 세포 활성화 (raji 종양 세포들) 및 항CD3/CD28 비-특이적 활성화 (Dynabeads®)되면 특정 TALEN® (TCR 및 PD1) 및 도 9의 기증자 주형들로 형질주입된 독자생존가능한 T-세포들 중 LNGFR 발현에 대한 유동세포 분석법 측정. 도 11에 보여지는 대로, LNGFR 발현은 CAR/종양 이용되면 [CAR 항-CD22]^{양성} 세포들에서 특이적으로 유도되었다.

도 12: TALEN® (TCR 및 PD1)를 이용하여 그리고 이용하는 것 없이, 종양 세포 활성화 (raji 종양 세포들) 및 항CD3/CD28 비-특이적 활성화 (Dynabeads®)되면 도 9의 기증자 주형들로 형질주입된 독자생존가능한 T-세포들 중에서 내생 PD1 발현에 대한 유동세포 분석법 측정. PD1은 TALEN 처리에 의하여 효율적으로 Nick아웃되었다 (54 % 중 PD1의 8% 남아있는 발현).

도 13: PD1 자리 내로 IL-15 외인성 코딩 서열들의 삽입을 위한 TALEN® 및 도 2(B)에 기재된 기증자 주형으로 형질주입된 본 발명에 따른 [CAR]^{양성} (CARm) 및 [CAR]^{음성} 조작된 면역 세포들에서 IL-15 생산을 보여주는 도해. 전사가 내생 PD1 프로모터의 통제 하에 있었던 IL15이 종양 세포 활성화 (raji 종양 세포들) 및 항CD3/CD28 비-특이적 활성화 (Dynabeads®) 되면 효율적으로 유도되었고 배양 배지에서 분비되었다.

도 14: 본 발명에 따라 조작된 면역 세포들에 의하여 활성화 후 시간이 경과함에 따라(일) 분비된 IL-15의 양을 보여주는 그래프. A: 도 2A (IL-15m_CD25) 및/또는 2C (CARm)에 기재된 DNA 기증자 주형들을 이용하는, CD25 자리에서 IL-15 코딩 서열의 통합에 의하여 조작된 세포들. B: 도 2B (IL-15m_PD1) 및/또는 2C (CARm)에 기재된 DNA 기증자 주형들을 이용하여 PD1 자리에서 IL-15 코딩 서열의 통합에 의하여 조작된 세포들. 양 자리들에서 통합은 유사한 IL-15 분비 프로파일들을 보여준다. IL-15의 분비는 CAR의 종양 특이적 활성화에 의하여 상당히 증가된다.

도 15: 실시예 2에 기재된 대로 생존 분석 (순차적 사멸 분석)에서 시간 경과에 따른 CD22 항원 (루시페라제 신

호)를 발현시키는 Raji-Luc 종양 세포들의 수를 보고하는 그래프. 면역 세포들(PBMCs)은 PD1(A) 또는 CD25 자리(B)에서 IL-15 코딩 서열들을 통합하고 TCR 자리에서 항-CD22-CAR를 발현하도록(이로써 TCR 발현을 방해한다(disrupting)) 조작되었다. 이 분석에서, 종양 세포들은 배양 배지에 정기적으로 첨가된 반면, CAR 양성 세포들에 의하여 부분적으로 또는 전체적으로 제거된다. PD1 또는 CD25 세포들에서 IL-15의 재-발현은 극적으로 CAR 양성 세포들에 의한 종양 세포들의 제거를 돕는다.

도 16: IL-12 및 gp130Fc를 코딩하는 외인성 서열들을 PD1 자리에서 삽입하기 위하여 실험 섹션에서 사용된 기증자 서열들의 개략적 대표도. A: PD1 내생 코딩 서열을 파괴하는(disrupting) 반면, IL-12a 및 IL-12b의 공동-전사를 얻기 위한 PD1 자리에서 IL-12a 및 IL-12b 코딩 서열들(서열번호:47 및 48)의 부위 특이적 삽입을 위하여 설계된 기증자 주형(지명된 IL-12m-PD1). PD1 자리 서열들에 상동인 오른쪽 및 왼쪽 경계 서열들은 적어도 100pb 길이, 바람직하게는 적어도 200 pb 길이, 그리고 더욱 바람직하게는 적어도 300 pb 길이며, 서열번호:45 및 46을 포함한다. 서열들은 표 5에 상세히 기재된다. B: PD1 내생 코딩 서열을 파괴하는 반면, PD1 프로모터 하 PD1 자리에서 전사를 얻기 위하여 gp130Fc 코딩 서열들(서열번호:51)의 부위 특이적 삽입을 위하여 설계된 기증자 주형(지명된 gp130Fcm-PD1). PD1 자리 서열들에 상동인 오른쪽 및 왼쪽 경계 서열들은 적어도 100pb 길이, 바람직하게는 적어도 200 pb 길이, 그리고 더욱 바람직하게는 적어도 300 pb 길이며, 서열번호:45 및 46을 포함한다. 서열들은 표 5에 상세히 기재된다.

표 1: 다양한 바이러스로부터의 ISU 도메인 변종들.

표 2: 자연 및 인공 기원들로부터의 FP 폴리펩타이드의 아미노산 서열들.

표 3: 본 발명에 따른 외인성 코딩 서열을 삽입함으로써 유리하게 변형 또는 불활성화될 수 있는 면역 세포들 억제 경로들 내에 관련된 유전자들의 목록.

표 4: 실시예 1에 언급된 서열들.

표 5: 실시예 2에 언급된 서열들.

표 6: 그 안에서 유전자 타겟이 된 삽입이 면역 세포들 치료 가능성을 개선하기 위하여 본 발명에 따라 추구되는, T-세포 활성화되면 상향조절되는 인간 유전자들의 목록(CAR 활성화 민감성 프로모터들).

표 7: (T-세포 활성화에 독립적이거나 의존적인) 면역 세포 활성화 동안 꾸준히 전사되는 유전자들의 선택.

표 8: T-세포 활성화되면 일시적으로 상향조절되는 유전자들의 선택.

표 9: T-세포 활성화되면 24 시간 초과 넘게 상향조절되는 유전자들의 선택.

표 10: 면역 세포 활성화되면 하향조절되는 유전자들의 선택.

표 11: T-세포 활성화 되면 침묵하는 유전자들의 선택(안전한 항구 유전자 타겟이 된 통합 자리들).

표 12: 본 발명에 따라 외인성 코딩 서열들의 유전자 통합에 유용한(다중 종양으로부터 엮어진) 종양 소모된 침윤성 림프구들에서 상향조절되는 유전자 자리들의 목록.

표 13: 본 발명에 따라 외인성 코딩 서열들의 유전자 통합에 유용한 저산소(hypoxic) 종양 조건들에서 상향조절된 유전자 자리들의 목록.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

발명의 개요

비(non)-상동(homologous) 말단(end)-연결(joining) (NHEJ) 및 상동성(homology)-향하는(directed) 수선(repair) (HDR)은 인 비보(in vivo)에서 DNA 손상들을 수선하는데 사용되는 두 개의 주된 경로들이다. 후자의 경로는 주형-의존적 방식으로 손상을 수선한다 (HDR은 DNA 수선 주형으로서 시스터 크로마티드(chromatid)를 자연발생적으로 이용한다). 상동 재조합은 외인성으로 공급된 기증자 주형을 이용하여 타겟이 된 DNA 변형들로 게놈들을 정확히 편집하기 위하여 수 십년 동안 사용되어 왔다. 회귀-절단 엔도뉴클레아제들을 이용한 타겟 위치에서 이중 가닥(double strand) 손상(break) (DSB)의 인공적인 생성은 상동 재조합의 효율을 상당히 향상시킨다(예컨대 US 8,921,332). 또한 손상 부위와 상동인 DNA 서열들을 포함하는 기증자 주형과 함께 회귀-절단 엔도뉴클레아제의 공-전달은 또한 유전자 삽입 또는 유전자 수정(correction)과 같은 HDR-기반의 유전자 편집을 가능하게 한다. 그러나, 이러한 기술들은 몇몇 기술적 제한들 때문에, 일차(primary) 면역 세포들, 특히 CAR T-세포

들에서 널리 이용되지 않아 왔다: 세포사를 이끄는 이러한 종류들의 세포들 내로 DNA를 형질주입(transfect)하는 것의 어려움, 면역 세포들은 제한된 수명 및 세대 수들을 갖는다, 상동 재조합은 보통 낮은 빈도로 발생한다.

- [0018] 지금까지 서열 특이적 엔도뉴클레아제 시약들은 NHEJ 경로를 이용하여 유전자 불활성화를 위하여 일차(primary) 면역 세포들에서 주로 사용되어 왔다 (예컨대 W02013176915).
- [0019] 일반적인 측면에서, 본 발명은 내생 프로모터의 통제 하 통합된 유전자 전사를 갖기 위하여 타겟 세포에서 부위 특이적(site directed) 유전자 편집, 특히 유전자 삽입 (또는 복수 유전자 삽입들)을 수행하는 것에 의존한다.
- [0020] 일반적인 측면에서 본 발명은 기증자 주형에서 내부(internal) 리보솜(ribosome) 진입(entry) 부위(site) (IRES)의 또는 (예컨대 2A 시스(cis)-작용하는(acting) 하이드롤라제 요소들) 시스-조절 요소들의 사용을 통하여 원래의(native) 유전자의 발현을 유지하는 동안 내생 프로모터 통제(control) 하인 통합된 유전자들 전사를 갖도록 일차(primary) 면역 세포들에서 유전자 편집을 수행하는 것에 의존한다.
- [0021] 일반적인 측면에서 본 발명은, 제한되지 않는 예들로서, 종양에 의하여 제공되는 면역 억제를 차단하기 위하여 다른 보호 또는 억제 유전자들의, 또는 종양으로의 트래피킹(trafficking)을 조장하기 위하여 케모카인(chemokine) 수용체들의, 항-종양 반응을 이끌기 위하여 중요한 사이토카인들의, 키메라 항원 수용체들(CAR)의, 주요(primary) T-세포들에서, 발현을 통제하는 것에, 의존한다. 과연, 본 발명의 하나의 주요 이점은, 전사 활성이 면역 세포들 활성화의 효과들에 의하여 감소되지 않는, 내생 프로모터들의 통제 하에, 이러한 외인성 서열들을 놓는 것이다.
- [0022] 예컨대 외인성 코딩 서열이 통합되었고 항시적 유전자 발현을 위한 TCR 자리(locus)에서 발현된, 치료적 면역 세포들을 조작하는 종래의 방법과의 대조에 의하여, 본 발명자들은 T-세포들 활성화 동안, 바람직하게는 CAR 의존적 방식으로, 특이적으로 T-세포 활성화 동안 전사되는 자리들에서 코딩 서열을 통합하였다.
- [0023] 한 측면에서, 본 발명은 면역 세포들 활성화로 상향조절되는 선택된 유전자 자리들에서 키메라 항원 수용체(CAR)를 발현시키는 것에 의존한다. CAR를 코딩하는 외인성 서열(들) 및 내생 유전자를 코딩하는 서열(들)은, 예컨대 또한 도입되는 내부 리보솜 진입 부위 (IRES)에 의하여 또는 시스-조절 요소들 (예컨대 2A 시스-작용하는 하이드롤라제 요소들)에 의하여 분리되는 것에 의하여 공(co)-전사(transcribe)될 수 있다. 예컨대, CAR를 코딩하는 외인성 서열들은 각각 종양들의 인접한 환경에서 제노바이오틱스(xenobiotics) 및 저산소증에 의도되는 유전자 센서들인, 아릴(aryl) 탄화수소(hydrocarbon) 수용체 (AhR)또는 전사 인자 저산소증-유도 인자인, HIF1a와 같은 종양 미세환경에 의하여 활성화되는 내생 유전자들의 프로모터의 전사 통제 하 위치될 수 있다.
- [0024] 그러므로 본 발명은 종양 미세환경(microenvironment) (TME)에 의하여 영향을 받는 내생 T-세포 프로모터들의 통제 하 외인성 유전적 속성들(attributes)/순환들(circuits)을 통합시킴으로써 CAR T-세포 요법들의 치료적 결과를 개선하는데 유용하다. 비제한적 예들로서, 세포외 산과다증(acidosis)(락테이트 강화)와 더불어, 아르기닌, 시스테인, 트립토판 및 산소 박탈을 포함하는 TME 특징들이 특정 내생 유전자들을 상향조절하는 것으로 알려져 있다. 본 발명에 따라 내생 유전자들의 상향조절은 특정 종양 미세환경에서 CAR T-세포들의 항종양 활성을 개선하기 위하여 관련된 외인성 코딩 서열들을 재-발현시키기 위하여 "하이잭(hijacked)될" 수 있다.
- [0025] 바람직한 예들에서, 본 발명의 방법은 바람직하게는 AAV6 based 벡터 내로 세팅된 DNA 수선 매트릭스의 존재 하, 제한되지 않는 예들로서, TALEN, ZFN 또는 RNA-가이드된 엔도뉴클레아제들과 같은, 서열-특이적 뉴클레아제 시약들을 발현시킴으로써 종양 미세환경 하 높게 전사되는 자리에서 이중-가닥 손상을 일으키는 단계를 포함한다. 이 DNA 기증자 주형은 일반적으로 여기에서 외인성 코딩 서열들로 가리켜진, (종결 코돈 및 폴리A 서열들) 조절 유전적 요소들 및 고유의 또는 복수 개의 오픈 리딩 프레임들을 끼워넣은 두 개의 상동성 암들(arms)을 포함한다.
- [0026] 또다른 측면에서, 상기 외인성 서열은 유전자 불활성화가 트랜스제네시스(transgenesis)와 결합되도록, (넉-인에 의하여 넉-아웃) 상기 자리에 존재하는 내생 코딩 서열(들)을 변형 또는 결실시킴으로써 게놈 내로 도입된다.
- [0027] 타겟이 된 자리 및 면역 세포들 활성화에서 그것의 수반에 의존하여, 타겟이 된 내생 유전자는 그것의 원래의 기능을 유지하거나 또는 불활성될 수 있다. 타겟이 된 유전자가 면역 세포들 활성화에 필수적이라면, 이 삽입 절차는 유전자 불활성화 없이 단일 넉-인(knock-in) (KI)을 만들어낼 수 있다. 반대로, 만약 타겟이 된 유전자가 면역 세포들 억제/소진에 관련되는 것으로 간주된다면, 삽입 절차는, 바람직하게는 내생 서열을 넉-아웃시킴

로써, 내생 유전자의 발현을 예방하도록 설계되는 반면, 도입된 외인성 코딩 서열(들)의 발현을 가능하게 한다.

[0028] 더 특정 측면들에서, 본 발명은 제한되지 않는 예로서, PD1, PDL1, CTLA-4, TIM3, LAG3, TNFα 또는 IFNγ와 같은, 특정 자리들에서 (원래의 유전자 파괴 없이 또는 이와 함께) 타겟이 된 통합에 의하여 CAR 신호전달 경로의 활성화 후, 여러가지 동역학들로, 타겟 유전자 발현을 상향-조절하는 것에 의존한다.

[0029] 더욱 더 특정 측면에서, 조작된 면역 세포들, 바람직하게는, 이들 자리들에 존재하는 내생 프로모터들의 통제 하 그것들의 발현을 위한 PD1, CD25 또는 CD69 내생 자리에서 통합되는, IL-15 또는 IL-12 폴리펩타이드(들)을 코딩하는 외인성 서열들을 포함하는, 환자들 내로 주입을 위한 바람직하게는 일차(primary) 면역 세포들인 조작된 면역 세포들이 여기에서 기재된다.

[0030] 본 발명에 따른 면역 세포들은 치료적 적응증들(indications) 및 받는 사람인 환자들에 의존하여, [CAR]^{양성}, [CAR]^{음성}, [TCR]^{양성} 또는 [TCR]^{음성}일 수 있다. 하나의 바람직한 측면에서, 면역 세포들은 동종이게 이식을 위하여 [TCR]^{음성}으로 더 만들어진다. 이는 특히 TRAC (TCR알파를 코딩하는 자리)와 같은, TCR의 적어도 하나의 요소를 코딩하는 적어도 하나의 내생 서열의 유전적 파괴에 의하여, 바람직하게는 키메라 항원 수용체 (CAR) 또는 재조합 TCR, 또는 그것들의 요소(들)을 코딩하는 외인성 서열의 통합에 의하여 활성화될 수 있다.

[0031] 본 발명의 추가의 측면에 따라, 면역 세포들은 돌연변이된 GP130와 같은 IL-6 수용체 패밀리의 사이토카인 수용체과 관련되고 그리고 바람직하게는 이에 지장을 줄 수 있는 폴리펩타이드를 코딩하는 외인성 서열으로 형질주입된다. 특히, 본 발명은 인터루킨-6 (IL-6) 신호 전달을 방해하고, 그리고 이상적으로는 차단함으로써 사이토카인 방출(release) 증후군(syndrome) (CRS)을 감소시키는 것을 목적으로, 용해성(soluble) 돌연변이된 GP130을 분비하는, 면역 세포들, 바람직하게는 T-세포들을 제공한다. CRS는 형질도입된(transduced) 면역 세포들이 CRS는 인-비보에서 활성화 되기 시작할 때, 자가 면역(auto immunity)으로 이끄는 세포 면역요법의 잘 알려진 합병증이다. IL-6이 그것의 수용체 IL-6R에 결합한 후, 복합체는 GP130 서브유닛과 어울려, 염증 반응들의 카스케이드 및 신호 전달을 개시한다. 특정 측면에 따라, IgG1 항체 (sgp130Fc)의 Fc 부분에 융합된 GP130의 세포외도메인을 포함하는 다имер 단백질은 조작된 면역 세포들에서 발현되어 IL-6의 트랜스 신호전달의 부분적 또는 완전한 차단을 달성하기 위하여 용해성 IL-R/IL-6 복합체에 특이적으로 결합한다. 그러므로 본 발명은 면역요법에서 CRS를 제한하기 위한 방법을 언급하며, 이때 면역 세포들은 sgp130Fc와 같은, IL-6 수용체 패밀리의 사이토카인 수용체과 관련되며 그리고 바람직하게는 이를 방해할 수 있는 용해성 폴리펩타이드를 발현시키기 위하여 유전적으로 변형된다. 바람직한 측면에 따라, IL-6 수용체 패밀리의 사이토카인 수용체과 관련되고 그리고 바람직하게는 이를 방해할(interfere) 수 있는 상기 용해성 폴리펩타이드를 코딩하는 이 서열은, 바람직하게는 표 6, 8 또는 9로부터 선택되는 하나, 더욱 특히 PD1, CD25 또는 CD69, 와 같은, T-세포들 활성화의 반응성이 하나의 자리에서, 내생 프로모터의 통제 하 통합된다. 벡터들의 폴리뉴클레오타이드 서열들, 외인성 코딩 서열들 및/또는 내생 자리들에 상동인 서열들을 포함하는 기증자 주형들, 그 결과인 조작된 세포들과 관련된 서열들을 비롯하여 상기 조작된 세포들의 검출을 가능하게 하는 그것들은 모두 본 공개의 부분이다.

[0032] 일반적인 측면에서 본 발명은, 제한되지 않는 예들로서, 유전자들의 타겟이 된 통합에 의하여 생물학적 "논리게이트들" ("및" 또는 "또는" 또는 "아닌" 또는 이들의 임의의 조합)의 요소들의 발현을 통제하는 것에 의존한다. 전자적 논리 게이트들과 유사하게, 다른 자리들에서 발현되는 세포 요소들은 예컨대, 면역 세포의 활성화의 조건들을 좌우하는 음성 및 양성 신호들을 교환할(exchange) 수 있다. 이러한 요소는 제한되지 않는 예들로 T-세포 활성화 및 그 결과인, 그 안에서 그것들이 발현되는 조작된 T-세포들의 세포독성을 통제하는데 사용될 수 있는 양성 및 음성 키메라 항원 수용체들을 포함한다.

[0033] 선호되는 예에 따라 본 발명은 제한되지 않는 예로서 ssDNA (제한되지 않는 예로서 올리고뉴클레오타이드들), dsDNA (제한되지 않는 예로서 플라스미드 DNA), 및 더욱 특히 아데노(adeno)-관련(associated) 바이러스(virus) (AAV)를 형질주입함으로써 타겟 유전자에 상동인 서열들 및 관심있는 유전자를 포함하는 기증자 주형 및/또는 서열 특이적 엔도뉴클레아제 시약을 도입하는 것에 의존한다.

[0034] 본 발명은 또한 벡터들, 기증자 주형들, 시약들 및 상기 방법들에 적용되는 그 결과인 조작된 세포들을 비롯하여 치료에의 그것들의 사용에 대한 것이다.

[0035] 본 발명의 자세한 기재

[0036] 여기에서 특이적으로 정의되지 않는 한, 여기에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어들은 유전자 치료, 생명화학, 유전학 및 분자생물학의 영역에서 당업자에 의하여 보통 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다.

- [0037] 여기에 기재된 것들과 유사하거나 또는 동등한 모든 방법들 및 물질들은, 여기에 기재된 적합한 물질들 및 방법들과 함께 본 발명의 시험 또는 실시에 사용될 수 있다. 모든 문헌들, 특허 출원들, 특허들 및 여기에 언급된 다른 참고문헌들이 그 전체가 참고로서 포함된다. 모순되는 경우, 정의들을 포함하는 본 명세서가 우선될 것이다. 나아가 물질들, 방법들, 및 예들은 설명만을 위한 것이며, 다르게 특정하지 않는 한, 제한하는 것으로 의도되지 않는다.
- [0038] 본 발명의 실시는, 다르게 표시하지 않는 한, 그 분야의 기술(the skill of the art) 내인 세포 생물학, 세포 배양, 분자 생물학, 유전자이식(transgenic) 생물학, 미생물학, 재조합 DNA, 및 면역학의 현재 기술들을 이용할 것이다. 이러한 기술들은 문헌에서 완전히 설명된다. 예컨대, Current Protocols in Molecular Biology (Frederick M. AUSUBEL, 2000, Wiley and son Inc, Library of Congress, USA); Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Third Edition, (Sambrook et al, 2001, Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait ed., 1984); Mullis et al. U.S. Pat. No. 4,683,195; Nucleic Acid Hybridization (B. D. Harries & S. J. Higgins eds. 1984); Transcription And Translation (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. 1984); Culture Of Animal Cells (R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., 1987); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, 1986); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); the series, Methods In ENZYMOLOGY (J. Abelson and M. Simon, eds.-in-chief, Academic Press, Inc., New York), specifically, Vols.154 and 155 (Wu et al. eds.) and Vol. 185, "Gene Expression Technology" (D. Goeddel, ed.); Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (J. H. Miller and M. P. Calos eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer and Walker, eds., Academic Press, London, 1987); Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds., 1986); and Manipulating the Mouse Embryo, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1986) 참조.
- [0039] 본 발명은 상기 면역 세포들의 염색체 DNA 내로 외인성 코딩 서열의 유전자 타겟인 통합을 수반하는, 세포 면역 요법을 위한 일차(primary) 면역 세포들의 제조를 위한 일반적인 방법에 대한 것이다. 일부 측면들에 따라, 이 통합은 상기 코딩(coding) 서열이 상기 세포들에 내생인 적어도 하나의 프로모터의 전사 조절 하 놓이는 방식으로 수행되며, 상기 내생 프로모터는 바람직하게는, T-세포 수용체 알파 불변(constant) (TRAC - NCBI Gene ID #28755)을 전사하는 하나와 같은, 항상발현되는 프로모터가 아니다. 본 발명에 따른 항상발현되는 프로모터는 예컨대 CAR 활성화로부터 독립적으로 활성화된 프로모터이다 - 예 : T-세포들이 아직 활성화되지 않은 때.
- [0040] 유전자 타겟이 된 통합에 의한 면역 세포들의 치료 가능성의 개선
- [0041] 회귀-절단 엔도뉴클레아제들과 같은 폴리뉴클레오타이드 서열-특이적 시약들을 이용한 유전자 편집 기술들은 일차(primary) 세포들 내로 유전적 변형들의 도입을 위한 그 분야의 상태가 되었다. 그러나 그것들은 지금까지 내생 프로모터들의 전사 조절 하 외인성 코딩 서열들을 도입하기 위하여 면역 세포들에서 사용되지 못하였다.
- [0042] 본 발명은 유전자 편집 기술들을 통하여, 특히 유전자 타겟이 된 통합에 의하여, 면역 세포들의 치료 가능성을 개선하는 것을 목적으로 한다.
- [0043] "유전자 타겟인 통합"에 의하여 살아 있는 세포 내로 게놈 서열을 삽입, 대체 또는 수정하는 것을 가능하게 하는 임의의 알려진 부위-특이적 방법들이 의미된다. 본 발명의 선호되는 측면에 따라, 타겟이 된 유전자의 자리에서 상동 유전자 재조합을 수반하며, 이는 상기 유전자 타겟이 된 통합은 적어도 하나의 외인성 뉴클레오타이드, 바람직하게는 몇몇 뉴클레오타이드들 (즉 폴리뉴클레오타이드) 및 더욱 바람직하게는 코딩 서열의 삽입 또는 대체를 야기한다. "서열-특이적 시약"에 의하여 게놈 자리에, 상기 게놈 자리를 변형시키는 관점에서, 바람직하게는 적어도 9 bp, 더욱 바람직하게는 적어도 10 bp 그리고 더욱 더 바람직하게는 적어도 12 pb 길이의, 선택된 폴리뉴클레오타이드 서열을 특이적으로 인식하는 능력을 가진 임의의 활성 분자가 의미된다. 본 발명의 선호되는 측면에 따라, 상기 서열-특이적 시약은 바람직하게는 서열-특이적 뉴클레아제 시약이다.
- [0044] "면역 세포"에 의하여 보통 CD3 또는 CD4 양성 세포들과 같은, 선천적 그리고/또는 적응된 면역 반응의 개시 및/또는 수행에 기능적으로 수반되는 조혈 기원의 세포가 의미된다. 본 발명에 따른 면역 세포는 수지상 세포, 킬러 수지상 세포, 비만(mast) 세포, NK-세포, B-세포 또는 염증성(inflammatory) T-림프구들, 세포독성 T-림프구들, 조절 T-림프구들 또는 헬퍼 T-림프구들로 구성되는 군으로부터 선택된 T-세포일 수 있다. 세포들은 종양 침윤성 림프구들과 같은 종양들로부터, 그리고 말초혈액 단핵 세포들, 골수, 림프절 조직, 제대혈, 흉선 조직, 감염 부위로부터의 조직, 복수(ascites), 흉막 삼출, 비장 조직을 포함하는, 다수의 제한되지 않는 소스들로부터 수득될 수 있다. 몇몇 예들에서, 상기 면역 세포는 감염으로 진단된 환자로부터 또는 암으로 진단된 환자로

부터, 건강한 기증자로부터 유래할 수 있다. 또다른 예에서, 상기 세포는 CD4, CD8 및 CD56 양성 세포들을 포함하는 것과 같은, 다른 표현형 특성들을 보이는 면역 세포들의 혼합된 군집의 부분이다.

[0045] "일차(primary) 세포" 또는 "일차 세포들"에 의하여 살아있는 조직 (예컨대 생검 물질)로부터 취해지고 제한된 시간 동안 인 비트로에서 성장을 위하여 확립된 세포들이 의미되며, 이는 그것들이 제한된 수의 군집 배증(doubling)들을 겪을 수 있다는 것을 의미한다. 일차(primary) 세포들은 연속적인 종양형성(tumorigenic) 또는 인공적으로 불멸화된 세포주들에 반대된다. 이러한 세포주들의 제한되지 않는 예들은 CHO-K1 세포들; HEK293 세포들; Caco2 세포들; U2-OS 세포들; NIH 3T3 세포들; NSO 세포들; SP2 세포들; CHO-S 세포들; DG44 세포들; K-562 세포들, U-937 세포들; MRC5 세포들; IMR90 세포들; Jurkat 세포들; HepG2 세포들; HeLa 세포들; HT-1080 세포들; HCT-116 세포들; Hu-h7 세포들; Huvec 세포들; Molt 4 세포들이다. 일차 세포들은 일반적으로 세포 요법에 사용되는데, 이는 그것들이 더욱 기능적이고 덜 종양형성적으로 간주되기 때문이다.

[0046] 일반적으로, 일차(primary) 면역 세포들은, 예컨대 Schwartz J. et al. (Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice-evidence-based approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: the sixth special issue (2013) J Clin Apher. 28(3):145-284)에 의하여 리뷰된 백혈구성분채집 기술들에 의하여, 그 분야에 알려진 여러가지 방법들을 통하여 기증자들 또는 환자들로부터 제공된다.

[0047] 본 발명에 따른 일차(primary) 면역 세포들은 또한 제대혈 줄기 세포들, 전구(progenitor) 세포들, 골수 줄기 세포들, 조혈(hematopoietic) 줄기 세포들 (HSC) 및 유도(induced) 만능(pluripotent) 줄기 세포들 (iPS)과 같은, 줄기 세포들로부터 분화될 수 있다.

[0048] "뉴클레아제 시약"에 의하여 그 자체에 의하여 또는 바람직하게는 핵산 서열의 절단을 이끄는, 가이드 RNA/Cas9와 같은 복합체의 서브유닛으로서, 바람직하게는 엔도뉴클레아제 반응인, 타겟 세포에서 뉴클레아제 촉매 반응에 공헌하는 핵산 분자가 의미된다.

[0049] 본 발명의 뉴클레아제 시약들은 일반적으로 "서열-특이적 시약들"인데, 이는 그것들이 더 나아가 "타겟 유전자"로서 언급된, 미리 결정된 자리들에서 세포들에서 DNA 절단을 유도할 수 있다는 것을 의미한다. 서열 특이적 시약들에 의하여 인식되는 핵산 서열은 "타겟 서열"로 불린다. 상기 타겟 서열은 보통 세포의 게놈, 그리고 더욱 광범위하게 인간 게놈에서 회귀 또는 고유인 것이 선택는데, 이는 그것이 <http://www.ensembl.org/index.html> 와 같은, 인간 게놈 데이터베이스로부터 이용가능한 데이터 및 소프트웨어를 이용하여 결정될 수 있기 때문이다.

[0050] "희귀(rare)-절단(cutting) 엔도뉴클레아제들(endonucleases)"은 일반적으로 10 부터 50 까지의 연속적인 염기쌍들, 바람직하게는 12 부터 30 까지bp, 그리고 더욱 바람직하게는 14 부터 20 까지 bp의 범위인 그것들의 인식 서열들인 한, 선택되는 서열-특이적 엔도뉴클레아제 시약들이다.

[0051] 본 발명의 선호되는 측면에 따라, 상기 엔도뉴클레아제 시약은 예컨대 Arnould S., et al. (WO2004067736)에 기재된 대로 호밍 엔도뉴클레아제와 같은 "조작된" 또는 "프로그램가능한" 희귀-절단 엔도뉴클레아제, 예컨대, Urnov F., et al. (Highly efficient endogenous human gene correction using designed zinc-finger nucleases (2005) Nature 435:646-651)에 기재된 대로, 징크(zinc) 핑거(finger) 뉴클레아제 (ZFN), 예컨대 Mussolino et al. (A novel TALE nuclease scaffold enables high genome editing activity in combination with low toxicity (2011) Nucl. Acids Res. 39(21):9283-9293)에 기재된 대로, TALE-뉴클레아제, 또는 예컨대 Boissel et al. (MegaTALs: a rare-cleaving nuclease architecture for therapeutic genome engineering (2013) Nucleic Acids Research 42 (4):2591-2601)에 기재된 대로 MegaTAL 뉴클레아제를 코딩하는 핵산이다.

[0052] 또다른 예에 따라, 엔도뉴클레아제 시약은 참조로서 여기에 포함되는, 그 중에서도 Doudna, J., and Chapentier, E., (The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9 (2014) Science 346 (6213):1077)에 의한 교시에 따라 Cas9 또는 Cpf1와 같은 RNA 가이드된 엔도뉴클레아제와 함께 사용되는 RNA-가이드이다.

[0053] 본 발명의 선호되는 측면에 따라, 엔도뉴클레아제 시약은 세포들 내로 일시적으로 발현되는데, 이는 상기 시약이 RNA, 더욱 특히 mRNA, 단백질들 또는 단백질들 및 핵산들을 혼합하는(mixing) 복합체들 (예: 리보뉴클레오타이드 단백질들(Ribonucleoproteins))의 경우들과 같이, 오랜 기간 동안 지속되거나 또는 게놈 내로 통합되도록 되어 있지 않다는 것을 의미한다.

[0054] 일반적으로 80% 엔도뉴클레아제 시약은 형질주입(transfection)후, 30 시간, 바람직하게는 by 24, 더욱 바람직

하계는 by 20 시간까지는 분해된다.

- [0055] mRNA 형태 하 엔도뉴클레아제는 바람직하게는, 예컨대, Kore A.L., et al. (Locked nucleic acid (LNA)-modified dinucleotide mRNA cap analogue: synthesis, enzymatic incorporation, and utilization (2009) J Am Chem Soc. 131(18):6364-5)에 기재된 대로, 그 분야에 잘 알려진 기술들에 따라 그것의 안정성을 향상시키기 위하여 캡과 함께 합성된다.
- [0056] 일반적으로, 면역 세포들을 형질주입하는데 사용되는 전기천공 단계들은 보통, 참조로서 여기에 포함되는 WO/2004/083379, 특히 23 페이지, 25줄 부터 29 페이지 11 줄까지에 기재된 대로 처리 체적을 통하여 대체로 균 일한, 100 볼트/cm보다 크고 5,000 볼트/cm보다 작은 상기 평행 플레이트 전극들 사이의 펄스 전기장을 만드는 평행 플레이트 전극들을 포함하는 폐쇄 챔버들에서 수행된다. 하나의 이러한 전기천공 챔버는 바람직하게는 챔 버 부피 (cm^3)에 의하여 나뉜 전극 겹 스퀘어드(squared) (cm^2)의 몫에 의하여 정의된 거리 계수(geometric factor (cm^{-1}))를 갖고, 이때 거리계수는 0.1 cm^{-1} 이하이고, 이때 서열-특이적 시약 및 세포들의 현탁액은 매질 이 0.01 내지 1.0 밀리시멘스(milliSiemens) 스페닝 범위에서 도전율을 갖도록 조정된 매질 내에 있다. 일반적 으로, 세포들의 현탁액은 하나 이상의 펄스된 전기장들을 갖는다. 그 방법으로, 현탁액의 처리 체적은 스케일 어블하고(scalable) 챔버에서 세포들의 처리 시간은 대체로 균일하다.
- [0057] 그것들의 더 높은 특이성 때문에 TALE-뉴클레아제는 예컨대 Mussolino et al. (TALEN® facilitate targeted genome editing in human cells with high specificity and low cytotoxicity (2014) Nucl. Acids Res. 42(10): 6762-6773)에 의하여 보고된 대로, 즉 ("5'" 또는 "앞(forward)"으로도 언급되는) "오른쪽" 모노머 및 ("3'" 또는 "역(reverse)"로도 언급되는) "왼쪽" 모노머의 쌍에 의하여 작동되는 - 특히 헤테로다이어 형태들 하 치료적 적용을 위한 적절한 서열 특이적 뉴클레아제 시약들인 것이 입증되었다.
- [0058] 전술한 바와 같이, 서열 특이적 시약은 바람직하게는 희귀 절단 엔도뉴클레아제 또는 그것의 서브유닛을 코드하 는 DNA 또는 RNA 형태 하와 같은, 핵산들의 형태 하이나, 그것들은 소위 "리보뉴클레오단백질들"과 같은 폴리펩 타이드(들) 및 폴리뉴클레오타이드(들)을 수반하는 콘주게이트들의 부분일 수 있다. 이러한 콘주게이트들은 그 것들 각각의 뉴클레아제들과 복합체가 될 수 있는 RNA 또는 DNA 가이드들을 포함하는, Zetsche, B. et al. (Cpf1 Is a Single RNA-Guided Endonuclease of a Class 2 CRISPR-Cas System (2015) Cell 163(3): 759-771) 및 Gao F. et al. (DNA-guided genome editing using the Natronobacterium gregoryi Argonaute (2016) Nature Biotech)에 의하여 각각 최근에 기재된 대로 Cas9 또는 Cpf1 (RNA-가이드된 엔도뉴클레아제들) 또는 Argonaute (DNA-가이드된 엔도뉴클레아제들)로 시약으로 형성될 수 있다.
- [0059] "외인성 서열"은 선택된 자리에 처음에 존재하지 않았던 임의의 뉴클레오타이드 또는 핵산 서열을 가리킨다. 이 서열은 세포 내로 도입되는 외래(foreign) 서열 또는 게놈 서열에 상동 또는 그 카피일 수 있다. 반대 "내생 서 열"에 의하여, 자리에 처음에 존재하는 세포 게놈 서열이 의미된다. 외인성 서열은 바람직하게는 발현이 자리에 이 외인성 서열을 통합하지 않은 시스터 세포들에 치료적 이점을 부여하는 폴리펩타이드를 코드한다. 다른 폴 리펩타이드를 발현시키기 위하여, 본 발명의 방법에 따라 뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드의 삽입에 의 하여 편집된 유전자인 내생 서열은 외인성 코딩 서열로 널리 가리켜진다.
- [0060] 본 발명의 방법은 나노입자들을 이용하여 형질주입 또는 바이러스 형질도입(transduction) 과 같은 유전적 형질 전환들의 물리적인 것(physical)을 수반하는 다른 방법들과 관련될 수 있고, 또한 다른 유전자 불활성화 및/또 는 이식유전자 삽입들과 조합될 수 있다.
- [0061] 한 측면에 따라, 본 발명에 따른 방법은 하기 단계들을 포함한다:
- [0062] - 일차(primary) 면역 세포들의 군집을 제공하는 단계;
- [0063] - 상기 일차(primary) 면역 세포들의 일부(proportion) 내로 도입하는 단계:
- [0064] i) 상기 면역 세포들 군집의 치료 가능성을 개선하는 적어도 하나의 분자를 코드하기 위하여 선택된 내생 자리 에서 통합되는 외인성 뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 적어도 하나의 핵산;
- [0065] ii) 상기 선택된 내생 자리를 특이적으로 타겟으로 하는 적어도 하나의 서열-특이적 시약
- [0066] 이때 상기 외인성 뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드 서열은 상기 외인성 뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클 레오타이드 서열은 상기 내생 자리 내로 타겟이 된 유전자 통합에 의하여 삽입되어, 상기 외인성 뉴클레오타이 드 또는 폴리뉴클레오타이드 서열은 상기 자리에 존재하는 내생 프로모터의 전사 조절 하 외인성 코딩 서열을

형성한다.

- [0067] 그 방법의 한 측면에 따라, 서열 특이적 시약은 뉴클레아제이고 타겟이 된 유전자 통합은 상기 면역 세포들 내로 상동 재조합 또는 NHEJ에 의하여 작동된다.
- [0068] 본 발명의 추가의 측면에 따라, 상기 내생 프로모터는 면역 세포 활성화 동안 활성화된 것이 선택되고 바람직하게는 상향-조절된다.
- [0069] 더 특이적으로, 본 발명은 세포 면역요법을 위한 조작된 일차(primary) 면역 세포들을 제공하는 방법에 대한 것이고, 상기 방법은 하기를 포함한다:
- [0070] - 일차 면역 세포들의 군집을 제공하는 단계;
- [0071] - 상기 일차 면역 세포들의 일부(proportion) 내로 도입하는 단계:
- [0072] i) 상기 면역 세포들 군집의 치료 가능성을 향상시키는 적어도 하나의 분자를 코드하는 외인성 코딩 서열을 포함하는 적어도 하나의 외인성 핵산;
- [0073] ii) 면역 세포 활성화 동안 활성화된 내생 프로모터의 통제 하에 있는 유전자를 특이적으로 타겟으로 하는 적어도 하나의 서열-특이적 뉴클레아제 시약;
- [0074] 이때 상기 코딩 서열은 타겟이 된 상동 재조합에 의하여 일차(primary) 면역 세포들 계층 내로 도입되어, 상기 코딩 서열이 상기 유전자의 적어도 하나의 내생 프로모터의 전사 조절 하에 위치하게 된다.
- [0075] "치료 가능성을 개선하는"에 의하여 조작된 면역 세포들이 그것들의 시스터 조작되지 않은 면역 세포들에 비하여 세포 요법에서 그것들의 사용을 위한 적어도 하나의 이로운 물성을 갖는 것이 의미된다. 본 발명에 의하여 추구되는 치료적 물성은 관련된 과학 문헌에서 언급된 대로 임의로 측정가능한 것일 수 있다.
- [0076] 개선된 치료 가능성은 더욱 특히 약물에 대한 면역 세포들의 내성, 인-비트로 또는 인-비보에서 그것들의 지속의 증가, 또는 치료적 조성물들 및 치료들의 제조 동안 더 안전하고/더 편리한 취급에 의하여 반영될 수 있다.
- [0077] 일반적으로 치료 가능성을 개선하는 상기 분자는 폴리펩타이드이지만, 그것은 또한 가이드-RNA들 또는 간섭(interference) RNA들과 같은, 다른 유전자들의 발현을 억제하거나 또는 향하게 하는 것이 가능한 핵산일 수 있다. 폴리펩타이드들은 신호 전달자들 또는 전사 조절자들과 같이 직접적 또는 간접적으로 작용할 수 있다.
- [0078] 본 발명의 한 예에 따라, 외인성 서열은 타겟이 되는 상동 재조합에 의하여 내생 염색체 DNA 내로 도입된다. 따라서, 면역 세포 내로 도입되는 외인성 핵산은 생리학적 조건들 하 내생 염색체 서열들과 혼성화할 수 있는 서열들과 마찬가지로, 적어도 하나의 코딩 서열(들)을 포함한다. 일반적으로 이러한 상동 서열들은 삽입 자리에 위치한 내생 유전자 서열들과 적어도 70 %, 바람직하게는 80% 그리고 더욱 바람직하게는 90% 서열 동일성(identity)을 보인다. 이들 상동 서열들은 예컨대 US 6,528,313에서 이미 교시된 대로 재조합의 정확성을 개선시키기 위하여 코딩 서열의 측면에 있을 수 있다(flanck). 이용가능한 소프트웨어 및 온라인 계층 데이터베이스들을 이용하여, 내생 유전자의 프로모터인 적어도 하나의 내생 프로모터의 전사 조절 하, 상기 서열(들)이 정확한 자리에서 도입되는 그러한 방식으로, 상기 코딩 서열(들)을 포함하는 벡터들을 설계하는 것이 가능하다. 외인성 코딩 서열(들)은 그 다음에 바람직하게는 상기 내생 유전자와 "인 프레임(n frame)" 삽입된다. 외인성 폴리뉴클레오타이드 서열(들)의 통합으로부터 생기는 서열들은 융합 단백질들, 태깅된(tagged) 단백질 또는 돌연변이된 단백질들을 포함하는 많은 다른 종류들의 단백질들을 코드할 수 있다. 융합 단백질들은 카스파제(caspase)-9 스위치와 같은, 상기 단백질의 활성을 켜거나 또는 끄는데 사용될 수 있는 다이머화 도메인과 같은, 세포에서 발현되는 단백질들에 새로운 기능적 도메인들을 추가하는 것을 가능하게 한다. 태깅된(tagged) 단백질들은 조작된 면역 세포들의 검출 및 상기 세포들로 치료된 환자들의 후속조치에 유리할 수 있다. 단백질들 내로 돌연변이를 도입하는 것은 하기에 추가로 기재되는, 면역 소모 제제들 또는 약물들에 내성을 부여할 수 있다.
- [0079] 면역 소모 제제들 또는 약물들에 대한 내성 부여
- [0080] 본 방법의 한 측면에 따라, 면역 세포들 계층 자리 내로 통합된 외인성 서열은 약물에 상기 면역 세포들의 내성을 부여하는 분자를 코드한다.
- [0081] 선호되는 외인성 서열들의 예들은 메토크사트(methotrexate)와 같은 엽산(folate) 유사체들에 내성을 부여하는 디하이드로엽산(dihydrofolate) 환원효소(reductase) (DHFR)의 변종들, 마이코페놀산(mycophenolic acid)

(MPA) 또는 그것의 프로드러그인 마이코페놀레이트 모페틸(mycophenolate mofetil) (MMF)과 같은 IMPDH 억제제들에 내성을 부여하는 이노신(inosine) 모노포스페이트(monophosphate) 디하이드로게나제(dehydrogenase) 2 (IMPDH2)의 변종들, FK506 및/또는 CsA와 같은 칼시뉴린 억제제에 내성을 부여하는 메틸구아닌(methylguanine) 트랜스페라제(transferase) (MGMT) 또는 칼시뉴린의 변종들, 라파마이신(rapamycin)에 내성을 부여하는 mTORmut와 같은 mTOR의 변종들, 및 이마티닙(Imatinib) 및 글리벡(Gleevec)에 내성을 부여하는 Lckmut과 같은, Lck의 변종들이다.

[0082] 용어 "약물"은 화합물 또는 그것의 유도체, 바람직하게는 암 세포와 상호작용하여 이로써 세포의 증식하는 또는 살아 있는 상태를 감소시키기 위하여 일반적으로 사용되는 표준 화학요법 제제를 가리키는 것으로 여기에서 사용된다. 화학요법 제제들의 예들은 알킬화제들 (예컨대, 사이클로포스파미드(cyclophosphamide), 이포스아미드(ifosamide)), 대사 길항제들(antagonists) (예컨대, 퓨린 뉴클레오사이드 항대사산물(purine nucleoside antimetabolite) 예를 들어 클로파라빈, 플루다라빈 또는 2'-디옥시아데노신, 메토트렉사트 (MTX), 5-플루로우라실 또는 그 유도체들), 항종양 항생제들 (예컨대, 마이토마이신(mitomycin), 아드리아마이신(adriamycin)), 식물-유래 항종양 제제들 (예컨대, 빈크리스틴(vincristine), 빈데신(vindesine), 탁솔(taxol)), 시스플라틴(cisplatin), 카보플라틴(carboplatin), 에토포사이드(etoposide) 등을 포함하나 이에 제한되지 않는다. 이러한 제제들은 항-암 제제들 TRIMETHOTRAXATE™ (TMTX), TEMOZOLOMIDE™, RALTRITREXED™, S-(4-나이트로벤질)-6-티오이노신 (NBMPR), 6-벤지구아니딘(6-benzylguanidine) (6-BG), 비스(bis)-클로로니트로소우레아(chloronitrosourea) (BCNU) 및 CAMPTOTHECIN™, 또는 임의의 그것의 치료적 유도체를 포함하나, 이에 제한되지 않는다.

[0083] 여기에서 사용된 대로, 면역 세포는 상기 약물의 (변형되지 않은 세포(들) 또는 세포들의 군집에 대하여 결정된 상기 IC50) 반(half) 최대(maximal) 억제(inhibitory) 농도(concentration) (IC50)를 포함하는 배양 배지 내에, 적어도 인-비트로에서, 증식하는 것이 가능하도록 상기 세포, 또는 세포들의 군집이 변형될 때 약물에 대하여 "내성(resistant) 또는 용인(tolerant)"하도록 만들어진다.

[0084]

[0085] 특정 예에서, 상기 약물 내성은 적어도 하나의 "약물 내성 코딩 서열"의 발현에 의하여 면역 세포들에 부여될 수 있다. 상기 약물 내성 코딩 서열은 상기 언급된 화학요법 제제들 중 하나와 같은, 제제에 대한 "내성"을 부여하는 핵산 서열을 가리킨다. 본 발명의 약물 내성 코딩 서열은 항-대사산물, 메토트렉사트, 빈블라스틴, 시스플라틴, 알킬화 제제들, 안트라사이클린들(anthracyclines), 세포독성 항생제들, 항-이뮤노필린들(immunophilins), 그것들의 유사체들 또는 유도체들 등에 내성을 코드할 수 있다 (Takebe, N., S. C. Zhao, et al. (2001) "Generation of dual resistance to 4-hydroperoxycyclophosphamide and methotrexate by retroviral transfer of the human aldehyde dehydrogenase class 1 gene and a mutated dihydrofolate reductase gene". Mol. Ther. 3(1): 88-96), (Zielske, S. P., J. S. Reese, et al. (2003) "In vivo selection of MGMT(P140K) lentivirus-transduced human NOD/SCID repopulating cells without pretransplant irradiation conditioning." J. Clin. Invest. 112(10): 1561-70) (Nivens, M. C., T. Felder, et al. (2004) "Engineered resistance to camptothecin and antifolates by retroviral coexpression of tyrosyl DNA phosphodiesterase-I and thymidylate synthase" Cancer Chemother Pharmacol 53(2): 107-15), (Bardenheuer, W., K. Lehmborg, et al. (2005). "Resistance to cytarabine and gemcitabine and in vitro selection of transduced cells after retroviral expression of cytidine deaminase in human hematopoietic progenitor cells". Leukemia 19(12): 2281-8), (Kushman, M. E., S. L. Kabler, et al. (2007) "Expression of human glutathione S-transferase P1 confers resistance to benzo[a]pyrene or benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol mutagenesis, macromolecular alkylation and formation of stable N2-Gua-BPDE adducts in stably transfected V79MZ cells co-expressing hCYP1A1" Carcinogenesis 28(1): 207-14).

[0086] 본 발명에 따라 면역 세포들에서 이러한 약물 내성 외인성 서열들의 발현은 더욱 특히 세포 요법 치료 계획들에서 상기 면역 세포들의 이용을 가능하게 하는데, 이때 세포 요법은 이들 약물들로 전에 치료받은 환자들 내로 또는 화학요법과 결합된다.

[0087] 몇몇 약물 내성 코딩 서열들이 본 발명에 따른 약물 내성을 부여하기 위하여 잠재적으로 사용될 수 있는 것으로 확인되어 왔다. 약물 내성 코딩 서열의 한 예는 예컨대 디하이드로엽산(Dihydrofolate) 환원효소(reductase) (DHFR)의 돌연변이 또는 변형된 형태일 수 있다. DHFR은 세포에서 테트라하이드로폴레이트(tetrahydrofolate)의 양을 조절하는데 관여되는 효소이며, DNA 합성에 필수적이다. 메토트렉사트 (MTX)와 같은 엽산 유사체들은 DHFR

을 억제하고, 이런 식으로 임상에서 항-신생 제제들로 사용된다. 치료에서 사용되는 항-엽산들에 의한 억제에 증가된 내성을 갖는 DHFR의 다른 돌연변이 형태들이 기재되어 왔다. 특정 예에서, 본 발명에 따른 약물 내성 코딩 서열은 인간 야생형 DHFR (GenBank: AAH71996.1)의 돌연변이 형태를 코드하는 핵산 서열일수 있는데, 이는 메토폭사트와 같은 항-엽산 치료에 내성을 부여하는 적어도 하나의 돌연변이를 포함한다. 특정 예에서, DHFR의 돌연변이 형태는 G15, L22, F31 또는 F34 위치에서, 바람직하게는 L22 또는 F31 위치들에서 적어도 하나의 돌연변이된 아미노산을 포함한다 (Schweitzer et al. (1990) "Dihydrofolate reductase as a therapeutic target" *Faseb J* 4(8): 2441-52; International application WO94/24277; 및 US patent US 6,642,043). 특정 예에서, 상기 DHFR 돌연변이 형태는 L22 및 F31 위치들에서 돌연변이된 두 개의 아미노산들을 포함한다. 여기에 기재된 아미노산 위치들의 관련성은 야생형 DHFR 폴리펩타이드의 형태의 아미노산들의 위치들의 면에서 자주 표현된다. 특정 예에서, 15 위치에서 세린 잔기는 바람직하게는 트립토판 잔기로 대체된다. 또다른 특정 예에서, 22 위치의 류신 잔기는 바람직하게는 항엽산제들에 대한 돌연변이 DHFR의 결합을 방해할 아미노산으로, 바람직하게는 페닐알라닌 또는 티로신과 같은 전하를 띠지 않은 아미노산 잔기들로 대체된다. 또다른 특정 예에서, 31 또는 34 위치들에서 페닐알라닌 잔기는 알라닌, 세린 또는 글리신과 같은 작은 친수성 아미노산으로 대체된다.

[0088] 약물 내성 코딩 서열의 또다른 예는 또한 구아노신(guanosine 뉴클레오타이드들의 데노보(de novo) 합성에서의 속도(rate)-제한(limiting) 효소인, 이오니신(ionisine)-5'-모노포스페이트(monophosphate) 디하이드로게나제(dehydrogenase) II (IMPDH2)의 돌연변이 또는 변형된 형태일 수 있다. IMPDH2의 돌연변이 또는 변형된 형태는 IMPDH 억제제 내성 유전자이다. IMPDH 억제제들은 마이코페놀산(mycophenolic acid) (MPA) 또는 그것의 프로드러그인 마이코페놀레이트 모페틸(mycophenolate mofetil) (MMF)일 수 있다. 돌연변이 IMPDH2는 IMPDH 억제제에 대하여 상당히 증가된 내성을 이끄는 야생형 인간 IMPDH2 (Genebank: NP_000875.2)의 MAP 결합 부위에서 적어도 하나, 바람직하게는 두 개의 돌연변이들을 포함할 수 있다. 이들 변종들의 돌연변이들은 바람직하게는 T333 및/또는 S351 위치들에서이다 (Yam, P., M. Jensen, et al. (2006) "Ex vivo selection and expansion of cells based on expression of a mutated inosine monophosphate dehydrogenase 2 after HIV vector transduction: effects on lymphocytes, monocytes, and CD34+ stem cells" *Mol. Ther.* 14(2): 236-44)(Jonlagadda, M., et al. (2013) "Engineering human T cells for resistance to methotrexate and mycophenolate mofetil as an in vivo cell selection strategy." *PLoS One* 8(6): e65519).

[0089] 또다른 약물 내성 코딩 서열은 칼시뉴린(calcineurin)의 돌연변이 형태이다. 칼시뉴린(PP2B - NCBI: ACX34092.1)은 많은 생물학적 과정에 관여되는 아주 흔하게 발현되는 세린/트레오닌 단백질 포스파타제이며, T-세포 활성화의 중심이다. 칼시뉴린은 촉매성 서브유닛 (CnA; 세 개의 아이소형태들(isoforms)) 및 조절성 서브유닛 (CnB; 두 개의 아이소형태들)로 이루어진 헤테로다이머이다. T-세포 수용체의 참여 후, 칼시뉴린은 전사인자 NFAT을 탈인산화하는데, 이는 그것이 핵 및 IL2와 같은 활성화된 주요 타겟 유전자로 이동하는 것을 가능하게 한다. FKBP12와 복합체인 FK506, 또는 CyPA와 복합체인 사이클로스포린(cyclosporine) A (CsA)는 NFAT가 칼시뉴린의 활성 부위로 접근하는 것을 막아, 그것의 탈인산화를 방지하고, 이로써 T-세포 활성화를 억제한다 (Brewin et al. (2009) "Generation of EBV-specific cytotoxic T cells that are resistant to calcineurin inhibitors for the treatment of posttransplantation lymphoproliferative disease" *Blood* 114(23): 4792-803). 특정 예에서, 상기 돌연변이 형태는 위치들: V314, Y341, M347, T351, W352, L354, K360에서 야생형 칼시뉴린 헤테로다이머 a의 적어도 하나의 돌연변이된 아미노산, 바람직하게는 T351 및 L354 또는 V314 및 Y341 위치들에서 이중 돌연변이들을 포함할 수 있다. 특정 예에서, 341 위치의 발린 잔기는 리신 또는 알기닌 잔기로 대체될 수 있고, 341 위치의 티로신 잔기는 페닐알라닌 잔기로 대체될 수 있고, 347 위치의 메티오닌은 글루탐산, 알기닌 또는 트립토판(tryptophane) 잔기로 대체될 수 있고, 351 위치의 트레오닌은 글루탐산 잔기로 대체될 수 있고, 352 위치의 트립토판(tryptophane) 잔기는 시스테인, 글루탐산 또는 알라닌 잔기로 대체될 수 있고, 353 위치의 세린은 히스티딘 또는 아스파라긴 잔기로 대체될 수 있고, 354 위치의 류신은 알라닌 잔기로 대체될 수 있고; 360 위치의 리신은 알라닌 또는 페닐알라닌 잔기로 대체될 수 있다. 또다른 특정 예에서, 상기 돌연변이 형태는 V120, N123, L124 또는 K125 위치들에서 야생형 칼시뉴린 헤테로다이머 b의 적어도 하나의 돌연변이된 아미노산을, 바람직하게는 L124 및 K125 위치들에서 바람직하게는 이중 돌연변이들을 포함할 수 있다. 특정 예에서, 아미노산 서열에서 120 위치의 발린은 세린, 아스파르트산, 페닐알라닌 또는 류신 잔기로 대체될 수 있고; 123 위치의 아스파라긴은 트립토판, 리신, 페닐알라닌, 알기닌, 히스티딘 또는 세린으로 대체될 수 있고; 124 위치의 류신은 트레오닌 잔기로 대체될 수 있고; 125 위치의 리신은 알라닌, a 글루탐산, 트립토판으로 대체될 수 있거나, 또는 류신-알기닌 또는 이소류신-글루탐산과 같은 두 개 잔기들이 125 위치의 리신 뒤에 첨가될 수 있다. 여기에 기재된 아미노산 위치들의 관련성은 야생형 인간 칼시뉴린 헤테로다이머 b 폴리펩타이드 (NCBI: ACX34095.1)의 형태의 아미노산들의 위치들의 면에서 자주 표현된다.

- [0090] 또다른 약물 내성 코딩 서열은 인간 알킬(alkyl) 구아닌(guanine) 트랜스페라제(transferase) (hAGT)를 코딩하는 0(6)-메틸구아닌(methylguanine) 메틸트랜스페라제(methyltransferase) (MGMT- UniProtKB: P16455) 이다. AGT는 니트로소우레아들(nitrosoureas) 및 테모졸로미드(temozolomide) (TMZ)와 같은 알킬화제들의 세포독성 효과들에 내성을 부여하는 DNA 수선 단백질이다. 6-벤질구아닌(benzylguanine) (6-BG)은 니트로소우레아 독성을 강하게 하는 AGT의 억제제이며, 이 제제의 세포독성 효과들을 강하게 하기 위하여 TMZ와 함께 공-투여된다. AGT의 변종들을 코딩하는 MGMT의 몇몇 돌연변이 형태들은 6-BG에 의한 불활성화에 매우 내성이지만, DNA 손상을 수선하는 그것들의 능력을 유지한다 (Maze, R. et al. (1999) "Retroviral-mediated expression of the P140A, but not P140A/G156A, mutant form of O6-methylguanine DNA methyltransferase protects hematopoietic cells against O6-benzylguanine sensitization to chloroethylnitrosourea treatment" J. Pharmacol. Exp. Ther. 290(3): 1467-74). 특정 예에서, AGT 돌연변이 형태는 야생형 AGT P140 위치의 돌연변이된 아미노산을 포함할 수 있다. 바람직한 예에서, 140 위치에서 상기 프롤린은 리신 잔기로 대체된다.
- [0091] 또다른 약물 내성 코딩 서열은 다중약물(multidrug) 내성(resistance) 단백질 (MDR1) 유전자이다. 이 유전자는 세포 막을 가로지르는 대사 부산물들의 이동에 관여되는 P-당단백질(glycoprotein) (P-GP)로 알려진 막 당단백질을 코딩한다. P-Gp 단백질은 몇몇 구조적으로 관련없는 화학요법 제제들을 향한 넓은 특이성을 보인다. 이런 식으로, 약물 내성은 MDR-1 (Genebank NP_000918)을 코딩하는 핵산 서열의 발현에 의하여 세포들에 부여될 수 있다.
- [0092] 또다른 약물 내성 코딩 서열은 ble 또는 mcrA 유전자들로부터의 그것들과 같은, 세포독성 항생제들의 생선에 공현할 수 있다. 면역 세포에서 ble 유전자 또는 mcrA의 이소성(ectopic) 발현은 각각 화학치료 제제를 블레오마이신(bleomycine) 및 미토마이신(mitomycin) C에 노출될 때 선택적 이점을 준다 (Belcourt, M.F. (1999) "Mitomycin resistance in mammalian cells expressing the bacterial mitomycin C resistance protein MCRA" . PNAS. 96(18):10489-94).
- [0093] 또다른 약물 내성 코딩 서열은 Lorenz M.C. et al. (1995) "TOR Mutations Confer Rapamycin Resistance by Preventing Interaction with FKBP12-Rapamycin" The Journal of Biological Chemistry 270, 27531-27537에 기재된 것과 같이 라파마이신에 내성을 부여하는 mTOR의 돌연변이된 변종들 (mTOR mut), 또는 Lee K.C. et al. (2010) "Lck is a key target of imatinib and dasatinib in T-cell activation", Leukemia, 24: 896-900에 기재된 대로 글리벡에 내성을 부여하는 Lck의 특정 돌연변이된 변종들 (Lckmut)과 같은 약물 타겟들의 돌연변이된 버전을 코딩하는 유전자들로부터 올 수 있다.
- [0094] 전술한 바와 같이, 방법의 유전적 변형 단계는 적어도 내생 유전자 및 외인성 핵산 사이에 발생하는 상동 재조합과 같은 내생 유전자의 부분 및 약물 내성 코딩 서열을 코딩하는 서열을 포함하는 외인성 핵산의 세포들 내로의 도입 단계를 포함할 수 있다. 특정 예에서, 상기 내생 유전자는 야생형 "약물 내성" 유전자일 수 있어, 상동 재조합 후, 야생형 유전자는 약물에 내성을 부여하는 유전자의 돌연변이 형태에 의하여 대체된다.
- [0095] 인-비보에서 면역 세포들의 지속성 향상
- [0096] 본 방법의 한 측면에 따라, 면역 세포들 계층 자리 내로 통합되는 외인성 서열은 면역 세포들의 지속성, 특히 종양 환경에서 인-비보 지속성을 향상시키는 분자를 코딩한다.
- [0097] "지속성을 향상시키는" 것에 의하여 특히 조작된 면역 세포들이 환자 내로 주사되면, 수명의 면에서 면역 세포들의 생존이 연장되는 것이 의미된다. 예컨대, 변형된 세포들의 평균 생존이 변형되지 않은 세포들의 그것보다 상당히, 적어도 10%, 바람직하게는 20%, 더욱 바람직하게는 30%, 더욱 더 바람직하게는 50%로, 길어지면, 지속성이 향상된다.
- [0098] 이것은 특히 면역 세포들이 동종이계일 때 관련된다. 이것은 세포막에서 또는 이를 통하여 면역억제성 폴리펩타이드들을 이소성으로(ectopically) 발현 및/또는 분비하는 코딩 서열들을 도입함으로써 국소적 면역 보호를 만들어냄으로써 이루어질 수 있다. 이러한 폴리펩타이드들의 여러가지 패널 특히 면역 체크포인트들의 길항제들, 바이러스 외피로부터 유래된 면역억제성 펩타이드들 또는 NKG2D 리간드는 환자들 내로 동종이계 면역 세포들의 이식(engraftment) 및/또는 지속성을 향상시킬 수 있다.
- [0099] 한 예에 따라, 상기 외인성 코딩 서열에 의하여 코딩되는 면역억제성 폴리펩타이드는 세포독성(Cytotoxic) T-림프구(Lymphocyte) 항원(Antigen) 4 (CD152로도 불리는 CTLA-4, GenBank accession number AF414120.1)의 리간드이다. 상기 리간드 폴리펩타이드는 바람직하게는 CTLA-4a Ig 및 CTLA-4b Ig 또는 그것의 기능적 변종과 같은 항-CTLA-4 면역글로불린이다.

[0100] 한 예에 따라, 상기 외인성 코딩 서열에 의하여 코드되는 면역억제성 폴리펩타이드는 Ig V-유사(like) 도메인, Ig C-유사 도메인, 소수성 막관통 도메인 및 30 아미노산들의 세포질 꼬리로 구성되는 290 아미노산들의 타입 I 막관통 단백질을 코드하는, PD-L1 (다른 명칭: CD274, 프로그램된 세포사 1 리간드; 인간 폴리펩타이드 서열 Q9NZQ7에 대한 ref. UniProt)와 같은, PD1의 길항제이다. PD-L1 리간드의 이러한 막-결합된 형태는 예컨대 하나 이상의 돌연변이(들)을 갖고, 또는 세포내 도메인의 제거에 의하여, 와 같은 불특한(truncated) 형태 또는 원래의 형태 (야생형) 하 본 발명에서 의미된다 (Wang S et al., 2003, J Exp Med. 2003; 197(9): 1083-1091).. 중요하게, PD1은 본 발명에 따른 PD-L1 리간드의 막-결합된 형태로 고려되지 않는다. 또다른 예에 따라, 상기 면역억제성 폴리펩타이드는 분비된 형태 하이다. 이러한 재조합 분비된 PD-L1 (또는 용해성 PD-L1)은 면역글로불린의 Fc 부분에 PD-L1의 세포외 도메인을 융합시킴으로써 만들어질 수 있다 (Haile ST et al., 2014, Cancer Immunol. Res. 2(7): 610-615; Song MY et al., 2015, Gut. 64(2):260-71). 이 재조합 PD-L1은 PD-1을 중화시키고 PD-1-매개(mediated) T-세포 억제를 방해할(abrogate) 수 있다. PD-L1 리간드는 둘 다의 향상된 지속성을 위하여도 CTLA4 Ig와 공-발현될 수 있다.

[0101] 또다른 예에 따라, 외인성 서열은 예컨대 HIV-1, HIV-2, SIV, MoMuLV, HTLV-I, -II, MPMV, SRV-1, Syncitin 1 또는 2, HERV-K 또는 FELV로부터 유래된, 바이러스 env 면역억제성(immunosuppressive) 도메인 (ISU)을 포함하는 폴리펩타이드를 코드한다.

[0102] 하기 표 1은 본 발명에서 발현될 수 있는 다양한 바이러스로부터의 ISU 도메인의 변종들을 보여준다.

표 1

ISU 아미노산 서열들														
아미노산 위치들														바이러스 기원
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	기원
L	Q	A	R	I/V	L	A	V	E	R	Y	L	K/R/Q	D	HIV-1
L	Q	A	R	V	T	A	I	E	K	Y	L	K/A/Q	D/H	HIV-2
L	Q	A	R	L	L	A	V	E	R	Y	L	K	D	SIV
L	Q	N	R	R	G	L	D	L	L	F	L	K	E	MoMuLV
A	Q	N	R	R	G	L	D	L	L	F	W	E	Q	HTLV-I, -II
L	Q	N	R	R	G	L	D	L	L	T	A	E	Q	MPMV, SRV-1
L	Q	N	R	R	A	L	D	L	L	T	A	E	R	Syncitin 1
L	Q	N	R	R	G	L	D	M	L	T	A	A	Q	Syncitin 2
L	A	N	Q	I	N	D	L	R	Q	T	V	I	W	HERV-K
L	Q	N	R	R	G	L	D	I	L	F	L	Q	E	FELV

[0103]

[0104] 표 1: 다양한 바이러스들로부터의 ISU 도메인 변종들

[0105] 또다른 예에 따라, 외인성 서열은 gp41과 같은 FP 폴리펩타이드를 코드한다. 하기 표 2는 자연적 그리고 인공적 기원들로부터 몇몇 FP 폴리펩타이드를 나타낸다.

표 2

FP 아미노산들 서열들									
아미노산 위치들									기원
1	2	3	4	5	6	7	8	9	
G	A	L	F	L	G	F	L	G	HIV-1 gp41
A	G	F	G	L	L	L	G	F	합성
A	G	L	F	L	G	F	L	G	합성

[0106]

[0107] 표 2: 자연적 그리고 인공적 기원들로부터 FP 폴리펩타이드의 아미노산 서열들

[0108] 또다른 예에 따라, 외인성 서열은 Margalit A. et al. (2003) "Chimeric β 2 microglobulin/CD3 ζ

polypeptides expressed in T cells convert MHC class I peptide ligands into T cell activation receptors: a potential tool for specific targeting of pathogenic CD8+ T cells” Int. Immunol. 15 (11): 1379-1387에 의하여 기재된 것과 같이 비-인간 MHC 상동체(homolog), 특히 바이러스 MHC 상동체, 또는 키메라 $\beta 2m$ 폴리펩타이드를 코드한다.

- [0109] 한 예에 따라, 외인성 서열은 NKG2D 리간드를 코드한다. 사이토메갈로바이러스들과 같은 몇몇 바이러스들은 NKG2D 리간드들에 결합할 수 있고 그것들의 표면 발현을 방지할 수 있는 단백질을 분비함으로써 NK 세포 매개 면역 감시를 피하고 NKG2D 경로를 간접하는 메커니즘을 획득하였다 (Welte, S.A et al. (2003) “Selective intracellular retention of virally induced NKG2D ligands by the human cytomegalovirus UL16 glycoprotein”. Eur. J. Immunol., 33, 194-203). 종양들 세포들에서, 몇몇 메커니즘들은 ULBP2, MICB 또는 MICA와 같은 NKG2D 리간드들을 분비함으로써 NKG2D 반응을 피하도록 진화하였다 (Salih HR, Antropius H, Gieseke F, Lutz SZ, Kanz L, et al. (2003) Functional expression and release of ligands for the activating immunoreceptor NKG2D in leukemia. Blood 102: 1389-1396).
- [0110] 한 예에 따라, 외인성 서열은 IL-12 수용체와 같은 사이토카인 수용체를 코드한다. IL-12는 면역 세포들 활성화의 잘 알려진 활성화자(activator)이다 (Curtis J.H. (2008) “IL-12 Produced by Dendritic Cells Augments CD8+ T Cell Activation through the Production of the Chemokines CCL1 and CCL171”. The Journal of Immunology. 181 (12): 8576-8584.
- [0111] 한 예에 따라 외인성 서열은 억제성 펩타이드들 또는 단백질들에 대하여 항해지는 항체를 코드한다. 상기 항체는 바람직하게는 면역 세포들에 의하여 용해성 형태로 분비된다. 상어 및 낙타들로부터의 나노바디들은 이 관점에서 유리한데, 이는 그것들이 단일 체인 항체들로서 구조화되기 때문이다 (Muylldermans S. (2013) “Nanobodies: Natural Single-Domain Antibodies” Annual Review of Biochemistry 82: 775-797). 동일한 것이 또한 분비 신호 폴리펩타이드들과 그리고 용해성 친수성 도메인들과 더 쉽게 융합하는 것으로 간주된다.
- [0112] 세포들의 지속성을 향상시키기 위한 상기 개발된 다른 측면들은, 외인성 코딩 서열이 추가로 기재되는 것과 같이 또다른 MHC 요소 또는 $\beta 2m$ 을 코드하는 내생 유전자를 붕괴시킴으로써 유도될 때 특히 선호된다.
- [0113] 면역 세포들의 치료적 활성의 향상
- [0114] 본 방법의 한 측면에 따라 면역 세포들 계층 자리 내로 통합되는 외인성 서열은 면역 세포들의 치료적 활성을 향상시키는 분자를 코드한다.
- [0115] "치료적 활성을 향상"시키는 것에 의하여, 본 발명에 따라 조작된, 면역 세포들, 또는 세포들의 군집이 타겟 세포들의 선택된 종류에 대하여 조작되지 않은 세포들 또는 세포들의 군집보다 더 공격적으로 된다. 상기 타겟 세포들은 일반적으로, 바람직하게는 공통의 표면 마커(들)에 의하여 특징된, 정의된 종류들의 세포들, 또는 세포들의 군집에 속한다. 본 명세서에서, "치료 가능성(potential)"은 인-비트로 실험들을 통하여 측정된 대로, 치료적 활성을 반영한다. 일반적인 민감한 암에서, Daudi 세포들과 같은, 세포주들은 면역 세포들 세포 용해 또는 성장 감소 측정들을 수행함으로써 상기 세포들을 향하여 더 또는 덜 활성인지 여부를 평가하는데 사용된다. 이것은 또한 케모카인들 또는 면역 세포들의 탈과립화 및 사이토카인들 생산의 수준들을 측정함으로써 평가될 수 있다. 실험들은 또한 종양 세포들의 주사로, 그리고 그 결과인 종양 확장의 모니터링에 의하여 마우스들에서 수행될 수 있다. 활성의 향상은 이들 실험들에서 발달하는 세포들의 수가 면역 세포들에 의하여 10% 초과, 바람직하게는 20% 초과, 더욱 바람직하게는 30 % 초과, 더욱 더 바람직하게는 50 % 초과로, 감소될 때 중요한 것으로 간주된다.
- [0116] 본 발명의 한 측면에 따라, 상기 외인성 서열은 IL-12와 같은 사이토카인 또는 케모카인을 코드한다. 그것은 특히 IL-12를 발현시키는데 유리한데, 이는 이 사이토카인이 면역 세포 활성화를 촉진하는 것으로 널리 문헌에서 언급되기 때문이다 (Colombo M.P. et al. (2002) “Interleukin-12 in anti-tumor immunity and immunotherapy” Cytokine Growth Factor Rev. 13(2):155-68).
- [0117] 본 발명의 선호되는 측면에 따라, 외인성 코딩 서열은 상기 면역 세포들에 대한 그것들의 억제 효과를 경감시키기 위하여, T-조절 세포들과 같은, 면역 세포들의 다른 군집들에 작용하는 분비된 인자들을 촉진하거나 또는 코드한다.
- [0118] 본 발명의 한 측면에 따라, 조절 T-세포 활성의 억제제를 코드하는 상기 외인성 서열은 포크헤드(forkhead)/윙드(winged) 헬릭스(helix) 전사 인자 3 (FoxP3)의 폴리펩타이드 억제제이고 더욱 바람직하게는, P60로 언급된 것과 같이, FoxP3의 세포-관통 펩타이드 억제제이다 (Casares N. et al. (2010) “A peptide inhibitor of

FoxP3 impairs regulatory T cell activity and improves vaccine efficacy in mice.” J Immunol 185(9):5150-9).

- [0119] "조절 T-세포들 활성의 억제제"에 의하여 T-세포들에 의하여 분비되는 분자또는 상기 분자의 전구체가 의미되며, 이는 T-세포들이 조절 T-세포들에 의하여 발휘되는 하향 조절 활성을 피하는 것을 가능하게 한다. 일반적으로, 조절 T-세포 활성의 이러한 억제제는 상기 세포들에서 FoxP3 전사 활성을 감소시키는 효과를 가진다.
- [0120] 본 발명의 한 측면에 따라, 상기 외인성 서열은 CCR2/CCL2 중화 제제와 같은, 종양(Tumor) 관련(Associated) 대식세포들(Macrophages) (TAM)의 분비되는 억제제를 코딩한다. 종양-관련 대식세포들 (TAMs)은 종양 미세환경의 중요한 조절자이다. 임상병리학적 연구들은 종양들에서 TAM 축적이 빈약한 임상 결과와 관련이 있다는 것을 제안하였다. 그 증거와 일치하여, 실험적 및 동물 연구들은 TAM들이 종양 발달 및 진행을 촉진하기 위하여 선호되는 미세환경을 제공할 수 있다는 개념을 뒷받침하였다 (Theerawut C. et al. (2014) “Tumor-Associated Macrophages as Major Players in the Tumor Microenvironment” Cancers (Basel) 6(3): 1670-1690). 단핵구(monocyte) 화학유인물질(chemoattractant) 단백질 1 (MCP1 - NCBI NP_002973.1)으로도 불리는 케모카인 리간드 2 (CCL2)은 단핵구들, 림프구들 및 호염기성 세포들에 화학유인을 생산하는, 대식세포들에 의하여 분비되는 CC 케모카인 패밀리에 속하는 작은 사이토카인이다. CCR2 (C-C 케모카인 수용체 타입 2 - NCBI NP_001116513.2)는 CCL2의 수용체이다.
- [0121] 면역 세포들의 안전성 및 특이성 향상
- [0122] 키메라 항원 수용체들 (CAR)을 발현시키는 것은 종양들 또는 감염된 세포들을 치료하기 위한 NK-세포들 및 T-세포들과 같은, 일차(primary) 면역 세포들의 특이성을 개선하거나 또는 이로 향하게 하기 위한 최선책이 되었다. 이들 면역 세포들에 의하여 발현된 CAR들은 인-비보에서 이들 세포들을 파괴하기 위하여 상기 면역 세포들을 더 돕는, 병적인 세포들의 표면에서 항원 마커들을 특이적으로 타겟으로 한다 (Sadelain M. et al. “The basic principles of chimeric antigen receptor design” (2013) Cancer Discov. 3(4):388-98). CAR들은 보통 (소위 양성 CAR인) 특정 항원에 대한 결합에 반응하여 면역 세포들을 자극하는 활성화 도메인들을 포함하도록 설계되나, 그것들은 (소위 음성 CAR인) 반대 효과를 가진 억제 도메인 또한 포함할 수 있다 (Fedorov, V. D. (2014) “Novel Approaches to Enhance the Specificity and Safety of Engineered T Cells” Cancer Journal 20 (2):160-165. 양성 및 음성 CAR들은 타겟 세포들의 표면에 존재하는 여러가지 항원들에 의존적인 세포들 면역 특이성을 미세하게 조정하도록 조합되거나 또는 공-발현될 수 있다.
- [0123] CAR들을 코딩하는 유전적 서열들은 일반적으로 증가된 형질도입 효율을 가지지만 무작위 위치들에서 통합되는 레트로바이러스 벡터들을 이용하여 세포들 게놈 내로 도입된다. 여기에서, 본 발명에 따라, 키메라 항원 수용체 (CAR)의 요소들은 타겟이 된 유전자 재조합에 의하여 더욱 특히 내생 프로모터들의 통제 하, 선택된 자리들에서 도입될 수 있다.
- [0124] 한 측면에 따라, 양성 CAR가 바이러스 벡터에 의하여 면역 세포 내로 도입되는 반면, 음성 CAR는 타겟이 된 유전자 삽입 및 그 반대에 의하여 도입될 수 있고, 바람직하게는 면역 세포들 활성화 동안만 활성일 수 있다. 따라서, 억제 (즉 음성) CAR는 보존될 필요가 있는 주어진 세포 종류를 공격하기 위하여 면역 세포들을 방지함으로써 개선된 특이성에 기여할 수 있다. 여전히 이 측면에 따라, 상기 음성 CAR는 세포자멸사(apoptosis) CAR일 수 있는데, 이는 상기 CAR가 세포사를 유도하는 신호를 전달하는, FasL (CD95 - NCBI: NP_000034.1)과 같은 세포자멸사 도메인 또는 그것의 기능적 변종을 포함한다는 것을 의미한다 (Eberstadt M; et al. "NMR structure and mutagenesis of the FADD (Mort1) death-effector domain" (1998) Nature. 392 (6679): 941-5).
- [0125] 따라서, 본 발명에 따라 삽입되는 외인성 코딩 서열은 다른 화합물(들)을 활성화시킴으로써, 또는 그와 조합하여, 직접적으로, 세포사를 유도하는 능력을 갖는 인자를 코딩할 수 있다.
- [0126] 일차(primary) 면역 세포들의 사용의 안전성을 향상시키는 또다른 방법으로서, 외인성 코딩 서열은 다른 외인성 기질들 또는 약물들에 면역 세포들의 민감도를 부여하는 분자들을 코딩할 수 있다. 이러한 분자들은 사이클로포스파미드(cyclophosphamide) 및/또는 이소포스파미드(isophosphamide)와 같은, 약물에 대한 면역 세포들의 과민증을 부여하는, P450 패밀리(Preissner S et al. (2010) “SuperCYP: a comprehensive database on Cytochrome P450 enzymes including a tool for analysis of CYP-drug interactions”. Nucleic Acids Res 38 (Database issue): D237-43), CYP2D6-1 (NCBI - NP_000097.3), CYP2D6-2 (NCBI - NP_001020332.2), CYP2C9 (), CYP3A4 (NCBI - NP_000762.2), CYP2C19 (NCBI - NP_000760.1) 또는 CYP1A2 (NCBI - NP_000752.2.) 으로부터의 것과 같은, 사이토크롬(들)일 수 있다.

- [0127] 본 발명의 추가적 측면에 따라, 외인성 서열은 잠재적 사이토카인(Cyokine) 방출(Release) 증후군(Syndrome) (CRS)의 측면에서 IL-6 또는 IL-8 트랜스 신호전달을 감소시키기 위하여, 특히 인 비보에서, 그것의 발현을 위하여 면역 세포들에 도입된다.
- [0128] 이러한 외인성 서열은 예컨대 그것들의 수용체들 IL-6R 또는 IL-8R에 대항하여 또는 IL-6 또는 IL-8 에 대항하여 향해지는 항체들을 코딩할 수 있다.
- [0129] 선호되는 측면에 따라 상기 외인성 서열은 서열번호 61과 적어도 80% 동일성을 보이는 것과 같은, GP130의 용해성 세포외 도메인을 코딩할 수 있다.
- [0130] GP130의 이러한 용해성 세포외 도메인은 예컨대 Rose-John S. [The Soluble Interleukine Receptor: Advanced Therapeutic Options in Inflammation (2017) Clinical Pharmacology & Therapeutics, 102(4):591-598]에 의하여 기재되며, sgp130Fc (서열번호 62)와 같은 면역글로불린들의 단편들과 융합될 수 있다. 전술한 바와 같이, 상기 외인성 서열은, (즉 서열 특이적 뉴클레아제 시약들을 이용하여) 부위 특이적 돌연변이유발에 의하여 게놈 내로 안정적으로 통합될 수 있고, 표 6, 8 또는 9에 목록된 것과 같이, 면역 세포 활성화 동안 활성인 자리에서 내생 프로모터의 전사 활성 하 위치될 수 있고, 그리고 바람직하게는 CAR 의존적이거나 또는 CAR 활성화에 상향 조절될 수 있다.
- [0131] 더 선호되는 예에 따라, 외인성 서열은 서열번호 : 31과 같은 항-CD22 CAR T-세포 폴리뉴클레오타이드 서열을 발현시키는 것과 같은, CAR 양성 면역 세포 내로 도입된다. 몇몇 더 특이적인 예들에 따라, GP130의 상기 용해성 세포외 도메인과 같은, IL-6 수용체 패밀리의 사이토카인 수용체와, 어울리고, 바람직하게는 간섭할 수 있는 폴리펩타이드를 코딩하는 상기 외인성 서열은 PD1, CD25 또는 CD69 자리에서 통합된다. 본 발명에 따라, PD1 자리를 코딩하는 내생 서열은 바람직하게는 상기 외인성 서열에 의하여 붕괴된다.
- [0132] 그러므로 본 발명은 세포 면역요법에서 CRS을 치료 또는 감소시키는 방법을 제공하고, 이때 세포들 또는 그것의 치료적 조성물은 환자들에게 투여되고, 상기 세포들은 GP130의 용해성 세포외 도메인(soluble extracellular domain), sGP130Fc, 항-IL-6 또는 항-IL6R 항체, 항-IL-8 또는 항-IL8R 항체, 또는 그것의 임의의 융합을 포함하는 폴리펩타이드(들)을 분비하도록 유전적으로 변형된다.
- [0133] 조작된 면역 세포들의 선호되는 유전자형들(genotypes)의 예들은 하기와 같다:
- [0134] - [CAR]^{양성} [GP130]^{양성}
- [0135] - [CAR]^{양성} [GP130]^{양성}
- [0136] - [CAR]^{양성} [TCR]^{음성} [GP130]^{양성} [PD1]^{음성}
- [0137] - [CAR]^{양성} [TCR]^{음성} [GP130]^{양성} [PD1]^{음성}
- [0138] - [CAR]^{양성} [GP130]^{양성} [CD25]^{음성}
- [0139] - [CAR]^{양성} [TCR]^{음성} [GP130]^{양성} [CD25]^{음성}
- [0140] AAV 벡터들을 이용하여 일차(primary) 면역 세포들에서 유전자 타겟이 된 삽입의 효율 개선
- [0141] 본 명세서는 상기 자리들에서 상기 외인성 서열들의 적절한 삽입의 검출을 위한 서열들 및 수단들과 더불어, 내생 프로모터들, 특히 PD1 및 CD25과 프레임 내인 코딩 서열의 효율적 삽입을 수행하는데 유용한 도면들에 묘사된 대로 서열 특이적 시약들 및 기증자 주형들을 제공한다.
- [0142] 본 발명에 따른 기증자 주형들은 일반적으로 엔도뉴클레아제 시약들은 일반적으로 NHEJ 또는 상동 재조합에 의하여 게놈 내로의 그것들의 부위 특이적 삽입을 수득하기 위하여 활성화되는 때에, 핵 내로 기증자 주형들을 전달하는 것을 촉진해(prompt) 그 분야에서 기재된 여러가지 벡터들 내로 포함될 수 있는 폴리뉴클레오타이드 서열들이다.
- [0143] 특별히, 본 발명은 하기 서열들 중 하나 또는 몇몇을 포함하는 PD1 자리에서 IL-15 (서열번호 59)의 발현을 위한 특정 기증자 폴리뉴클레오타이드들을 제공한다:
- [0144] - 서열번호 :50과 동일성을 보이는 것과 같은, IL-15을 코딩하는 서열;

- [0145] - 바람직하게는 서열번호 :45 및 서열번호 :46의 폴리뉴클레오타이드 서열들을 포함하는, PD1 자리에 상동인 (왼쪽 및 오른쪽으로도 불리는) 업스트림 및 다운스트림 서열들;
- [0146] - 선택적으로, 서열번호 :50과 동일성을 보이는 것과 같은, IL-15 수용체 (sIL-15R)의 용해성 형태를 코딩하는 서열;
- [0147] - 선택적으로, 서열번호 :53 (F2A), 서열번호 :54 (P2A) 및/또는 서열번호 :55 (T2A) 중 하나와 같은, 적어도 하나의 2A 펩타이드 절단 부위,
- [0148] 특별히, 본 발명은 하나 또는 몇몇의 하기 서열들을 포함하는 PD1 자리에서 IL-12 (서열번호 :58)의 발현을 위한 특정 기증자 폴리뉴클레오타이드들을 제공한다:
- [0149] - 서열번호 :47과 동일성을 보이는 것과 같은, IL-12a를 코딩하는 서열;
- [0150] - 바람직하게는 서열번호 :45 및 서열번호 :46의 폴리뉴클레오타이드 서열들을 포함하는, PD1 자리에 상동인 (왼쪽 및 오른쪽으로도 불리는) 업스트림 및 다운스트림 서열들;
- [0151] - 선택적으로, 서열번호 :48과 동일성을 보이는 것과 같은, IL-12b를 코딩하는 서열;
- [0152] - 선택적으로, 서열번호 :53 (F2A), 서열번호 :54 (P2A) 및/또는 서열번호 :55 (T2A) 중 하나와 같은 적어도 하나의 2A 펩타이드 절단 부위,
- [0153] 특별히, 본 발명은 하기 서열들 중 하나 또는 몇몇을 포함하는 PD1 자리에서 (서열번호 61을 포함하는) 용해성 GP130 의 발현을 위한 특정 기증자 폴리뉴클레오타이드들을 제공한다:
- [0154] - 용해성 GP130, 바람직하게는 서열번호 :62과 동일성을 보이는 것과 같은, Fc에 융합된 용해성 gp130를 코딩하는 서열;
- [0155] - 바람직하게는 서열번호 :45 및 서열번호 :46의 폴리뉴클레오타이드 서열들을 포함하는, PD1 자리에 상동인 (왼쪽 및 오른쪽으로도 불리는) 업스트림 및 다운스트림 서열들;
- [0156] - 선택적으로, 서열번호 :53 (F2A), 서열번호 :54 (P2A) 및/또는 서열번호 :55 (T2A) 중 하나와 같은, 적어도 하나의 2A 펩타이드 절단 부위,
- [0157] 특별히 본 발명은 하기 서열들 중 하나 또는 몇몇을 포함하는 CD25 자리에서 IL-15 (서열번호 59)의 발현을 위한 특정 기증자 폴리뉴클레오타이드들을 제공한다:
- [0158] - 서열번호 :50과 동일성을 보이는 것과 같은 IL-15를 코딩하는 서열;
- [0159] - 바람직하게는 서열번호 :43 및 서열번호 :44의 폴리뉴클레오타이드 서열들을 포함하는, CD25 자리에 상동인 (왼쪽 및 오른쪽으로도 불리는) 업스트림 및 다운스트림 서열들;
- [0160] - 선택적으로, 서열번호 :50과 동일성을 보이는 것과 같은, IL-15 수용체 (sIL-15R)의 용해성 형태를 코딩하는 서열;
- [0161] - 선택적으로, 서열번호 :53 (F2A), 서열번호 :54 (P2A) 및/또는 서열번호 :55 (T2A) 중 하나와 같은, 적어도 하나의 2A 펩타이드 절단 부위,
- [0162] 특별히, 본 발명은 하기 서열들 중 하나 또는 몇몇을 포함하는, CD25 자리에서 IL-12 (서열번호 :58)의 발현을 위한 특정 기증자 폴리뉴클레오타이드들을 제공한다:
- [0163] - 서열번호 :47과 동일성을 보이는 것과 같은, IL-12a를 코딩하는 서열;
- [0164] - 바람직하게는 서열번호 :43 및 서열번호 :44의 폴리뉴클레오타이드 서열들을 포함하는, CD25 자리에 상동인 (왼쪽 및 오른쪽으로도 불리는) 업스트림 및 다운스트림 서열들;
- [0165] - 선택적으로, 서열번호 :48과 동일성을 보이는 것과 같은, IL-12b를 코딩하는 서열;
- [0166] - 선택적으로, 서열번호 :53 (F2A), 서열번호 :54 (P2A) 및/또는 서열번호 :55 (T2A) 중 하나와 같은 적어도 하나의 2A 펩타이드 절단 부위,
- [0167] 특별히, 본 발명은 하기 서열들 중 하나 또는 몇몇을 포함하는 CD25 자리에서 (서열번호 61을 포함하는) 용해성 GP130의 발현을 위한 특정 기증자 폴리뉴클레오타이드들을 제공한다:

- [0168] - 용해성 GP130, 바람직하게는 서열번호 :62와 동일성을 보이는 것과 같은, Fc에 융합된 용해성 gp130을 코딩하는 서열;
- [0169] - 바람직하게는 서열번호 :43 및 서열번호 :44의 폴리뉴클레오타이드 서열을 포함하는 CD25 자리에 상동인 (왼쪽 및 오른쪽으로도 불리는) 업스트림 및 다운스트림 서열들;
- [0170] - 선택적으로, 서열번호 :53 (F2A), 서열번호 :54 (P2A) 및/또는 서열번호 :55 (T2A) 중 하나와 같은 적어도 하나의 2A 펩타이드 절단 부위,
- [0171] 여기에서 실시예들에서 묘사된 대로, 본 발명자들은 AAV 벡터들, 특히 AAV6 패밀리로부터의 벡터들을 이용함으로써 인간 세포들 내로 유전자 타겟된 삽입의 비율을 상당히 개선시켰다.
- [0172] 그러므로 본 발명의 한 넓은 측면은 이들 세포들에서 상동 재조합 이벤트들을 증가시키기 위한, 더욱 바람직하게는 mRNA 형태로 도입되는, TALE 엔도뉴클레아제들과 같은, 서열 특이적 엔도뉴클레아제 시약들의 발현과 함께, 인간 일차(primary) 면역 세포들에서 AAV 벡터들의 형질도입이다.
- [0173] 이 발명의 한 측면에 따라, 서열 특이적 엔도뉴클레아제 시약들은 형질주입, 더욱 바람직하게는 TALE 뉴클레아제들과 같은, 상기 서열 특이적 엔도뉴클레아제 시약들을 코딩하는 mRNA의 전기천공에 의하여 세포들 내로 도입될 수 있다.
- [0174] 그럼에도 이 넓은 측면에 따라, 본 발명은, 더욱 특히 적어도 하기 단계들을 포함하는, 세포에서 내생 폴리뉴클레오타이드 서열 내로 외인성 핵산 서열의 삽입의 방법을 제공한다:
- [0175] - 타겟인 내생 DNA 서열에 상동인 서열들 및 상기 외인성 핵산 서열을 포함하는 AAV 벡터를 상기 세포 내로 형질도입하는(transducing) 단계, 및
- [0176] - 서열 특이적 엔도뉴클레아제 시약의 발현을 유도하여 삽입 자리에서 상기 내생 서열을 절단하는 단계.
- [0177] 외인성 핵산 서열의 수득된 삽입은 유전 물질의 도입, 더욱 바람직하게는 수득된 삽입 그 자리에서 내생 유전자 서열들에 대하여 "프레임 내인" 내생 서열의 수정 또는 대체를 야기할 수 있다.
- [0178] 본 발명의 또다른 측면에 따라, 10^5 부터 10^7 까지, 바람직하게는 10^6 부터 10^7 까지, 더욱 바람직하게는 약 $5 \cdot 10^6$ 의 바이러스 게놈들이 세포 당 형질도입된다.
- [0179] 본 발명의 또다른 측면에 따라, 세포들은 상동 재조합을 더 돕기 위하여 보르테조미브(Bortezomib)과 같은 프로테아좀 억제제들로 처리될 수 있다.
- [0180] 본 발명의 한 목적으로서, 본 방법에서 사용되는 AAV 벡터는 본 명세서에서 목록화된 것들 중 선택되는 하나의 자리들에서 내생 프로모터의 통제 하 놓이기 위하여, 이 명세서에서 언급된 것들 중 임의의 것으로서, 프로모터가 없는 외인성 코딩 서열을 포함할 수 있다.
- [0181] 본 발명의 한 목적으로서, 본 방법에서 사용되는 AAV 벡터는 2A 펩타이드 절단 부위를 포함하고 외인성 코딩 서열을 형성하는 cDNA (시작 서열 마이너스)가 이어진다.
- [0182] 본 발명의 한 목적으로서, 상기 AAV 벡터는 키메라 항원 수용체, 특히 항-CD19 CAR, 항-CD22 CAR, 항-CD123 CAR, 항-CS1 CAR, 항-CCL1 CAR, 항-HSP70 CAR, 항-GD3 CAR 또는 항-ROR1 CAR를 코딩하는 외인성 서열을 포함한다.
- [0183] 그러므로 본 발명은 여기에 기재된 방법을 수행하도록 설계된 임의의 AAV 벡터들, 특히 표 4에서 언급된 T-세포 활성화에 반응성인 내생 유전자 중 임의의 것 내에 위치한 삽입 자리에 상동인 서열을 포함하는 벡터들을 포함한다.
- [0184] 플라스미드들, 에피솜(episomal) 벡터들, 선형 DNA 매트릭스들, 등...과 같은, 그 분야에 알려진 많은 다른 벡터들이 본 발명에 대한 교시에 따라 사용될 수 있다.
- [0185] 전술한 바와 같이, 본 발명에 따라 사용되는 DNA 벡터는 바람직하게는 하기를 포함한다: (1) 상동 재조합에 의하여 삽입되는 외인성 코딩 서열을 포함하는 상기 외인성 핵산, 및 (2) 상기 삽입을 촉진하는 서열 특이적 엔도뉴클레아제 시약을 코딩하는 서열. 더 선호되는 측면에 따라, (1) 하, 상기 외인성 핵산은 어떠한 프로모터 서열을 포함하지 않는 반면, (2) 하 서열은 그것 자체의 프로모터를 갖는다. 더욱 더 선호되는 측면에 따라, (1) 하 핵산은 내부 리보솜 진입 부위 (IRES) 또는 T2A, P2A, E2A 또는 F2A와 같은 "자가-절단" 2A 펩타이드들을 포

함하여, 외인성 코딩 서열이 삽입되는 내생 유전자가 멀티-시스트론(cistronic)이 된다. 2A 펩타이드의 IRES는 상기 외인성 코딩 서열보다 앞서거나 이를 따를 수 있다.

- [0186] 본 발명의 선호되는 벡터들은 실험 섹션 및 도면들에서 묘사되거나 또는 여기에서 전술된 대로 기증자 폴리뉴클레오타이드들을 포함하는, AAV6로부터 유래된 벡터들이다. 본 발명에 따른 벡터들의 예들은 서열번호 :37 (CD25 자리 내로 IL-15를 코딩하는 서열의 통합을 위한 매트릭스), 서열번호 :38 (PD1 자리 내로 IL-15를 코딩하는 서열의 통합을 위한 매트릭스) 서열번호 :39 (CD25 자리 내로 IL-12를 코딩하는 서열의 통합을 위한 매트릭스) 및 서열번호 :40 (PD1 자리 내로 IL-12를 코딩하는 서열의 통합을 위한 매트릭스) 서열들과 동일성을 갖는 폴리뉴클레오타이드들로 구성되거나 또는 이를 포함한다.
- [0187] 내생 프로모터들의 전사 조절 하 면역 세포들에서 유전자 타겟된 통합
- [0188] 본 발명은, 그것의 주된 측면들 중 하나에서, 그것들의 치료 가능성을 개선하는 외인성 서열들을 발현시키기 위한 면역 세포들의 내생 전사 활성의 이점을 갖는다.
- [0189] 본 발명은 본 발명을 수행하는데 유용한 프로모터 자리들의 선택 및 내생 프로모터들의 전사 활성의 프로파일에 기초한 몇몇 예들을 제공한다. 선호되는 자리들은, 세포들이 CAR들이 부여될(endowed) 때, 일반적으로 면역 세포 활성화하면, 특히 CAR 활성화 (CAR-민감성 프로모터들) 에 반응으로, 전사 활성이 높다.
- [0190] 따라서, 본 발명은 TCR 자리에서 CAR를 코딩하는 첫 번째 외인성 서열을 발현시킴으로써 동종이계 치료적 면역 세포들을 생산하여, 이로써 TCR 발현을 방해하고(disrupting), 내생 자리의 전사 활성 하 두 번째 외인성 코딩 서열을 발현시키는 방법을 제공하며, 바람직하게는 하기에 의존한다:
- [0191] - 예컨대 세포들 확장을 촉진하는데 유용한 다이내비드들(dynabead)과 같은 CD3/CD28 활성화;
- [0192] - 예컨대 정확한(on-target) 면역 세포들 기능들을 활성화시키는데 유용한 CD3zeta 경로를 통하는 것과 같은, CAR 활성화;
- [0193] - 예컨대 아픈(ill) 기관들에서 인-시츄로 세포들을 활성화시키는데 유용한 분자 마커 또는 질병 증상(symptom)이 나타나는 것에 연결된 전사 활성.
- [0194] - 예컨대 조절 세포들이 그것들의 면역 기능들을 얻을 때, 특정 계통 내로 단백질을 발현시키거나 (도 1 참조) 또는 분화의 주어진 수준에서 세포들에 치료적 물성들을 부여하는데 유용한, 세포 분화; 및/또는
- [0195] - 특정 종양 상태들(저산소증, 낮은 글루코오스...)에 대한 그것들의 증폭(amplification) 및 세포들 활성의 방향을 바꾸거나, 또는 활성화의 유지 및/또는 소모의 방지를 위한 TME (종양(Tumor) 미세환경(microenvironment));
- [0196] - CAR T-세포 활성화와 관련된 부작용들(adverse events)을 완화시키는데 유용한 CRS (사이토카인 방출 증후군)
- [0197] 본 발명자들은 본 발명에 따른 타겟이 된 유전자 재조합을 적용하는데 특히 적합한 것으로 발견된 내생 유전자들의 첫 번째 목록을 확정하였다 (표 6). 이 목록을 그리기 위하여, 그들은 몇몇 전사체 묶인 데이터베이스들, 특히 난백 알부민(ovalbumin) 항원들에 반응하여, T-세포 활성화 되면 여러가지 유전자들의 전사 수준들을 비교하는 것을 가능하게 하는, Best J.A. et al. (2013) "Transcriptional insights into the CD8(+) T cell response to infection and memory T cell formation" Nat. Immunol.. 14(4):404-12에 언급된 면역학적(Immunological) 게놈(Genome) 프로젝트(Project) 컨소시엄(Consortium)으로부터의 것을 발견하였다. 또한 인간 T-세포 활성화와 관련하여 이용가능한 데이터들이 매우 적기 때문에, 그들은 인간 유전자들에 대한 이용가능한 문헌들을 연구함으로써 인간 상황과의 비교 및 이들 데이터들로부터의 분석 및 일부 외삽법들을 만들어야 했다. 선택된 자리들은 특히 CAR들을 코딩하는 서열들의 삽입에 대한 것이다. 표 6의 첫 번째 선택에 기초하여, 그들은 그들의 예상된 발현 프로파일들에 기초한 유전자들의 그 다음의 선택들을 만들었다 (표 7 내지 10).
- [0198] 다른 한 편으로는, 본 발명자들은 외인성 프로모터들의 전사 조절 하 외인성 코딩 서열을 발현시키기 위하여 발현 카세트(들)을 삽입시키기에 가장 적합할, 주로 불활성인 전사 자리들의 선택을 확인하였다. 이들 자리들은 특히 T-세포 활성화 동안 주로 전사적으로 불활성인 것들로, "안전한 항구 자리들"로 언급된다. 그것들은 면역 세포들의 게놈 발현의 방해 위험을 최대로 감소시킴으로써 코딩 서열을 통합하는데 유용하다.
- [0199] 면역 세포 활성화 동안 꾸준히 활성인 내생 프로모터들의 통제 하 유전자 타겟인 삽입
- [0200] 이 예에 관련된 내생 유전자 자리들의 선택은 표 7에 목록이 되어 있다.

- [0201] 본 발명의 방법에 따라, 바람직하게는 CD3G, Rn28s1, Rn18s, Rn7sk, Actg1, β 2m, Rpl18a, Pabpc1, Gapdh, Rpl17, Rpl19, Rplp0, Cf11 및 Pfn1로부터 선택되는 내생 유전자로부터의, 면역 세포 활성화 동안 끊임없이 활성인 내생 프로모터의 통제 하 유전자 타겟된 삽입을 수행하는 단계가 제공된다.
- [0202] "꾸준히 활성"에 의하여, 일차(primary) 면역 세포에서 이들 프로모터들에 대하여 관찰된 전사 활성이 면역 세포의 활성화가 되면 음성 조절에 의하여 영향을 받지 않는다는 것이 의미된다.
- [0203] 다른 곳에서 보고된 바와 같이, (Acuto, O. (2008) "Tailoring T-cell receptor signals by proximal negative feedback mechanisms". Nature Reviews Immunology 8:699-712), TCR 자리에 보여지는 프로모터들은 TCR 이용이 되면서 다른 음성 피드백 메커니즘에 가해지고 그러므로 본 발명의 방법을 위한 동안 상향 조절되거나 또는 꾸준히 활성이 아닐 수 있다. 본 발명은 어느 정도는 T-세포 활성화 동안 발현되는 외인성 코딩 서열들을 위한 가능한 삽입 부위로서 TCR 자리를 이용하는 것을 피하도록 설계된다. 그러므로, 본 발명의 한 측면에 따라, 외인성 코딩 서열의 타겟이 된 삽입은 TCR알파 또는 TCR베타 유전자 자리에서 수행되지 않는다.
- [0204] 꾸준히 활성인 내생 프로모터들의 통제 하 이러한 자리들에 유리하게 도입될 수 있는 외인성 코딩 서열의 예들은 사이토카인, 케모카인 수용체, 약물에 대한 내성을 부여하는 분자, 4-1BRL 및 OX40L와 같은 공-자극 리간드 또는 분비된 항체의 생산을 양성(positively) 조절하거나 또는 코드하는(encoding) 것들이다.
- [0205] 면역 세포 활성화에 의존적이거나 또는 CAR 활성화에 의존적인 내생 프로모터들 하 유전자 통합
- [0206] 전술한 바와 같이, 본 발명의 방법은 내생 프로모터의 통제 하 유전자 타겟된 삽입을 수행하는 단계를 포함하며, 이는 일시적으로 또는 10일 초과로, 전사 활성은, 바람직하게는 면역 세포 활성화되면 상향조절된다.
- [0207] "면역 세포 활성화"에 의하여 주어진 종류의 면역 세포들에 대하여 문헌 내에서 흔히 확립되고 일반적으로 기재된 메커니즘에 따른 면역 반응의 생산이 의미된다. T-세포에 대하여, 예컨대, T-세포 활성화는 일반적으로 CD69, CD71 및 CD25 (또한 Treg 세포들에 대한 마커)를 포함하는 여러가지 단백질들, 및 HLA-DR (인간 T 세포 활성화의 마커)의 생산, 퍼포린(perforin), 그랜자임들(granzymes) 및 그라눌리신(granulysin) (탈과립화)의 방출, 또는 사이토카인 효과기들(effectors) IFN- γ , TNF 및 LT-알파의 생산에 의하여 세포 표면 발현을 구성하는 변화들 중 하나에 의하여 특징된다.
- [0208] 본 발명의 선호되는 예에 따라, 내생 유전자의 전사 활성은, 특히 CAR에 의한 활성화에 반응하여 면역 세포에서 상향-조절된다. CAR는 면역 세포에서 독립적으로 발현될 수 있다. "독립적으로 발현"되는 것에 의하여 예컨대, 렌티바이러스 벡터와 같은 레트로바이러스 벡터를 이용하여, 또는 이러한 CAR를 코드하는 전기천공에 의하여 캡이 된 메신저 RNA들의 형질주입에 의하여, 도입된 외인성 발현 카세트로부터 CAR가 면역 세포에서 전사될 수 있다는 것이 의미된다. 예컨대 (REF.)에 기재된 대로 면역 세포 내로 CAR를 발현시키는 많은 방법들이 그 분야에 알려져 있다.
- [0209] 전사 활성이 상향 조절되는 상기 내생 유전자는 IL-12 및 IL-15와 같은 사이토카인(들), 면역원성(immunogenic) 펩타이드(들), 또는 항-IDO1, 항-IL10, 항-PD1, 항-PDL1, 항-IL6 또는 항-PGE2 항체와 같은 분비된 항체를 코드하기 위한 외인성 서열들의 통합에 특히 적합하다.
- [0210] 본 발명의 선호되는 예에 따라, 내생 프로모터는 CAR 활성화에 반응하여, 그리고 더욱 바람직하게는 의존적으로, 그것의 전사 활성에 대하여 선택된다.
- [0211] 여기에서 보여진 바와 같이, CD69, CD25 및 PD1은, 특히 CAR 양성 면역 세포들 내로 면역 세포들이 활성화될 때, 발현되는 외인성 코딩 서열들의 발현의 삽입에 적합한 이러한 자리들이다.
- [0212] 그러므로 본 발명은 자리에서 외인성 코딩 서열의 부위 특이적 삽입을 수행하는 단계와 면역 세포 내로 CAR를 발현시키는 임의의 방법들을 조합하며, 그 전사 활성은 중앙 항원과 상기 CAR의 이용에 반응성이거나 또는 의존적이다. 특히, 그 방법은 CAR 양성 또는 재조합 TCR 양성 면역 세포 내로 PD1, CD25 및 CD69 프로모터들로부터 선택되는 하나의 프로모터의 전사 조절(transcriptional control) 하 IL-12 또는 IL-15를 코드하는 외인성 서열을 도입하는 단계를 포함한다.
- [0213] 특히, CAR 양성 세포들은 면역 세포, 바람직하게는 일차(primary) 세포, 그리고 더욱 바람직하게는 일차 T-세포 내로 CAR를 코드하는 적어도 하나의 외인성 서열 및 그 전사 활성이 PD1, CD25 또는 CD71와 같은 상기 CAR에 의존적인, 의존적인 내생 프로모터 하에 위치된 또다른 외인성 서열을 공-발현시키는 단계들을 따름으로써 수득될 수 있다.

- [0214] "상기 CAR에 의존적인" 발현은 상기 내생 프로모터의 전사 활성이, 일반적으로, 항원들이 세포 표면에 존재하는 CAR들의 수를 초과하고, 세포 표면에서 발현되는 CAR들의 수가 세포 당 10 초과, 바람직하게는 100 초과, 그리고 더욱 바람직하게는 세포 당 1000 분자들 초과인, 상황에서, 그것의 동계(cognate) 항원과 CAR의 참여(engagement)의 결과로서, 필연적으로 10% 초과로, 바람직하게는 20 % 초과로, 더욱 바람직하게는 50% 초과로 그리고 더욱 더 바람직하게는 80 % 초과로 증가된다.
- [0215] 그러므로 본 발명이 바람직하게는 TCR 자리에 삽입되고 항시 발현되는 CAR 서열의 발현을 교시하는 반면, 또다른 자리에 통합되는 또다른 외인성 서열은 상기 CAR와 그것의 동계 항원의 참여(engagement)에 의존적으로 또는 이에 반응하여, 공-발현된다. 상기 또다른 자리는 예컨대 CD25, PD1 또는 CD71 또는 CAR 활성화되면 특이적으로 전사되는 임의의 자리들이다.
- [0216] 다시 말해서, 본 발명은 CAR 및 적어도 하나의 외인성 코딩 서열의 공-발현을 제공하고, 상기 외인성 서열의 발현은 그 전사 활성이 CAR 활성화에 의하여 영향을 받는 내생 프로모터의 통제 하에 있고, 이는 더 좋은 면역 반응을 제공하는 조작된 면역 세포들을 수득하는 것을 고려하여 이루어진다.
- [0217] 전술한 바와 같이, 이는 상기 게놈 영역들에 상동인 서열들을 포함하는 기증자 주형들과 함께 특이적으로 CAR 의존적인 이러한 자리들의 코딩 영역들을 타겟으로 하는 서열-특이적 뉴클레아제 시약들로 세포들을 형질주입함으로써 수행될 수 있다. 서열 특이적 뉴클레아제 시약들은 기증자 주형들이 상동 재조합 또는 NHEJ에 의하여 통합되는 것을 돕는다.
- [0218] 선호되는 예에 따라, 외인성 코딩 서열이 내생 유전자와 프레임 내로 통합되어, 상기 내생 유전자의 발현이 보존된다. 이는 예컨대 여기의 실험 섹션의 적어도 하나의 예에서 CD25 및 CD69에 대한 케이스이다.
- [0219] 선호되는 예에 따라, 외인성 서열은 특히 이 발현이 면역 세포 기능들에 부정적인(negative) 영향을 가질 때, 말하자면 여기의 실험 섹션에서 PD1으로 하는 케이스에서, 유전자의 내생 코딩 서열을 파괴하여(disrupts) 하나의 내생 코딩 서열의 그것의 발현을 방지한다.
- [0220] 더욱 더 선호되는 예들에 따라, 내생 유전자 서열을 파괴하는 외인성 코딩 서열은 내생 프로모터와 프레임 내에(in frame) 위치되어, 그것의 발현이 실험 섹션에 보여진 바와 같이, 내생 프로모터에 의존적으로 만들어진다.
- [0221] 본 발명은 또한 그것들의 각각의 타겟 및 RVD 서열들과 더불어, 특히 CD25 자리에서 부위 특이적 삽입을 가능하게 하는 것들(서열번호 :18 및 19)인, 본 특허 출원에서 예시된 다른 TAL-뉴클레아제들을 코딩하는 폴리펩타이드 서열들 및 폴리뉴클레오타이드에 대한 것이다.
- [0222] 본 발명은 또한 서열-특이적 엔도뉴클레아제 시약을 코딩하는 폴리뉴클레오타이드들 및 상기 시약들에 의하여 타겟이 된 자리에서 외인성 서열을 통합하도록 설계된 기증자 서열들을 포함하는 면역 세포들 형질주입을 위한 키트들을 포함한다. 이러한 키트들의 예들은 PD1 자리를 타겟으로 하는 회귀-절단 엔도뉴클레아제를 코딩하는 mRNA (예: PD1 TALEN®) 및 IL-12를 코딩하는 외인성 서열을 포함하는 AAV 벡터를 포함하는 키트, PD1 자리를 타겟으로 하는 회귀-절단 엔도뉴클레아제를 코딩하는 mRNA (예: PD1 TALEN®) 및 IL-15를 코딩하는 외인성 서열을 포함하는 AAV 벡터를 포함하는 키트, CD25 자리를 타겟으로 하는 회귀-절단 엔도뉴클레아제를 코딩하는 mRNA (예: CD25 TALEN®) 및 IL-12를 코딩하는 외인성 서열을 포함하는 AAV 벡터를 포함하는 키트, CD25 자리를 타겟으로 하는 회귀-절단 엔도뉴클레아제를 코딩하는 mRNA (예: CD25 TALEN®) 및 IL-15를 코딩하는 외인성 서열을 포함하는 AAV 벡터를 포함하는 키트, PD1 자리를 타겟으로 하는 회귀-절단 엔도뉴클레아제를 코딩하는 mRNA (예: PD1 TALEN®) 및 용해성 gp130를 코딩하는 외인성 서열을 포함하는 AAV 벡터를 포함하는 키트, CD25 자리를 타겟으로 하는 회귀-절단 엔도뉴클레아제를 코딩하는 mRNA (예: CD25 TALEN®) 및 용해성 gp130를 코딩하는 외인성 서열을 포함하는 AAV 벡터를 포함하는 키트, 및 본 명세서에 언급된 코딩 서열의 도입을 위한 기증자 매트릭스 및 표 6에 목록으로 된 유전자를 타겟으로 하는 엔도뉴클레아제 시약들을 수반한 임의의 키트들이다.
- [0223] 본 발명의 한 측면에 따라, 내생 유전자는 약한 상향조절을 위하여 선택된다. 전사 활성이 약하게 상향 조절되는 상기 내생 유전자 내로 도입된 외인성 코딩 서열은 유리하게, 그 발현 수준이 일반적으로 양성 CAR의 그것보다 더 낮게 남아 있어야 하는, 세포자멸사의(apoptotic) CAR의, 또는 억제 CAR의 구성성분(constituent)일 수 있다. 예컨대 바이러스 벡터로 형질도입된 하나와 본 발명에 따라 도입된 다른 하나인, CAR 발현의 이러한 조합은 CAR 면역 세포들의 특이성 또는 안전성을 크게 개선할 수 있다.
- [0224] 몇몇 내생 프로모터들은 내생 유전자 자리들 Spata6, Itga6, Rcbtb2, Cd1d1, St8sia4, Itgae and Fam214a (표 8)로부터 선택된 것들과 같이, 일시적으로, 가끔 면역 세포 활성화되면 12 시간 미만 후, 상향-조절된다. 다른

내생 프로모터들은 내생 유전자 자리들 IL3, IL2, Ccl4, IL21, Gp49a, Nr4a3, Lilrb4, Cd200, Cdkn1a, Gzmc, Nr4a2, Cish, Ccr8, Lad1 및 Crabp2 (표 9)로부터 선택된 것들과 같이, 면역 세포 활성화되면 24 시간 미만 후, 상향-조절되고, 다른 것들은 면역 세포 활성화 되면, 24 시간 초과, 더 일반적으로 10일 초과이다. Gzmb, Tbx21, Plek, Chek1, Slamf7, Zbtb32, Tigit, Lag3, Gzma, Wee1, IL12rb2, Eea1 및 Dtl (표 9)로부터 선택된 것들과 같다.

[0225] 대체하여, 본 발명자들은 면역 세포 활성화되면 하향-조절되는 프로모터들의 전사 조절 하 내생 유전자가 또한 본 발명에 따른 방법을 위하여 흥미있을 수 있다는 것을 발견하였다. 과연 그들은 Bcl2 패밀리를, BclXL, NF- κ B, 서바이빈(Survivin), 또는 CAR 항-FAP의 구성성분과 같은, 항-FAP (섬유아세포 활성화 단백질)과 같은, 항-세포 자멸사 인자들을 코딩하는 외인성 코딩 서열들이 상기 자리들에서 도입될 수 있다는 것을 생각하였다. 면역 세포 활성화되면 하향-조절되는 프로모터들의 전사 조절 하 상기 내생 유전자는 더욱 특히 Slc6a19, Cd55, Xkrx, Mturn, H2-Ob, Cnr2, Itgae, Raver2, Zbtb20, Arrb1, Abca1, Tet1, Slc16a5 및 Ampd3 (표 10)으로부터 선택될 수 있다.

[0226] 종양 미세환경 (TME) 상황들 하 활성화되는 내생 프로모터들 하 유전자 통합

[0227] 본 발명의 한 측면은 더욱 특히 종양 미세환경 (TME) 상황에서 면역 세포들 소모를 방지하기 위한 방법들에 대한 것이다. 면역 세포들은 종양 저항성을 돕는, 종양의 미세환경에서 발견되는 분자적 신호들 또는 영양 고갈에 반응하여 자주 고갈된다. 그 방법은 아르기닌, 시스테인, 트립토판 및 산소 부족과 더불어 세포외 (extracellular) 산과다증(acidosis)(락테이트 강화) 하 상향-조절되는 내생 프로모터들의 통제 하 외인성 코딩 서열들을 통합함으로써 면역 세포들을 조작하는 단계들을 포함한다.

[0228] 이러한 외인성 서열들은 면역 세포들 기능 또는 활성화를 강화하거나 그리고/또는 치료적 이점을 부여하기 위하여 이 명세서에서 다른 곳에 주어진 임의의 폴리펩타이드, 인터루킨들 또는 키메라 항원 수용체들을 코딩할 수 있다.

[0229] 본 발명자들은 표 12 및 13에 목록으로 된 많은 수의 고갈된 종양 침투(infiltrating) 림프구들(lymphocytes) (TIL)에서 상향조절되는 것이 발견된 다수의 자리들을 목록화하였다. 본 발명은 종양 미세환경에서, 면역 세포들, 특히 T-세포들의 고갈을 방지하기 위하여 이들 선호되는 자리들에서 외인성 코딩 서열들을 통합하는 단계를 제공한다.

[0230] 예컨대, CAR를 코딩하는 외인성 서열들은 HIF1 α , 전사 인자 저산소증-유도 인자, 또는 아릴(aryl) 탄화수소(hydrocarbon) 수용체 (AhR)와 같은 종양 미세환경에 의하여 활성화되는 내생 유전자들의 프로모터의 전사 조절 하에 놓여질 수 있다. 이들 유전자는 종양들의 폐쇄 환경에서 저산소증 및 제노바이오틱스에 의하여 각각 유도되는 센서들이다.

[0231] 그러므로 본 발명은 종양 미세환경 (TME)에 의하여 영향을 받는 내생 T-세포 프로모터들의 통제 하, 외인성 코딩 서열들, 더욱 일반적으로 유전적 속성들(attributes)/순환들(circuits),을 통합함으로써 CAR T-세포 요법들의 치료적 결과를 개선하는데 유용하다.

[0232] 본 발명에 의하여, 내생 유전자들의 상향조절은 특정 종양 미세환경에서 CAR T-세포들의 항종양 활성을 개선하기 위하여 관련 외인성 코딩 서열들을 재-발현시키기 위하여 "하이잭"될 수 있다.

[0233] 조혈(Hematopoietic) 줄기(Stem) 세포들(Cells) (HSCs)에서 유전자 타겟된 삽입 및 발현

[0234] 본 발명의 한 측면은 더욱 특히 조혈 줄기 세포들 (HSCs) 내 이식유전자들의 삽입에 대한 것이다.

[0235] 조혈 줄기 세포들 (HSCs)은 다능성이며, 이로부터 모든 분화된 혈액 세포 종류들이 조혈 작용 과정 동안 발생하는, 자가-재생 전구 세포들이다. 이들 세포들은 림프구들, 과립구들 및 면역 체계의 대식세포들과 더불어 순환하는 에리트로사이트들 및 혈소판들을 포함한다. 전통적으로, HSC들은 두 개의 계통-제한적인, 림프(lymphoid) 및 골수(myelo)-적혈구를 만드는(erythroid) 올리고포텐트(oligopotent) 전구 세포들로 분화하는 것으로 생각된다. HSC 자가-재생 및 분화를 통제하는 메커니즘들은 사이토카인들, 케모카인들, 수용체들, 및 세포내 신호전달 분자들의 다양한 세트에 의하여 영향을 받는 것으로 생각된다. HSC들의 분화는, 부분적으로는 성장 인자들 및 세포내 신호전달 경로들을 활성화시키는 인터루킨들 (ILs) 및 콜로니-자극(colony-stimulating) 인자들 (factors) (CSFs)을 포함하는 사이토카인들에 의하여 조절된다. 하기 표시된 인자들은 HSC 다분화능, 증식 및 계통(lineage) 투입(commitment)에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. HSC들 및 그것들의 분화된 자손은 조혈 줄기 세포들 내로 사이토카인 수용체들 및 분화 (CD) 단백질들의 클러스터와 같은 특정 세포 표면 계통 마커들

의 발현에 의하여 확인될 수 있다.

- [0236] HSC들을 이용한 유전자 요법은 면역 질환들을 포함하는 조혈계의 질환들을 치료하는 거대한 잠재력을 가진다. 이 접근에서, HSC들은 환자로부터 수집되고, 레트로바이러스 벡터들을 통합하여 엑스-비보에서 유전자 변형되고, 그 다음에 환자 내로 주입된다. 지금까지 레트로바이러스 벡터들은 HSC 유전자 요법을 위한 유일하게 효과적인 유전자 전달 시스템이었다. 벡터들을 통합하는 것을 이용함으로써 HSC들에의 유전자 전달은 이로써 HSC-유래 성숙 조혈 세포들에 효과적인 전달을 가능하게 한다. 그러나, 환자 내로 주입된 유전자-변형된 세포들은 이들 돌연변이들의 몇몇 증식/생존 이점 때문에 증폭될 수 있는 많은 부정적(adverse) 돌연변이들을 야기할 수 있는, 다른 세포들이 다른 염색체 위치들에서 통합된 벡터 프로바이러스들을 갖는, 폴리클onal 군집이다 (Powers and Trobridge (2013) "Identification of Hematopoietic Stem Cell Engraftment Genes in Gene Therapy Studies" J Stem Cell Res Ther S3:004. doi:10.4172/2157-7633.S3-00).
- [0237] HSC들은 보통 동원(mobilization) 후 말초혈액으로부터 수확된다 (환자들은 재조합 인간 과립구-콜로니 (granulocyte-colony) 자극(stimulating) 인자(factor) (G-CSF)를 받는다). 환자의 말초혈액은 수집되고 CD34+ 마커에 의하여 HSC들에 대하여 강화된다. HSC들은 그 다음에 엑스 비보에서 배양되고 바이러스 벡터들에 노출된다. 엑스 비보 배양 기간은 1 일부터 4일까지 다양하다. 유전자-변형된 HSC들의 주입 전에, 환자들은 이식 효율을 향상시키는 것을 돕기 위하여 방사선 또는 화학치료 제제들로 치료될 수 있다. 유전자-변형된 HSC들은 환자 내로 정맥주사로 재-주입된다. 세포들은 최종적으로 동양혈관들(sinusoids) 및 혈관주위 조직에서 살기 전에 골수 내로 이동한다. 호밍 및 조혈작용은 둘 다 이식의 필수적인 측면들이다. 호밍을 통하여 줄기 세포 틈(niche)에 도달한 세포들은 각 혈액 계통으로부터 성숙 골수 및 림프 세포들을 생산하는 것을 시작한다. 조혈작용은 환자의 성숙 혈액 세포들의 평생 발생 동안 자가-재생, 특히, 감염된 그리고 악성인 세포들을 제거하기 위한 주요 면역 세포들인, T 세포들 및 NK 세포들과 같은 보통의 림프 전구 세포들의 생산이 가능한 장기 HSC들의 작용을 통하여 지속된다.
- [0238] 본 발명은 내생 프로모터들, 특히 특정 조혈 계통의 세포들 내로 특이적으로 활성화되는 유전자들의 내생 프로모터들의 통제 하, 또는 특정 분화 단계, 바람직하게는 분화의 후기 단계에서, 외인성 코딩 서열들을 도입하기 위하여 HSC들에서 유전자 타겟이 된 삽입을 수행하는 것을 제공한다. 앞 문단에서 언급된 바와 같이 엑스-비보 치료 동안 HSC들은 AAV 벡터와 같은 폴리뉴클레오타이드 벡터 (기증자 주형)으로 형질도입되는 반면, 서열 특이적 뉴클레아제 시약은 선택된 자리에서 코딩 서열들의 삽입을 촉진하도록 발현된다. 그 결과인 조작된 HSC들은 그 다음에 상기 외인성 코딩 서열들을 포함할 조작된 면역 세포들의 장기 인-비보 생산을 위하여 이를 필요로 하는 환자 내로 이식된다. 선택된 내생 프로모터의 활성화에 의존하여, 코딩 서열들은 인-비보에서 면역 세포들의 국소적 환경에 반응하여 또는 특정 계통들에서 선택적으로 발현할 것이고, 이로써 입양(adoptive) 면역요법을 제공한다.
- [0239] 본 발명의 하나의 선호되는 측면에 따라, 외인성 코딩 서열들은 전사 활성이 CD34, CD43, Flt-3/Flk-2, IL-7 R 알파/CD127 및 Neprilysin/CD10와 같은 보통의 림프 전구 세포들에서 특이적으로 유도되는, 유전자의 프로모터들의 통제 하에 위치된다.
- [0240] 더 선호적으로, 외인성 코딩 서열들은 전사 활성이 CD161, CD229/SLAMF3, CD96, DNAM-1/CD226, Fc 감마 RII/CD32, Fc 감마 RII/RIII (CD32/CD16), Fc 감마 RIII (CD16), IL-2 R 베타, 인테그린 알파 2/CD49b, KIR/CD158, NCAM-1/CD56, NKG2A/CD159a, NKG2C/CD159c, NKG2D/CD314, NKp30/NCR3, NKp44/NCR2, NKp46/NCR1, NKp80/KLRF1, Siglec-7/CD328 및 TIGIT와 같이 NK 세포들에서 특이적으로 유도되는, 또는 CCR7, CD2, CD3, CD4, CD8, CD28, CD45, CD96, CD229/SLAMF3, DNAM-1/CD226, CD25/IL-2 R 알파, L-Selectin/CD62L 및 TIGIT와 같이 T-세포들에서 유도되는, 유전자의 프로모터들의 통제 하에 위치된다.
- [0241] 본 발명은 바람직하게는 HSC에서 발현되지 않는 유전자의, 더욱 바람직하게는 상기 HSC에 의하여 생산되는 조혈 세포들에서만 발현되는 유전자의, 그리고 더욱 더 바람직하게는 NK 세포들 또는 T-세포들에서만 발현되는 유전자의, 프로모터의 전사 조절 하, HSC들 내로 CAR를 코딩하는 외인성 서열 또는 그것의 요소의 도입을 바람직한 측면으로서 포함한다.
- [0242] 종전 장벽을 통과하기 위한 HSC들에서 조건부 CAR 발현
- [0243] 본 발명의 특정 측면은 외인성 코딩 서열들, 특히 CAR 또는 그 요소를 발현시키는, T-세포들 또는 NK-세포들과 같은, 조혈 면역 세포들의 상기 조작된 HSC들에 의한 인-비보 생산에 대한 것이다.
- [0244] 조작된 HSC들에 의한 조혈 CAR 양성 세포들의 생산의 하나의 주요한 장애물은 예컨대, 면역 체계 그 자체, 특히

흉선에 의한 CAR 양성 세포들의 거부이다. 혈액-흉선 장벽은 흉선 및 순환계 사이의 물질들의 교환을 조절하고, 미성숙 T 세포들이 발달하기 위한 격리된 환경을 제공한다. 장벽은 또한 미성숙 T 세포들이 외부 항원들과 접촉하는 것을 방지한다 (이 단계에서 항원들과의 접촉은 T 세포들이 세포자멸사에 의하여 죽는 것을 야기할 것이기 때문이다)

[0245] 본 발명에 의하여 제공되는 하나의 방법은 그것들이 흉선 장벽을 통과할 때 조혈 세포들 내로 상당히 전사되지 않는 프로모터들의 전사 조절 하에 HSC들에서 CAR 요소들을 코딩하는 서열들을 위치시키는 것이다. 흉선에서 감소되거나 상당하지 않은 전사 활성으로 조혈 세포들 내로 CAR의 조건부 발현을 제공하는 유전자의 한 예는 LCK 이다 (Uniprot: P06239).

[0246] 본 발명의 선호되는 측면에 따라, CAR, 또는 그것의 요소를 코딩하는 외인성 서열이 T-세포들 또는 NK 세포들에서, 바람직하게는 이들 타입들의 세포들 만에서, 특이적으로 발현되는 것으로 기재된 유전자의 전사 조절 하 HSC 내로 도입된다.

[0247] 이로써 본 발명은 선택된 조혈 계통(들)에서 배타적으로 발현되는 외인성 코딩 서열들을 포함하는 HSC들을 생산하는 방법을 제공하고, 상기 코딩 서열들은 면역 체계를 자극하기 위하여 바람직하게는 항원의 또는 CAR의 적어도 하나의 요소를 코딩한다.

[0248] 더 넓게, 본 발명은 상기 HSC들에 의하여 생산되는 조혈 세포들에서 선택적으로 발현되는 외인성 코딩 서열들의 유전자 타겟이 된 삽입에 의하여 HSC들을 조작하는 방법을 제공한다. 선호되는 예로서, 상기 조작된 HSC들에서 생산된 상기 조혈 세포들은 치료 가능성을 개선하기 위하여 인-비보 자극들 또는 선택된 환경 인자들에 반응하여 상기 외인성 코딩 서열들을 발현시킨다.

[0249] 내생 계놈 서열들의 불활성화와 면역 세포들에서 타겟된 서열 삽입(들)의 조합

[0250] 본 발명의 하나의 특정 관점은 그 발현이 상기 조작된 세포들의 치료 가능성을 개선하는, 상기 자리에서 외인성 코딩 서열을 통합함으로써 자리에서 일차(primary) 면역 세포들에서 유전자 불활성화를 수행하는 것이다. 본 발명에 따라 삽입될 수 있는 관련 외인성 코딩 서열들의 예들은 세포들의 치료 가능성에 대한 그것들의 긍정적인 효과들과 관련하여 상기에 제시되었다. 여기에서는 하기에 바람직하게는 유전자 타겟이 된 삽입에 의하여 타겟이 되는 내생 유전자 및 그것들의 불활성화와 관련된 이점들이 보여진다.

[0251] 본 발명의 선호되는 측면에 따라, 코딩 서열의 삽입은 받는 사람(recipient) 환자 내로 동종이계 세포들의 도입이 되면 면역 거부 또는 숙주(host) 대(versus) 이식편(graft) 질환(disease) (GVHD) 반응을 감소시키기 위하여 자가 및 비-자가 인식에 수반되는 유전자들의 발현을 감소 또는 방지하는 효과를 갖는다. 예컨대, 본 발명에서 사용되는 서열-특이적 시약들 중 하나는 TCR-알파 또는 TCR-베타를 코딩하는 유전자들과 같은, 일차 T-세포들에서 TCR의 발현을 감소 또는 방지할 수 있다.

[0252] 또다른 선호되는 측면으로써, 하나의 유전자 편집 단계는 $\beta 2m$ 단백질 및/또는 HLA 단백질들과 같은, MHC 인식에서 또는 C2TA (Uniprot P33076)와 같은 그것의 조절에 관여하는 또다른 단백질의 발현을 감소 또는 방지하기 위한 것이다. 이것은 조작된 면역 세포들이 환자들 내로 주입될 때 덜 동종반응성(alloreactive)이 되는 것을 가능하게 한다.

[0253] "동종반응성(alloreactive) 치료적 이용"에 의하여, 다른 하플로타입(haplotype)을 갖는 환자들 내로 주입되는 것을 고려하여 세포들이 기증자로부터 유래되는 것이 의미된다. 과연 본 발명은 숙주-이식편 상호작용 및 인식에 관련되는 여러가지 유전자 자리들에서 편집된 유전자일 수 있는, 일차(primary) 세포들을 수득하기 위한 효율적인 방법을 제공한다.

[0254] 다른 자리들은 또한 활성을 개선시키는 것을 고려하여 편집될 수 있고, 여기에서 하기에 상세히 설명한 대로, 조작된 일차(primary) 세포들의 치료적 활성의 지속:

[0255] 체크포인트 수용체들 및 면역 세포들 억제 경로의 불활성화:

[0256] 본 발명의 선호되는 측면에 따라, 삽입된 외인성 코딩 서열은 면역 세포들 억제 경로들에서 관련된 단백질의, 특히 "면역 체크포인트"로 문헌에서 언급된 것들, 발현을 감소 또는 방지하는 효과를 갖는다 (Pardoll, D.M. (2012) The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy, Nature Reviews Cancer, 12:252-264). 본 발명의 뜻 그대로, "면역 세포들 억제 경로들"은 악성 또는 감염된 세포들을 향한 림프구들의 세포독성 활성의 감소를 이끌어내는 면역 세포들에서 임의의 유전자 발현을 의미한다. 이는 예컨대 (T-세포 활성을 조정하는)

T 세포들 상에 Tregs의 활성을 이끄는 것으로 알려진, FOXP3의 발현에 관련되는 유전자일 수 있다.

[0257] "면역 체크포인트들"은 면역 세포의 활성화의 신호를 올리거나 (공-자극 분자들) 또는 신호를 낮추는 면역 체계 내 분자들이다. 본 발명에 따라, 면역 체크포인트들 더욱 특히 (T 세포 수용체(TCR)에 의해 인식되는 펩타이드-주요(major) 조직적합성(histocompatibility) 복합체(complex) (MHC) 분자에 의하여 매개되는) 항원에 대한 T 세포 반응을 조절하는 항원-제시(presenting) 세포들 (APCs) 및 T 세포들 사이의 리간드-수용체 상호작용들에 관여되는 지명된 표면 단백질들. 이들 상호작용들은 (주요 APC들이 수지상 세포들인) 림프절들 또는 (효과기 반응들이 조절되는) 종양들 또는 말초 조직들에서 T 세포 반응들의 개시 때 발생할 수 있다. 공-자극 및 억제 수용체들 둘다에 결합하는 막-결합된 리간드들의 하나의 중요한 패밀리는 B7 패밀리이다. B7 패밀리 멤버들 및 그것들의 알려진 리간드들 모두는 면역글로불린 슈퍼패밀리에 속한다. 더욱 최근에 확인된 B7 패밀리 멤버들을 위한 수용체들 중 많은 수가 아직 확인되지 않았다. 동계 TNF 수용체 패밀리 분자들에 결합하는 종양 괴사 인자 (TNF) 패밀리 멤버들은 조절 기간드-수용체 쌍들의 두 번째 패밀리를 나타낸다. 이들 수용체들은 대개 그것들의 동계 리간드들에 의하여 이용될 때 공-자극 신호들을 전달한다. T 세포들의 활성화를 조절하는 또다른 주요 카테고리인 미세환경에서 용해성 사이토카인들에서 나온다. 다른 경우들에서, 활성화된 T 세포들은 APC들 상에서 동계 수용체들을 이용하는 CD40L과 같은 리간드들을 상향조절한다. A2aR, 아데노신 A2a 수용체; B7RP1, B7-관련된 단백질 1; BTLA, B 및 T 림프구 감쇠기(attenuator); GAL9, 갈렉틴(galectin) 9; HVEM, 헤르페스바이러스 진입(entry) 중재자(mediator); ICOS, 유도가능한 T 세포 공-자극자; IL, 인터루킨; KIR, 킬러 세포 면역글로불린-유사 수용체; LAG3, 림프구 활성화 유전자 3; PD1, 프로그램된 세포사 단백질 1; PDL, PD1 리간드; TGFβ, 형질전환(transforming) 성장(growth) 인자(factor)-β; TIM3, T 세포 막 단백질 3.

[0258] 그 발현이 본 발명에 따른 조작된 면역 세포들에서 활성화를 높이기 위하여 감소 또는 억제될 수 있는 추가의 내생 유전자들의 예들이 표 3에 목록으로 되어 있다.

[0259] 예컨대, 삽입된 외인성 코딩 서열(들)은 PD1 (Uniprot Q15116), CTLA4 (Uniprot P16410), PPP2CA (Uniprot P67775), PPP2CB (Uniprot P62714), PTPN6 (Uniprot P29350), PTPN22 (Uniprot Q9Y2R2), LAG3 (Uniprot P18627), HAVCR2 (Uniprot Q8TDQ0), BTLA (Uniprot Q7Z6A9), CD160 (Uniprot Q95971), TIGIT (Uniprot Q495A1), CD96 (Uniprot P40200), CRTAM (Uniprot Q95727), LAIR1 (Uniprot Q6GT8X), SIGLEC7 (Uniprot Q9Y286), SIGLEC9 (Uniprot Q9Y336), CD244 (Uniprot Q9BZW8), TNFRSF10B (Uniprot Q14763), TNFRSF10A (Uniprot Q00220), CASP8 (Uniprot Q14790), CASP10 (Uniprot Q92851), CASP3 (Uniprot P42574), CASP6 (Uniprot P55212), CASP7 (Uniprot P55210), FADD (Uniprot Q13158), FAS (Uniprot P25445), TGFBRII (Uniprot P37173), TGFBRI (Uniprot Q15582), SMAD2 (Uniprot Q15796), SMAD3 (Uniprot P84022), SMAD4 (Uniprot Q13485), SMAD10 (Uniprot B7ZSB5), SKI (Uniprot P12755), SKIL (Uniprot P12757), TGIF1 (Uniprot Q15583), IL10RA (Uniprot Q13651), IL10RB (Uniprot Q08334), HMOX2 (Uniprot P30519), IL6R (Uniprot P08887), IL6ST (Uniprot P40189), EIF2AK4 (Uniprot Q9P2K8), CSK (Uniprot P41240), PAG1 (Uniprot Q9NWQ8), SIT1 (Uniprot Q9Y3P8), FOXP3 (Uniprot Q9BZS1), PRDM1 (Uniprot Q60636), BATF (Uniprot Q16520), GUCY1A2 (Uniprot P33402), GUCY1A3 (Uniprot Q02108), GUCY1B2 (Uniprot Q8BXH3) 및 GUCY1B3 (Uniprot Q02153)로부터 선택된 적어도 하나의 단백질의 조작된 면역 세포에 의하여, 발현이 감소 또는 방지되는 효과를 가질 수 있다. 상기 단백질들을 코딩하는 유전자들에 도입된 유전자 편집은 바람직하게는 CAR T 세포들에서 TCR의 불활성화와 조합된다.

[0260] 신호는 PD-L1 리간드 및/또는 CTLA-4 Ig와 같은, 비-내생 면역억제성 폴리펩타이드의 발현과 조합하여, PD1 및/또는 CTLA4의 불활성화에 주어진다 (표 1 및 2의 펩타이드들 또한 참조).

표 3

경로		경로에서 불활성화될 수 있는 유전자들
공-억제 수용체들	CTLA4 (CD152)	CTLA4, PPP2CA, PPP2CB, PTPN6, PTPN22
	PDCD1 (PD-1, CD279)	PDCD1
	CD223 (lag3)	LAG3
	HAVCR2 (tim3)	HAVCR2
	BTLA(cd272)	BTLA
	CD160(by55)	CD160
	IgSF 패밀리	TIGIT
		CD96
		CRTAM
	LAIR1(cd305)	LAIR1
	SIGLECs	SIGLEC7
		SIGLEC9
	CD244(2b4)	CD244
죽음(Death) 수용체들	TRAIL	TNFRSF10B, TNFRSF10A, CASP8, CASP10, CASP3, CASP6, CASP7
	FAS	FADD, FAS
사이토카인 신호전달	TGF-베타 신호전달	TGFBRII, TGFBRI, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMAD10, SKI, SKIL, TGIF1
	IL10 신호전달	IL10RA, IL10RB, HMOX2
	IL6 신호전달	IL6R, IL6ST
TCR 신호전달의 방지		CSK, PAG1
		SIT1
유도된 Treg	유도된 Treg	FOXP3
소모를 통제하는 전사 인자들	소모를 통제하는 전사 인자들	PRDM1
		BATF
저산소증 매개된 용인	iNOS 유도된 구아닐화된 사이클레이즈	GUCY1A2, GUCY1A3, GUCY1B2, GUCY1B3

[0261]

[0262] 표 3: 면역 세포들 억제 경로들 내에 관련된 유전자들의 목록

[0263] 억제성 사이토카인들/대사산물들의 억제

[0264] 본 발명의 또다른 측면에 따라, 삽입된 외인성 코딩 서열은, 특히 TGFbeta (Uniprot:P01137), TGFbR (Uniprot:P37173), IL10 (Uniprot:P22301), IL10R (Uniprot: Q13651 및/또는 Q08334), A2aR (Uniprot: P29274), GCN2 (Uniprot: P15442) 및 PRDM1 (Uniprot: 075626)인, 억제성(suppressive) 사이토카인들 또는 대사산물들 또는 그것의 수용체들을 양성 조절하거나 또는 코드하는 유전자들의 발현을 감소 또는 방지하는 효과를 갖는다.

[0265] 그 안에서 IL-2, IL-12 또는 IL-15를 코드하는 서열이 상기 내생 유전자들 중 적어도 하나의 서열을 대체하는, 조작된 면역 세포들이 선호된다.

[0266] 화학요법 약물들에 대한 내성 유도

[0267] 본 발명의 또다른 측면에 대하여, 삽입된 외인성 코딩 서열은 화학요법에서 흔히 사용되는 약물들 퓨린(purine) 뉴클레오타이드 유사체들(analogs) (PNA) 또는 6-메르캅토피린(Mercaptopurine) (6MP) 및 6 티오(thio)-구아닌(guanine) (6TG)과 같은, 암 또는 감염의 관리(care) 치료들의 표준에서 사용되는 화합물들에 대한 면역 세포들의 민감도의 원인이 되는 유전자의 발현을 감소 또는 방지하는 효과를 갖는다. ("약물 민감성 유전자"로도 불리는) 이러한 화합물들의 작용의 모드 내에 관련된 유전자들을 감소 또는 불활성화시키는 것은 이에 대한 면역

세포들의 내성을 개선한다.

- [0268] 약물 민감성 유전자의 예들은 항염산제 약물들, 특히 메토틱렉사트의 활성화에 대하여 GGH (Uniprot Q92820) 및, 6MP 및 6TG와 같은 퓨린 대사길항물질들의 활성화에 대하여 HPRT (Uniprot P00492), 플루다라빈(fludarabine) 및 사이클로파라빈(clorofarabine)과 같은, PNA의 활성화에 대하여 DCK (Uniprot P27707)를 코딩하는 것들이다.
- [0269] 이것은 세포들이 종래 항암 화학요법들과 조합하여 또는 그 이후에 사용되는 것을 가능하게 한다.
- [0270] 면역-억제성 치료들에 대한 내성
- [0271] 본 발명의 또다른 측면에 따라, 삽입된 외인성 코딩 서열은 약물 타겟들인, 수용체들 또는 단백질의 발현을 감소 또는 방지하는 효과를 갖는데, 이는 상기 세포들을 면역-고갈 약물 치료들에 대하여 내성으로 만든다. 이러한 타겟은 조작된 면역 세포들을 많은 암 치료들에서, CD52 양성 면역 세포들을 소모시키는데 사용되는, 알렘투주맙(Alemtuzumab)과 같은, 항체들을 이용한 면역 소모 치료들 또는 글루코코르티코이드들에 내성으로 만들기 위하여, 글루코코르티코이드들 수용체들 또는 항원들일 수 있다.
- [0272] 본 발명의 방법은 또한 CD52 (Uniprot P31358) 및/또는 GR (NR3C1 - Uniprot P04150)으로도 불리는 글루코코르티코이드들 수용체)의 발현을 조절하거나 또는 코딩하는 내생 유전자(들) 내 유전자 타겟이 된 삽입을 포함할 수 있다.
- [0273] CAR 양성 면역 세포들 활성화 및 생존의 개선
- [0274] 본 발명의 또다른 측면에 따라, 삽입된 외인성 코딩 서열은 BCMA, CS1 및 CD38와 같은, 표면 항원의 발현을 감소 또는 방지하는 효과를 가질 수 있고, 이때 이러한 항원은 상기 면역 세포들에 의하여 발현되는 CAR에 의하여 타겟되는 것이다.
- [0275] 이 예는 감염된 또는 악성인 세포들의 표면에 존재하나, 또한 어느 정도는 면역 세포 자체에 의하여 발현되는, CAR를 타겟으로 하는 항원들의 문제를 해결할 수 있다.
- [0276] 선호되는 예에 따라, CAR 또는 그것의 구성성분들 중 하나를 코딩하는 외인성 서열은 면역 세포들의 자가-파괴를 피하기 위하여 상기 CAR에 의하여 타겟되는 항원을 코딩하는 유전자 내로 통합된다.
- [0277] 조작된 면역 세포들 및 면역 세포들의 군집들
- [0278] 본 발명은 또한 세포들의 군집들의 부분으로서 또는 분리된 형태 하 전에 기재된 방법 중 하나에 따라 수득가능한 여러가지 조작된 면역 세포들에 대한 것이다.
- [0279] 본 발명의 선호되는 측면에 따라, 조작된 세포들은, 일반적으로 다른 종류들의 세포들에 관련될 수 있는 세포들의 군집들의 부분인, T-세포들 또는 NK 세포들과 같은, 일차(primary) 면역 세포들이다. 일반적으로, PBMC (말초혈액(peripheral blood) 단핵세포들(mononuclear cells))로부터 백혈구성분채집술에 의하여 분리된 환자들 또는 기증자들로부터 유래된 군집.
- [0280] 본 발명의 선호되는 측면에 따라, 상기 군집에 포함되는 면역 세포들의 50% 초과가 TCR 음성 T-세포들이다. 본 발명의 더욱 선호되는 측면에 따라, 상기 군집에 포함되는 면역 세포들의 50% 초과가 CAR 양성 T-세포들이다.
- [0281] 본 발명은 각각 독립적으로 상기 기재된, 유전자 불활성화 및 다른 외인성 코딩 서열들의 임의의 조합들을 포함하는 면역 세포들을 포함한다. 이들 조합들 중에서 특히 바람직하게는 상기 활성화와 독립적으로, 면역 세포 활성화 동안 꾸준히 활성인 내생 프로모터의 전사 조절 하 CAR의 발현 및 면역 세포 활성화 동안 상향조절되는 프로모터의 전사 조절 하, IL-2, IL-12 또는 IL-15와 같은 사이토카인을 코딩하는 외인성 서열의 발현을 조합하는 것들이 선호된다.
- [0282] 또다른 선호되는 조합은 저산소증-유도 인자 1 유전자 프로모터 (Uniprot: Q16665)의 전사 통제 하 CAR 또는 그것의 구성성분들 중 하나를 코딩하는 외인성 서열의 삽입이다.
- [0283] 본 발명은 또한, 감염 또는 암의 치료를 위하여 앞서 기재된 대로, 조작된 일차(primary) 면역 세포 또는 면역 세포 군집을 포함하는 약학적 조성물 및 이를 필요로 하는 환자를 치료하는 방법에 대한 것으로, 상기 방법을 하기를 포함한다:
- [0284] - 전술된 대로 본 발명의 방법에 따라 조작된 일차(primary) 면역 세포들의 군집을 준비하는(preparing) 단계;
- [0285] - 선택적으로, 상기 조작된 일차 면역 세포들을 정제 또는 분류하는 단계;

- [0286] - 상기 환자 내로 상기 세포들의 주입 후 또는 주입되면, 조작된 일차(primary) 면역 세포들의 상기 군집을 활성화시키는 단계.
- [0287] T 세포들의 활성화 및 확장
- [0288] 유전적 변형 전 또는 후에, 본 발명에 따른 면역 세포들은, 비록, 그것들이 항원 결합 메커니즘들에 독립적으로 증식 또는 활성화될 수 있다고 하더라도, 활성화되거나 또는 확장될 수 있다. 특히, 예컨대, U.S. Patents 6,352,694; 6,534,055; 6,905,680; 6,692,964; 5,858,358; 6,887,466; 6,905,681; 7,144,575; 7,067,318; 7,172,869; 7,232,566; 7,175,843; 5,883,223; 6,905,874; 6,797,514; 6,867,041; and U.S. Patent Application Publication No. 20060121005에 기재된 대로의 방법들을 이용하여 활성화되거나 또는 확장될 수 있다. T 세포들은 인 비트로 또는 인 비보에서 확장될 수 있다. T 세포들은 일반적으로 T 세포를 위한 활성화 신호를 만들기 위하여, T-세포들의 표면 상 공-자극 분자 및 CD3 TCR 복합체를 자극하는 제제와의 접촉에 의하여 확장된다. 예를 들어, 칼슘 이노포어(ionophore) A23187, 포르볼(phorbol) 12-미리스테이트(myristate) 13-아세테이트(acetate) (PMA), 또는 피토헤마글루티닌(phytohemagglutinin) (PHA) 같은 분열촉진(mitogenic) 렉틴들(lectins)과 같은 화합물들이 T-세포의 활성화 신호를 만들기 위하여 사용될 수 있다.
- [0289] 제한되지 않는 예들로서, T-세포 군집들(populations)은 항-CD3 항체 또는 그것의 항원-결합 단편과의 접촉에 의한 것과 같이 인 비트로로, 또는 표면에 고정된 항-CD2 항체, 또는 칼슘 이노포어와 함께 단백질 키나아제 C 활성화제(activator) (예컨대, 브리오스타틴(bryostatatin))과의 접촉에 의하여, 자극될 수 있다. T-세포들의 표면에서 악세서리(accessory) 분자의 공-자극을 위하여, 악세서리 분자에 결합되는 리간드가 사용된다. 예를 들어, T-세포들의 군집은 T-세포들의 증식을 자극하기에 적합한 조건들 하, 항-CD3 항체 및 항-CD28 항체와 접촉될 수 있다. T 세포 배양에 적합한 조건들은 혈청 (예컨대, 소태아 또는 인간 혈청), 인터루킨-2 (IL-2), 인슐린, IFN- γ , IL-4, IL-7, GM-CSF, -10, -2, IL-15, TGF β , 및 TNF- 또는 당업자에게 알려진 세포들의 성장을 위한 다른 임의의 첨가제들을 포함하는, 증식 및 생존 능력에 필요한 인자들을 포함할 수 있는, 적합한 배지(예컨대, 최소(Minimal) 필수(Essential) 배지(Media) 또는 RPMI Media 1640 또는, X-vivo 5, (Lonza))를 포함한다. 세포들의 성장을 위한 다른 첨가제들은 계면활성제, 플라스마네이트(plasmanate) 및 N-아세틸-시스테인(cysteine) 및 2-머캅토에탄올(mercaptoethanol)과 같은 환원제들을 포함하나, 이에 제한되는 것은 아니다. 배지는 RPMI 1640, A1M-V, DMEM, MEM, α -MEM, F-12, X-Vivo 1, 및 X-Vivo 20, 및 첨가된 아미노산들과 함께, Optimizer, 나트륨(sodium) 피루베이트(pyruvate) 및 비타민들, 혈청-없이, 또는 적합한 양의 혈청(또는 혈장)이 보충되어, 또는 호르몬들의 정의된 세트, 및/또는 T-세포들의 성장 및 확장에 충분한 양의 사이토카인(들)을 포함할 수 있다. 예컨대, 페니실린 및 스트렙토마이신과 같은 항생제들이 실험 배양에만 포함되고, 대상에 주입되는 세포들의 배양에는 포함되지 않는다. 타겟 세포들은 성장을 지지하는데 필요한 조건들, 예컨대, 적당한 온도 (즉, 37 °C) 및 대기 (즉, 공기 플러스 5% CO₂) 하 유지된다. 여러가지 자극 시간들에 노출되어 온 T 세포들은 다른 특성들을 보일 수 있다.
- [0290] 또다른 특정 예에서, 상기 세포들은 조직 또는 세포들과 공-배양함으로써 확장될 수 있다. 상기 세포들은 또한 인 비보, 예를 들어 대상 내로 상기 세포를 투여한 후 대상의 혈액에서 확장될 수 있다.
- [0291] 치료적 조성물들 및 적용들
- [0292] 상기 기재된 본 발명의 방법은 약 15 내지 30 일, 바람직하게는 15 일 및 20 일 사이, 그리고 가장 바람직하게는 18일 및 20일 사이의 제한된 시간 프레임 내에 조작된 일차(primary) 면역 세포들을 생산하는 것을 가능하게 하여, 특히 그것들의 세포독성 활성화에 대하여 그것들이 그것들의 완전한 면역 치료 가능성을 유지하게 된다.
- [0293] 이들 세포들은 세포들의 군집을 형성하는데, 이는 바람직하게는 단일의 기증자 또는 환자로부터 유래된다. 이들 세포들의 군집들은 가장 높은 제조 관리기준 요구들을 지키기 위하여 폐쇄된 배양 받는 사람들 하에 확장될 수 있고, 환자 내로 주입 전에 동결될 수 있어, 이로써 "기성품(off the shelf)" 또는 "즉각 사용되는(easy to use)" 치료적 조성물들을 제공한다.
- [0294] 본 발명에 따라, 동일한 백혈구성분채집술로부터 유래되는 세포들의 상당한 수가 수득될 수 있는데, 이는 환자를 치료하기 위하여 충분한 투여량을 얻는데 중요하다. 여러가지 기증자들로부터 유래된 세포들의 군집들 사이의 변형들이 관찰될 수 있는 것에도 불구하고, 백혈구성분채집술에 의하여 입수되는 면역 세포들의 수는 일반적으로 PBMC의 약 10⁸ 부터 10¹⁰까지의 세포들이다. PBMC는 몇몇 종류들의 세포들을 포함한다: 과립구들, 단핵구들 및 림프구들, T-세포들 중 30 부터 60 %까지의 것들 중, 이는 일반적으로 한 명의 기증자로부터의 일차 T-세

세포들의 10^8 내지 10^9 사이를 나타낸다. 본 발명의 방법은 일반적으로 결국 일반적으로 약 10^8 T-세포들 초과, 더 일반적으로 약 10^9 T-세포들 초과, 더욱 더 일반적으로 약 10^{10} T-세포들 초과, 그리고 보통 10^{11} T-세포들 초과에 도달하는 조작된 세포들의 군집과 함께 한다.

- [0295] 그러므로 본 발명은 더욱 특히 일차(primary) 면역 세포들의 치료적으로 효과적인 군집에 대한 것으로, 이때 상기 군집 내 세포들의 적어도 30 %, 바람직하게는 50 %, 더욱 바람직하게는 80 %는 여기에 기재된 방법들 중 임의의 하나에 따라 변형된다. 본 발명에 따라, 일차(primary) 면역 세포들의 상기 치료적으로 효과적인 군집은 표 6에 기재된 유전자들의 적어도 하나로부터의 내생 프로모터의 전사 조절 하 통합된 적어도 하나의 외인성 유전적 서열을 갖는 면역 세포들을 포함한다.
- [0296] 그러므로 이러한 조성물들 또는 세포들의 군집들은 이를 필요로 하는 환자에 있어서, 특히 암 치료를 위하여, 특히 림프종, 그러나 또한 고형 종양들 예를 들어 흑색종들, 신경아세포종들(neuroblastomas), 신경교종들(gliomas), 또는 암종들(carcinomas) 예를 들어 폐, 유방, 결장(colon), 전립선 또는 난소 종양들의 치료를 위하여: 의약품으로서 사용될 수 있다.
- [0297] 본 발명은 더욱 특히 단일 기증자로부터 유래된 일차 TCR 음성 T-세포들의 군집에 대한 것으로 이때, 상기 군집 내 세포들의 적어도 20 %, 바람직하게는 30 %, 더욱 바람직하게는 50 %는 적어도 둘, 바람직하게는 세 개의 다른 자리들에서 서열-특이적 시약들을 이용하여 변형되었다.
- [0298] 또다른 측면에서, 본 발명은 그것을 필요로 하는 환자들을 치료하는 방법들에 의존하며, 상기 방법은 하기 단계들 중 적어도 하나를 포함한다:
- [0299] (a) 환자들 종양들 생검들의 표면에 존재하는 특정 항원 마커들을 결정하는 단계;
- [0300] (b) 상기 특정 항원 마커들에 대항하여 항해진 CAR를 발현시키는, 전술된 본 발명의 방법들 중 하나에 의하여 조작된, 조작된 일차(primary) 면역 세포들의 군집을 제공하는 단계;
- [0301] (c) 상기 환자에게 조작된 일차(primary) 면역 세포들의 상기 조작된 군집을 투여하는 단계,
- [0302] 일반적으로, 세포들의 상기 군집들은 주로 T-세포들과 같은, CD4 및 CD8 양성 면역 세포들을 포함하는데, 이는 활발한(robust) 인 비보 T 세포 확장을 겪을 수 있고 인-비트로 및 인-비보에서 확장된 시간 동안 지속될 수 있다.
- [0303] 본 발명에 따른 조작된 일차(primary) 면역 세포들을 수반하는 치료는 개선, 치유 또는 예방될 수 있다. 그것은 자가 면역요법의 일부 또는 동종이계(allogenic) 면역요법 치료의 일부일 수 있다. 자가에 의하여, 환자들을 치료하는데 사용되는 세포들, 세포주 또는 세포들의 군집이 상기 환자로부터 또는 인간(Human) 백혈구(Leucocyte) 항원(Antigen) (HLA) 양립성(compatible) 기증자로부터 유래된다는 것이 의미된다. 동종이계에 의하여, 환자들을 치료하는데 사용되는 세포들, 또는 세포들의 군집이 상기 환자가 아닌 기증자로부터 유래된다는 것이 의미된다.
- [0304] 또다른 예에서, 본 발명에 따른 상기 분리된 세포 또는 상기 분리된 세포로부터 유래된 세포주는 액상(liquid) 종양들, 바람직하게는 T-세포 급성 림프모구(lymphoblastic) 백혈형(leukemia)의 치료에 사용될 수 있다.
- [0305] 성인 종양들/암들 및 소아 종양들/암들 또한 포함된다.
- [0306] 본 발명에 따른 조작된 면역 세포들로 하는 치료는 항체들 치료, 화학요법, 사이토카인들 치료, 수지상 세포 치료, 유전자 치료, 호르몬 치료, 레이저 광 치료 및 방사선 요법의 군으로부터 선택되는 암에 대항한 하나 이상의 치료들과 조합될 수 있다.
- [0307] 본 발명의 바람직한 예에 따라, 상기 치료는 면역억제제 치료를 겪는 환자들에게 투여될 수 있다. 정말로, 본 발명은 바람직하게는 이러한 면역억제제 제제와 같은 수용체를 코드하는 유전자의 불활성화 때문에 적어도 하나의 면역억제제 제제에 내성으로 만들어진, 세포들 또는 세포들의 군집에 의존한다. 이 측면에서, 면역억제제 치료는 선택 및 환자 내에서 본 발명에 따른 T-세포들의 확장을 도와야 한다.
- [0308] 본 발명에 따른 세포들 또는 세포들의 군집의 투여는 에어로졸 흡입, 주사, 섭취, 투입(transfusion), 임플란트(implantation) 또는 이식(transplantation)을 포함하는, 임의의 편리한(convenient) 방식으로 수행될 수 있다. 여기에서 기재된 조성물들은 환자에게 피하로, 피내로, 종양내로, 절내로(intranodally), 척수내로(intramedullary), 근육내로, 정맥 또는 림프절(intralymphatic) 주사에 의하여, 또는 복강내로 환자에게 투여

될 수 있다. 한 예에서, 본 발명의 세포 조성물들은 바람직하게는 정맥 주사에 의하여 투여된다.

[0309] 세포들 또는 세포들의 군집의 투여는 kg 체중 당 10^4 - 10^9 세포들, 바람직하게는 그 범위 내 세포 수들의 모든 정수 값들을 포함하는 10^5 내지 10^6 세포들/kg 체중의 투여로 구성될 수 있다. 그러므로 본 발명은 단일 기증자의 또는 환자의 샘플링으로부터 유래된 10^6 내지 10^8 사이의 유전자 편집된 세포들을 포함하는, 10 초과, 일반적으로 50 초과, 더 일반적으로 100 초과, 그리고 보통 1000 초과,의 투여량들을 제공할 수 있다.

[0310] 세포들 또는 세포들의 군집은 하나 이상의 투여량으로 투여될 수 있다. 또다른 예에서, 상기 효과적인 양의 세포들은 일회량으로 투여된다. 또다른 예에서, 상기 효과적인 양의 세포들은 일정 시간의 기간 동안 한 복용량보다 많이 투여된다. 투여 타이밍은 담당 의사의 판단 내이며, 환자의 임상적 상태에 의존한다. 세포들 또는 세포들의 군집은 혈액 은행 또는 기증자와 같은, 임의의 소스로부터 취득될 수 있다. 개인의 필요들이 다른 반면, 그 분야의 기술(the skill of the art) 내에서 특정 질병 또는 질환들(conditions)에 대한 정해진 세포 타입의 효과적인 양의 최적 범위의 결정. 효과적인 양은 치료적 또는 예방적(prophylactic) 이점을 제공하는 양을 의미한다. 투여되는 복용량은 받는 사람(recipient)의 연령, 건강 및 무게, 함께 이루어지는 치료의 종류, 만약 있다면, 치료의 빈도 및 바람직한 효과의 특성에 의존할 것이다.

[0311] 또다른 예에서, 상기 효과적인 양의 세포들 또는 그 세포들을 포함하는 조성물은 비경구로 투여된다. 상기 투여는 정맥 투여일 수 있다. 상기 투여는 종양 내로 주사에 의하여 직접적으로 이루어질 수 있다.

[0313] 본 발명의 특정 예들에서, 세포들은 항바이러스 치료, 시토포비르 및 인터루킨-2와 같은 제제들로 하는 치료, MS 환자들을 위한 나탈리지맵(natalizimab) 또는 시트라빈 (ARA-C로도 알려짐) 치료 또는 건선 환자들을 위한 에팔리즈티맵(efaliztimab) 치료 또는 PML 환자들을 위한 다른 치료들을 포함하나 이에 제한되지 않는 많은 관련 치료 양식들과 함께 (예컨대, 그 전, 동시에 또는 그 후) 환자에게 투여된다. 추가의 예들에서, 본 발명의 T 세포들은 화학요법, 방사선(radiation), 면역억제 제제들, 예를 들어 사이클로스포린, 아자티오프린, 메토트렉사트, 마이코페놀레이트(mycophenolate), 및 FK506, 항체들, 또는 다른 면역억제 제제들(immunoablative agents) 예를 들어 CAMPATH, 항-CD3 항체들 또는 다른 항체 요법들, 사이토신, 플루다라빈, 사이클로스포린, FK506, 라파마이신(rapamycin), 마이코프리에놀산(mycophenolic acid), 스테로이드들, FR901228, 사이토카인들, 및 방사선요법(irradiation)과 조합하여 사용될 수 있다. 이들 약물들은 칼슘 의존적 포스포타제 칼시뉴린 (사이클로스포린 및 FK506)을 억제하거나 또는 성장인자 유도된 신호전달에 중요한 p70S6 키나제 (라파마이신)을 억제한다 (Henderson, Naya et al. 1991; Liu, Albers et al. 1992; Bierer, Hollander et al. 1993). 추가의 예에서, 본 발명의 세포 조성물들은 플루다라빈과 같은 화학요법 제제들, 외부-빔 방사 요법(XRT), 사이클로포스파미드, 또는 CAMPATH 또는 OKT3와 같은 항체들을 이용한 T 세포 제거 요법, 골수 이식과 함께 (예컨대, 그 전, 동시에 또는 그 후) 환자에 투여된다. 또다른 예에서, 본 발명의 세포 조성물들은 예컨대, 리툭산(Rituxan)인, CD20와 반응하는 제제들과 같은, B-세포 제거 요법 후 투여된다. 예를 들어, 한 예에서, 대상은 고용량 화학요법으로 표준 치료를 겪을 수 있고 뒤이어 말초혈액 줄기 세포 이식이 이어진다. 특정 예들에서, 이식 후, 대상은 본 발명의 확장된 면역 세포들의 주입을 받는다. 추가적인 예에서, 확장된 세포들은 수술 전 또는 후에 투여된다.

[0314] CAR들이 본 발명에 따른 면역 세포들의 군집들 또는 면역 세포들에서 발현될 때, 선택되는 CAR들은 CD22, CD38, CD123, CS1, HSP70, ROR1, GD3, 및 CLL1로부터 선택되는 적어도 하나의 항원을 타겟으로 하는 것들이다.

[0315] CD22를 타겟으로 하는 변형된 TCR 또는 CAR가 부여된(endowed), 본 발명에 따른 조작된 면역 세포들은 바람직하게는 급성 림프모구 백혈병 (ALL)과 같은 백혈병을 치료하는데 사용되며, CD38을 타겟으로 하는 변형된 TCR 또는 CAR가 부여된 것들은 바람직하게는 T-세포 급성 림프모구 백혈병 (T-ALL) 또는 다발성 골수종(multiple myeloma) (MM)과 같은 백혈병을 치료하는데 사용되고, CD123을 타겟으로 하는 변형된 TCR 또는 CAR가 부여된 것들은 바람직하게는 급성 골수성(myeloid) 백혈병(leukemia) (AML), 및 분야형(blastic) 플라스마사이토이드(plasmacytoid) 수지상(dendritic) 세포들(cells) 신생물(neoplasm) (BPDCN)과 같은 백혈병을 치료하는데 사용되고, CS1을 타겟으로 하는 변형된 TCR 또는 CAR가 부여된 것들은 바람직하게는 다발성 골수종 (MM)을 치료하는데 사용된다.

[0316] 본 발명은 또한 특히 서열번호 :36 내지 40에 의하여 나타내어지는 임의의 서열들을 혼성화하는 프라이머들 또는 프로브들을 이용함으로써, 특히 PD1, CD25, CD69 및 TCR 자리들에서, 본 명세서에서 언급된 내생 자리들에서 외인성 코딩 서열들의 삽입들을 검출하는 PCR 방법들을 이용하는 단계들을 수행함으로써, 원하는 유전적 삽입들

을 포함하는 본 발명의 조작된 세포들을 검출하기 위한 수단들을 포함한다.

- [0317] 면역학적 분석들은 또한 이러한 유전자들이 녹아들거나 또는 그것들의 발현이 감소되는 세포들에서 TCR, PD1, IL-6 또는 IL-8의 발현의 감소 또는 부재를 체크하기 위하여, GP130, CAR들의 조작된 세포들에 의한 발현을 검출하기 위하여 수행될 수 있다.
- [0318] 다른 정의들
- [0319] - 폴리펩타이드 서열에서 아미노산 잔기들은 한-문자 코드에 따라 여기에 지시되며(designated), 여기에서 예를 들어, Q는 Gln 또는 글루타민(Glutamine) 잔기를 의미하고, R은 Arg 또는 알기닌(Arginine) 잔기를 의미하고 그리고 D는 Asp 또는 아스파르트산(Aspartic acid) 잔기를 의미한다.
- [0320] - 아미노산 치환은 하나의 아미노산 잔기의 또다른 것으로의 대체를 의미하며, 예를 들어 펩타이드 서열에서 알기닌 잔기의 글루타민 잔기로의 대체는 아미노산 치환이다.
- [0321] - 뉴클레오타이드들은 하기와 같이 지시된다(designated): 일-문자 코드가 뉴클레오타이드의 염기를 지시하는데 사용된다: a는 아데닌, t는 티민, c는 사이토신 그리고 g는 구아닌이다. 축퇴된(degenerated) 뉴클레오타이드들에 대하여, r은 g 또는 a (퓨린 뉴클레오타이드들)를 나타내고, k는 g 또는 t를 나타내고, s는 g 또는 c를 나타내고, w는 a 또는 t를 나타내고, m은 a 또는 c를 나타내고, y는 t 또는 c (피리미딘 뉴클레오타이드들)를 나타내고, d는 g, a 또는 t를 나타내고, v는 g, a 또는 c를 나타내고, b는 g, t 또는 c를 나타내고, h는 a, t 또는 c를 나타내고, 그리고 n은 g, a, t 또는 c를 나타낸다.
- [0322] - 여기에서 사용된 대로, "핵산" 또는 "폴리뉴클레오타이드들"은 디옥시리보핵산 (DNA) 또는 리보핵산 (RNA), 올리고뉴클레오타이드들, 폴리메라제 체인 반응 (PCR)에 의하여 만들어지는 단편들, 라이게이션, 분리(scission), 엔도뉴클레아제 작용, 및 엑소뉴클레아제 작용 중 임의의 것에 의하여 만들어진 단편들과 같은, 뉴클레오타이드들 및/또는 폴리뉴클레오타이드들을 가리킨다. 핵산 분자들은 (DNA 및 RNA와 같은) 자연적으로-발생하는 뉴클레오타이드들, 또는 자연적으로-발생하는 뉴클레오타이드들의 유사체들(analogs) (예컨대, 자연적으로-발생하는 뉴클레오타이드들의 거울상이성질체 형태들), 또는 그 둘의 조합인 모노머들로 이루어질 수 있다. 변형된 뉴클레오타이드들은 당 모이어티들 및/또는 피리미딘 또는 퓨린 염기 모이어티들에서 변형을 가질 수 있다. 당 변형들은 예를 들어, 하나 이상의 하이드록실기들의 할로겐들, 알킬기들, 아민들, 및 아지도(azido)기들로의 대체를 포함하고, 또는 당들은 에테르 또는 에스터들로 기능화될(functionalized) 수 있다. 게다가, 전체 당 모이어티는 아자(aza)-당들 및 카르보사이클릭(carbocyclic) 당 유사체들과 같은, 입체구조적으로 그리고 전자적으로(electronically) 유사한 구조들로 대체될 수 있다. 염기 모이어티에서의 변형들의 예들은 알킬화된 퓨린들 및 피리미딘들, 아실화된(acylated) 퓨린들 또는 피리미딘들, 또는 다른 잘 알려진 헤테로사이클릭 치환들을 포함한다. 핵산 모노머들은 포스포다이에스터 연결들 또는 이러한 연결들의 유사체들에 의하여 연결될 수 있다. 핵산들은 단일 가닥 또는 이중 가닥일 수 있다.
- [0323] - 용어 "엔도뉴클레아제"는 DNA 또는 RNA 분자, 바람직하게는 DNA 분자 내 핵산들 사이의 결합들의 가수분해(절단)를 촉매화할 수 있는 임의의 야생형 또는 변종 효소들을 가리킨다. 엔도뉴클레아제들은 그것의 서열에 상관 없이 DNA 또는 RNA 분자를 절단하지 않으나, "타겟 서열들" 또는 "타겟 부위들"로 더 언급되는 특정 폴리뉴클레오타이드 서열들에서 DNA 또는 RNA 분자를 인식하고 절단한다. 엔도뉴클레아제들은 보통 10 염기쌍들(bp) 길이보다 더 큰, 더욱 바람직하게는 14-55 bp의 폴리뉴클레오타이드 인식 부위를 가질 때 회귀-절단 엔도뉴클레아제들로 분류될 수 있다. 회귀-절단 엔도뉴클레아제들은 정의된 자리에서 DNA 이중-가닥 손상들(breaks) (DSBs)을 유도함으로써 상동 재조합을 상당히 증가시켜, 이로써 유전자 수선 또는 유전자 삽입 방법들을 가능하게 한다 (Pingoud, A. and G. H. Silva (2007). Precision genome surgery. Nat. Biotechnol. 25(7): 743-4.).
- [0324]
- [0325] - "DNA 타겟", "DNA 타겟 서열", "타겟 DNA 서열", "핵산 타겟 서열". "타겟 서열" 또는 "가공 부위"에 의하여 본 발명에 따른 회귀-절단 엔도뉴클레아제에 의하여 타겟되고 가공될 수 있는 폴리뉴클레오타이드 서열이 의도된다. 이들 용어들은, 제한되지 않는 예로서, 특이적 DNA 위치, 바람직하게는 세포에서 게놈 위치, 그리고 또한 플라스미드들, 에피솜(episomes), 바이러스, 트랜스포존들(transposons) 또는 미토콘드리아와 같은 세포기관들에서 유전적 물질의 주요 부분(main body)에 독립적으로 존재할 수 있는 유전적 물질의 부분을 가리킨다. RNA 가이드된 타겟 서열들의 제한되지 않는 예들로서, RNA 가이드된 엔도뉴클레아제를 원하는 자리(locus)로 방향을 향하게 하는 가이드 RNA를 혼성화할 수 있는 그것들 게놈 서열들이다.

- [0326] - "돌연변이"에 의하여 폴리뉴클레오타이드 (cDNA, 유전자) 또는 폴리펩타이드 서열에서 하나, 둘, 셋, 넷, 다섯, 여섯, 일곱, 여덟, 아홉, 열, 열하나, 열둘, 열셋, 열넷, 열다섯, 스물, 스물다섯, 서른, 마흔, 원, 또는 그보다 많은 뉴클레오타이드들/아미노산들의 치환, 결실, 삽입이 의도된다. 돌연변이는 유전자의 코딩 서열 또는 그것의 조절 서열에 영향을 미칠 수 있다. 그것은 또한 코딩된 mRNA의 구조/안정성 또는 게놈 서열의 구조에 영향을 미칠 수 있다.
- [0327] - "벡터"에 의하여 그것이 연결된 또다른 핵산을 이동시킬 수 있는 핵산 분자가 의미된다. 본 발명에서 "벡터"는 염색체, 비(non) 염색체, 반-합성 또는 합성 핵산들로 구성될 수 있는 선형 또는 원형 DNA 또는 RNA 분자, 바이러스 벡터, a 플라스미드, a RNA 벡터를 포함하나, 이에 제한되지 않는다. 바람직한 벡터들은 그것들이 연결되는 핵산들의 발현 (발현 벡터들) 및/또는 자율적인(autonomous) 복제 (에피솜 벡터)가 가능한 것들이다. 많은 수의 적당한 벡터들이 당업자들에게 알려져 있고 상업적으로 이용가능하다. 바이러스 벡터들은 레트로바이러스, 아데노바이러스, 파코바이러스 (예컨대 아데노관련 바이러스들 (AAV)), 코로나바이러스, 음성 가닥 RNA 바이러스들 예를 들어 오르소믹소바이러스(orthomyxovirus) (예컨대, 인플루엔자 바이러스), 람도바이러스 (rhabdovirus) (예컨대, 광견병 및 수포성 구내염(vesicular stomatitis) 바이러스), 파라믹소바이러스 (paramyxovirus) (예컨대 홍역 및 센다이), 양성 가닥 RNA 바이러스들 예를 들어 피코르나바이러스 및 알파바이러스, 및 아데노바이러스, 헤르페스바이러스 (예컨대, 헤르페스 심플렉스 바이러스 타입들 1 및 2, 엡스타인 (Epstein)-바(Barr) 바이러스, 시토메갈로바이러스(cytomegalovirus)), 및 포क्स바이러스(poxvirus) (예컨대, 박시니아(vaccinia), 계두(fowlpox) 및 카나리아두창(canarypox))을 포함하는 이중-가닥 DNA 바이러스들을 포함한다. 다른 바이러스들은 예를 들어 노워크(Norwalk) 바이러스, 토가바이러스 플라비바이러스, 레오바이러스들(reoviruses), 파코바바이러스(papovavirus), 헤파드나바이러스(hepadnavirus), 및 간염 바이러스를 포함한다. 레트로바이러스들의 예들은 하기를 포함한다: 새의 백혈증 육종(avian leukosis-sarcoma), 포유류 C-타입, B-타입 바이러스들, D 타입 바이러스들, HTLV-BLV 그룹, 렌티바이러스, 스푸마바이러스(spumavirus)(Coffin, J. M., Retroviridae: The viruses and their replication, In Fundamental Virology, Third Edition, B. N. Fields, et al., Eds., Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996).
- [0328] - 여기에서 사용된 대로, 용어 "자리(locus)"는 게놈 내로의 DNA 서열의 (예컨대 유전자의) 특정 물리적 위치이다. 용어 "자리(locus)"는 감염 체제의 게놈 서열 상 또는 크로모솜 상 회귀-절단 엔도뉴클레아제 타겟 서열의 특정 물리적 위치를 가리킬 수 있다. 이러한 자리는 본 발명에 따른 서열-특이적 엔도뉴클레아제에 의하여 인식 및/또는 절단되는 타겟 서열을 포함할 수 있다. 본 발명의 관심있는 자리는 세포의 (즉 크로모솜에서) 유전적 물질의 주요 부분에 존재하는 핵산 서열 뿐 아니라, 제한되지 않는 예들로서, 플라스미드들, 에피솜들, 바이러스, 트랜스포존들, 또는 미토콘드리아와 같은 세포기관들에서와 같은 상기 유전적 물질의 주요 부분에 독립적으로 존재할 수 있는 유전적 물질의 부분을 수식하는(qualify) 것으로 이해된다.
- [0329] - 용어 "절단"은 폴리뉴클레오타이드의 공유 백본(backbone)의 파손을 가리킨다. 절단은 인산이에스테르 결합의 효소적 또는 화학적 가수분해를 포함하나, 이에 제한되지 않는 여러가지 방법들에 의하여 개시될 수 있다. 단일-가닥 절단 및 이중-가닥 절단 둘 다 가능하며, 이중-가닥 절단은 두 개의 구별되는 단일-가닥 절단 이벤트들의 결과로서 발생할 수 있다. 이중 가닥 DNA, RNA, 또는 DNA/RNA 혼성 절단은 뭉뚱한 말단들 또는 엇갈린(staggered) 말단들의 생산을 야기할 수 있다.
- [0330] - "동일성"은 두 핵산 분자들 또는 폴리펩타이드들 사이의 서열 동일성(identity)이 가리킨다. 동일성은 비교 목적으로 정렬될 수 있는 각 서열에서의 위치의 비교에 의하여 결정될 수 있다. 비교되는 서열에서의 위치가 동일 염기에 의하여 차지될 때, 그러면 분자들은 그 위치에서 동일하다. 핵산 또는 아미노산 서열들 사이에서 유사도(similarity) 또는 동일성(identity)의 정도는 핵산 서열들에 의하여 공유되는 위치들에서 동일하거나 또는 매칭되는 뉴클레오타이드들의 수의 함수(function)이다. 여러가지 정렬 알고리즘들 및/또는 프로그램들이 두 서열들 사이의 동일성을 계산하는데 사용될 수 있고, GCG 서열 분석 패키지의 부분으로서 이용가능한 BLAST 또는 FASTA를 포함하고 (University of Wisconsin, Madison, Wis.), 예컨대, 디폴트 세팅으로 사용될 수 있다. 예컨대, 여기에 기재된 특정 폴리펩타이드들에 적어도 70%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 99% 동일성을 갖고 바람직하게는 이러한 폴리펩타이드들을 코드하는 폴리뉴클레오타이드와 더불어, 대체로 동일한 기능들을 보여주는 폴리펩타이드들이 고려된다.
- [0331] 여기에서 사용된 대로 용어 "대상" 또는 "환자"는 인간이 아닌 영장류들 및 인간들을 포함하는 동물계의 모든 멤버들을 포함한다.
- [0332] 본 발명의 상기 기재된 기제는 그것을 만들고 이용하는 공정 및 방식을 제공하여, 당업자가 이를 만들고 사용하

는 것을 가능하게 하는 것이며, 이 구현은 특히 원래 기재의 부분을 이루는, 첨부된 특허청구범위의 주제를 위하여, 제공된다.

- [0333] 숫자 제한 또는 범위가 여기에 기재될 때, 그 단점들(endpoints)이 포함된다. 또한 숫자 제한 또는 범위 내 모든 값들 및 하위범위들은 명백히 적혀있는 것처럼, 특이적으로 포함된다.
- [0334] 이 발명에 일반적으로 기재된 것, 추가의 이해가 특정 특이적 예들을 참조로 하여 수득될 수 있는데, 이는 설명 목적을 위하여만 여기에 제공되는 것이며, 청구된 발명의 범위를 제한하는 것으로 의도되지 않는다.
- [0335] 실시예들
- [0336] 실시예 1: 내생 유전자의 녹아웃과 함께 내생 프로모터들의 통제 하 여러가지 자리들에서 인간 일차(primary) T-세포들에서 AAV 주도의 상동 재조합
- [0337] 도입
- [0338] 원하는 자리들에서 게놈 내 이중-가닥 손상들 (DSBs)의 부위-특이적 유도를 가능하게 하는 TALEN® (Cellestis, 8 rue de la Croix Jarry, 75013 PARIS)와 같은 서열 특이적 엔도뉴클레아제 시약들. 세포 효소들에 의한 DSB들의 수선은 두 경로들을 통하여 주로 발생한다: 비상동(non-homologous) 말단(end) 연결(joining) (NHEJ) 및 상동성(homology) 향하는(directed) 수선(repair) (HDR). HDR은 재조합에 의한 DSB를 수선하기 위하여 DNA (주형 DNA)의 상동성 조각을 이용하며, 주형 DNA에 포함되는 임의의 유전적 서열을 도입하는데 이용될 수 있다. 거기에서 보여진 대로, 상기 주형 DNA는 부위-특이적 DSB를 도입하기 위하여 TALEN®과 같은 조작된 뉴클레아제와 함께 재조합 아데노(adeno)-관련(associated) 바이러스(virus) (rAAV)에 의하여 전달될 수 있다.
- [0339] 통합 매트릭스들의 설계
- [0340] 1.1. 내생 PD1 유전자 코딩 서열의 녹아웃과 함께 상향조절된(upregulated) 자리에서 세포자멸사 CAR의 삽입
- [0341] TALEN 타겟 부위의 위치는 타겟이 된 내생 PDCD1 유전자 (PD1 - Uniprot # Q15116으로 불린 프로그램된 (Programmed) 세포사(cell death) 단백질 1)에 위치되도록 설계되었다. TALEN 타겟들의 1000bp 업스트림 및 다운스트림을 포함하는 서열은 서열번호 1 및 서열번호 2에 주어진다. TALEN (서열번호: 서열번호 3 및 4)의 타겟 서열들이 서열번호 5에 주어진다. 통합 매트릭스는 TALEN 부위의 내생 유전자 업스트림에 상동성인 서열 (300 bp)(서열번호 1), 뒤이어 2A 조절 요소 (서열번호 6), 뒤이어 시작 코돈 없이 세포자멸사를 유도하는 CAR를 코드하는 서열 (서열번호 7), 뒤이어 STOP 코돈 (TAG), 뒤이어, 폴리아데닐화 서열 (서열번호 8), 뒤이어 TALEN 부위의 내생 유전자 다운스트림에 상동인 서열 (1000bp) (서열번호 2)로 구성되도록(composed) 설계된다. 삽입 매트릭스는 그 다음에 프로모터 없는 rAAV 벡터 내로 클로닝되고 AAV6를 생산하는데 이용된다.
- [0342] 1.2 내생 유전자의 녹아웃과 함께 상향조절된(upregulated) 자리에서 인터루킨의 삽입
- [0343] TALEN 타겟 부위의 위치는 타겟이 된 내생 PDCD1 유전자 (프로그램된 세포사 단백질 1, PD1)에 위치되도록 설계된다. TALEN 타겟들의 1000bp 업스트림 및 다운스트림을 포함하는 서열이 서열번호 1 및 서열번호 2에 주어진다. TALEN의 타겟 서열들 (서열번호: 서열번호 3 및 서열번호 4)가 서열번호 5에 주어진다. 통합 매트릭스는 TALEN 부위의 내생 유전자 업스트림에 상동인 서열 (300 bp) (서열번호 1), 뒤이어 2A 조절 요소 (서열번호 6), 뒤이어 조작된 단일-체인의 인간 IL-12 p35 (서열번호 9) 및 p40 (서열번호 10) 서브유닛 융합 단백질을 코드하는 서열, 뒤이어 STOP 코돈 (TAG), 뒤이어 폴리아데닐화 서열 (서열번호 8), 뒤이어 TALEN 부위의 내생 유전자 다운스트림에 상동인 서열 (1000bp) (서열번호 2)로 구성되도록(composed) 설계된다. 삽입 매트릭스는 그 다음에 프로모터 없는 rAAV 벡터 내로 클로닝되고 AAV6를 생산하는데 사용된다.
- [0344] 1.3 내생 유전자의 녹아웃 없이 약하게 발현되는 자리에서 세포자멸사 CAR의 삽입 - N-말단 삽입
- [0345] TALEN 타겟 부위의 위치는 타겟이 된 내생(endogenous) LCK 유전자 (LCK, LCK 프로토(proto)-종양유전자 (oncogene), Src 패밀리 티로신 키나제 [호모 사피엔스 (인간)])의 시작 코돈에 가능한 한 접근하여 위치되도록 설계된다. 시작 코돈의 1000bp 업스트림 및 다운스트림을 포함하는 서열은 서열번호 11 및 서열번호 12에 주어진다. 통합 매트릭스는 시작 코돈의 내생 유전자 업스트림에 상동인 서열 (1000bp), 뒤이어 시작 코돈을 포함하는 세포자멸사를 유도하는 CAR를 코드하는 서열 (서열번호 13), 뒤이어 2A 조절 요소 (서열번호 8), 뒤이어 시작 코돈의 내생 유전자 다운스트림에 상동인 서열 (1000bp) (서열번호 12)로 구성되도록(composed) 설계된다. 그 다음에 삽입 매트릭스는 프로모터 없는 rAAV 벡터 내로 클로닝되고 AAV6를 생산하는데 사용된다.
- [0346] 1.4 내생 유전자의 녹아웃 없이 약하게 발현되는 자리에서 세포자멸사 CAR의 삽입 - C-말단 삽입

- [0347] TALEN 타겟 부위의 위치는 타겟이 된 내생 LCK 유전자 (LCK, LCK 프로토-종양유전자, Src 패밀리 티로신 키나제 [호모 사피엔스 (인간)])의 종결 코돈에 가능한 한 인접하게 위치되도록 설계된다. 종결 코돈의 1000bp 업스트림 및 다운스트림을 포함하는 서열이 서열번호 14 및 서열번호 15에 주어진다. 통합 매트릭스는 종결 코돈의 내생 유전자 업스트림에 상동인 서열(1000bp), 뒤이어 2A 조절 요소 (서열번호 8), 뒤이어 시작 코돈 없이 세포자멸사를 유도하는 CAR를 코드하는 서열(서열번호 7), 뒤이어 STOP 코돈 (TAG), 뒤이어 종결 코돈의 내생 유전자 다운스트림에 상동인 서열 (1000bp) (서열번호 15)로 구성되도록(composed) 설계된다. 삽입 매트릭스는 그 다음에 프로모터 없는 rAAV 벡터 내로 클로닝되고 AAV6를 생산하는데 이용된다.
- [0348] 형질도입된 세포들에서 서열-특이적 뉴클레아제 시약들의 발현
- [0349] TALEN® mRNA는 mMessage mMachine T7 Ultra 키트 (Thermo Fisher Scientific, Grand Island, NY)를 이용하여 합성되는데, 이는 각 TALEN 이 T7 프로모터의 클로닝된 다운스트림이고, RNeasy 칼럼들 (Qiagen, Valencia, CA)을 이용하여 정제되고, "cytoporation medium T" (Harvard Apparatus, Holliston, MA)에서 용출되기 때문이다. 인간 T-세포들은 20 ng/ml 인간 IL-2 (Miltenyi Biotech, San Diego, CA), 5% 인간 AB 혈청 (Gemini Bio-Products, West San Francisco, CA) 및 1:1 비드:세포 비율에서 다이나비드들(Dynabeads) 인간 T-활성자 (activator) CD3/CD28 (Thermo Fisher Scientific, Grand Island, NY)로 보충된 X-Vivo-15 배지 (Lonza, Basel, Switzerland)에서 ALLCELLS (Alameda, CA)에 의하여 공급된 전체(whole) 말초혈액으로부터 수집되고 활성화된다. 비드들은 3일 후 제거되고, 5×10^6 세포들이 3,000 V/cm 에서 두 번의 0.1 mS 펄스들을 적용하고 뒤이어 최종 부피 200 μ l 의 "cytoporation medium T" (BTX Harvard Apparatus, Holliston, Massachusetts)에서 0.4 cm 갭(gap) 큐벳들(cuvettes)에서 325 V/cm에서 네 번의 0.2 mS 펄스들이 이어짐으로써 Cytopulse (BTX Harvard Apparatus, Holliston, MA)를 이용하여 두 개의 적합한 TALEN®의 각각의 10 μ g mRNA으로 전기천공된다. 세포들은 즉시 20 ng/mL IL-2 로 X-Vivo-15 배지에서 희석되고 5% CO₂와 37℃에서 배양된다. 두 시간 후, 세포들은 세포 당 3×10^5 바이러스 게놈들 (vg)에서 AAV6 입자들과 배양된다 (37 °C, 16 시간). 세포들은 각각 삽입된 유전자 서열들의 발현을 위하여 유동세포분석법에 의하여 시험될 때까지 20 ng/mL IL-2 및 5% 인간 AB 혈청으로 보충된 X-Vivo-15 배지에서 계대되고(passaged) 유지된다.

표 4

서열 명칭	참고 서열들	폴리뉴클레오타이드 또는 폴리페타이드 서열들
PD1 왼쪽 상동성	서열번호 1	CCAAGCCCTGACCTGGCAGGCATATGTTTCAGGAGGTCCTTGCTTGGGA GCCCAGGGTCGGGGGCCCGGTGTCTGTCCACATCCGAGTCAATGGCCCAT CTCGTCTCTGAAGCATCTTTGCTGTGAGCTCTAGTCCCACTGTCTTGCTGG AAAATGTGGAGGCCCACTGCCACTGCCAGGGCAGCAATGCCCATACC ACGTGGTCCAGCTCCGAGCTTGTCTGAAAAGGGGGCAAAGACTGGACC CTGAGCCTGCCAAGGGGCCCACTCCTCCAAGGCTGGGGTCTCCATGGG CAGCCCCCACCACCCAGACCACTTACACTCCCTGTGCCAGAGCAGTGC AGACAGGACCAGGGCAGGATGCCAAGGGTCAGGGGCTGGGGATGGGT AGCCCCAACAGCCCTTTCTGGGGGAAGTGGCTCAACGGGGAAGGGG GTGAAGGCTCTTAGTAGGAATCAGGGAGACCAAGTCAGAGCCAGGTG CTGTGCAGAAGCTGCAGCTCACGTAGAAGGAAGGCTCTGCAGTGGA GGCCAGTGCCCATCCCGGGTGGCAGAGGCCCAAGCAGAGACTTCTCAAT GACATTCAGCTGGGGTGGCCCTTCCAGAGCCCTTGCTGCCGAGGGATG TGAGCAGGTGGCCGGGAGGCTTTGGGGCCACCAAGCCCTTCTCAC CTCTCTCATCTCTCAGACTCCCAAGAGCCCTGGAACCCCCACCTTC TCCCCAGCCCTGTCTGTTGACCGAAGGGGACACGCCACCTTCACTGTC AGCTTCTCCAACATCGGAGAGCTTCTGTCTAACTGGTACCGCATGAGC CCCAGCAACAGAGCGACAAGCTGGCCGCTTCCCCAGGACCGCAGCCA GCCCGGCCAGGACTGCCCTTCCGTGTACACAAGTCCCAACGGGCGTG ACTTCCACATGAGCGTGGTCAAGGGCCGGCGCAATGACAGCGGCACC
PD1 오른쪽 상동성	서열번호 2	GCCTGCGGGCAGAGCTCAGGGTGACAGGTGCGGCCTCGAGAGCCCCGGG GCAGGGGTGAGCTGAGCCGGTCTGGGGTGGGTGTCCCTCTGCACAG GATCAGGAGCTCAGGGTGTAGGGCAGGGACCCCCAGCTCCAGTCCAG GGCTCTGTCTGCACCTGGGGAATGGTGACCGGCATCTGTCTCTAGCT CTGGAAGCAGCCAGCCCTCTAGTCTGCCCTCACCCCTGACCTGACCTC CACCCTGACCCGCTCTAACCCCTGACCTTTGTGCCCTCCAGAGAGAAGG GCAGAAAGTGCCACAGCCACCCAGCCCTCACCCAGGCCAGCCGGCCA GTTCAAACCTGGTGGTGTGTGTGGGCGGCTGTGGGCAGCCTGG TGCTGTAGTCTGGGCTCTGGCCGTCTGTCTCCCGGGCCGACGAGGTA ACGTCATCCAGCCCTCGGCCTGCCCTGCCCTAACCTGCTGGCGGCCCT CACTCCCGCTCCCTTCTCCACCTTCCCTCACCCACCCACCTCCCCC ATCTCCCGCCAGGCTAAGTCCCTGATGAAGGCCCTGGACTAAGACCCC CACCTAGGAGCACGGCTCAGGGTCGGCTGGTGACCCCAAGTGTGTTCT CTGAGGGACAATAGGAGCCAGGCGCACCGGCCAGCCCTGGTGAGTCTC ACTCTTTCTGCTGATCCACTGTGCTTCTCTCTGGGTGGGCAGAGGT GGAAGGACAGGCTGGGACACAGGCCTGCAGGACTCACATTCTATTATA GCCAGGACCCACCTCCCAAGCCCAAGGACCAACCTCAATCCCTAAAGC CATGATCTGGGGCCCAAGCCACCTGCGGTCTCCGGGGTGCCCGGCCA TGTGTGTGCTGCTGCGGTCTCCAGGGGTGCTGCGCCACGCGTGTGCC CGCTGCGGTCTCTGGGGTGCCCGGCCACATATGTGCC
PD1_T3C-L2	서열번호 3	ATGGGCGATCCTAAAAAGAAACGTAAGGTCATCGATATCGCCGATCTACG CACGCTCGGTACAGCCAGCAGCAACAGGAGAAGATCAAAACGAAGGTTTC GTTCGACAGTGGGCGAGCACACGAGGCACTGGTGGCCACGGGTTTACA CACGCGCACATCGTTGCGTTAAGCCAACACCCGGCAGCGTTAGGGACCGT CGTGTCAAGTATCAGGACATGATCGAGCGTTGCCAGAGGGACACACG AAGCGATCGTTGGGCTCGGCAACAGTGGTCCGGCGCACGCGCTCTGGA

[0350]

		<p> GGCCTTGCTCACGGTGGCGGGAGAGTTGAGAGGTCCACGTTACAGTTGG ACACAGGCCAATTCTCAAGATTGCAAAACGTGGCGGCTGACCGCAGTG GAGGCAGTGCAATGATGGCGAATGCACTGACGGGTGCCCCGCTCAACTT GACCCCCGAGCAAGTGGTGGCTATCGCTTCCAAGCTGGGGGAAAGCAG GCCCTGGAGACCGTCCAGGCCCTTCTCCAGTGCTTGGCAGGCTCACGGA CTGACCCCTGAACAGGTGGTGGCAATTGCCTCACACGACGGGGCAAGCA GGCACTGGAGACTGTCCAGCGGCTGCTGCTGTCTCTGCAAGGCCACG GACTCACTCTGAGCAGGTGCTGGCCATTGCCAGCCACGATGGGGGCAAA CAGGCTCTGGAGACCGTGACGCGCTCCTCCAGTGCTGTGCCAGGCTCAT GGGCTGACCCACAGCAGGTGCTGCCATTGCCAGTAACGGCGGGGGGA AGCAGGCCCTCGAAACAGTGCAAGGCTGCTGCCGCTTGTGCCAAGCA CACGGCTGACACCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCTCTCATGACGGCGG CAAGCAGGCCCTTGAGACAGTGACAGACTGTTGCCCGTGTGTGTACAG CCCACGGGTTGACACCCAGCAGGTGGTGGCCATGCCAGCAATGGCGGG GGAAAGCAGGCCCTTGAGACCGTGACGCGTTGCTTCCAGTGTTGTGCCA GGCACACGACTGACCCCTCAACAGGTGGTGGCAATGCCAGCTACAAGG GCGGAAAGCAGGCTCTGGAGACAGTGACGCGCTCTGCCGCTGCTGTGT CAGGCTCACGACTGACACCCAGCAGGTGGTGGCCATGCCAGTAACGG GGGCGGCAAGCAGGCTTTGGAGACCGTCCAGAGACTCCTCCCCGCTCTTT GCCAGGCCACGGGTTGACACCTCAGCAGGTGCTGCCATTGCTCCAAC AACGGGGGCAAGCAGGCCCTCGAAACTGTGCAGAGGCTGCTGCTGTGCT GTGCCAGGCTCATGGGCTGACACCCAGCAGGTGGTGGCCATTGCTCTA ACAACGGCGGCAACAGGCACTGGAGACCGTCAAAAGGCTGCTGCCGT CCTCTGCCAAGCCACGGGCTCACTCCACAGCAGGTGCTGGCCATCGCTC AAACAATGGCGGGAAGCAGGCCCTGGAGACTGTGCAAAAGGCTGCTCCT GTGCTGTGCCAGGCACAGGACTGACCCCTCAGCAGGTGGTGGCAATGCG TTCCAACAACGGGGGAAAGCAGGCCCTCGAAACCGTGACGCGCTCCTCC CAGTGCTGTGCCAGGCACATGGCTCACACCCAGCAAGTGGTGGCTATC GCCAGCCACGACGGAGGGAAGCAGGCTCTGGAGACCGTGACAGGCTGC TGCTGTCTGTGCCAGGCCACGGGCTTACTCCAGAGCAGGTGCTGCCA TCGCCAGTCATGATGGGGGGAAGCAGGCCCTTGAGACAGTCCAGCGGCT GCTGCCAGTCTTTGCCAGGCTACGGCTTGACTCCGAGCAGGTGCTGGC CATTGCTCAAAACATTGGGGGCAACAGGCCCTGGAGACAGTGACAGGCC TGCTGCCCGTGTGTGTGTCAGGCCACGGCTTGACACCCAGCAGGTGGTC GCCATTGCTCTAATGGCGGCGGAGACCGCTTGAGAGCATTGTTGC CCAGTTATCTCGCCCTGATCCGGGCTTGGCCGCTTGACCAACGACCACT CGTCGCTTGGCTGCCTCGCGGGGCTCCTGCGCTGGATGCAGTGAAAA AGGGATTGGGGGATCCTATCAGCCGTTCCAGCTGGTGAAGTCCGAGCTG GAGGAGAAGAAATCCGAGTTGAGGCACAAGTGAAGTACGTGCCCCACG AGTACATCGAGCTGATCGAGATCGCCGGAACAGCACCCAGGACCGTATC CTGGAGATGAAGGTGATGGAGTTCTTCATGAAGGTGTACGGCTACAGGG GCAAGCACCTGGGCGGCTCAGGAAGCCGACGGCGCATCTACACCGTG GGTCCCCCATCGACTACGGCGTGATCGTGACACCAAGGCCTACTCCGG CGGCTACAACCTGCCATCGGCCAGGCCGACGAAATGCAGAGGTACGTGG AGGAGAACCAGACAGGAACAAGCACATCAACCCCAACGAGTGGTGGAA GGTGTACCCCTCCAGCGTGACCGAGTTCAAGTTCTGTTGCTGTCGGCCA CTTCAAGGGCAACTACAAGGCCAGCTGACCAGGCTGAACCACATACCA ACTGCAACGGCGCGTGTGCTGCTGGAGGAGCTCCTGATCGGGCGGA GATGATCAAGGCCGGCACCTGACCTGGAGGAGGTGAGGAGGAAGTTC </p>
--	--	--

[0351]

		AACAACGGCGAGATCAACTTCGCGGCCGACTGATAA
PD1T3R	서열번호 4	<p>ATGGGCGATCCTAAAAAGAAACGTAAGGTTCATCGATATCGCCGATCTACG CACGCTCGGCTACAGCCAGCAGCAACAGGAGAAGATCAAAACCGAAGGTTT GTTTCAGCAGTGGCGCAGCACCAGAGGCACTGGTCGGCCACGGGTTTACA CACGCGCACATCGTTGCGTTAAGCCAAACCCGGCAGCGTTAGGGACCGT CGCTGTCAAGTATCAGGACATGATCGCAGCGTTGCCAGAGGCGACACAG AAGCGATCGTTGGCGTCGGCAACAGTGGTCGGCGCACGCGCTCTGGA GGCCTTGCTCACGGTGCGGGAGAGTTGAGAGGTCCACCGTTACAGTTGG ACACAGGCCAACTTCTCAAGATTGCAAAACGTGGCGCGCTGACCCAGTG GAGGCAGTGCATGCATGGCGCAATGCACTGACGGGTGCCCGCTCAACTT GACCCCGAGCAAGTCGTCGAATCGCCAGCCATGATGGAGGAAGCAA GCCCTCGAAACCGTGACGCGTTGCTTCTGTCTGCTGCCAGGCCACGGC CTTACCCCTCAGCAGGTGGTGGCCATCGCAAGTAACGGAGGAGGAAGCA AGCCTTGGAGACAGTGACGCGCTGTTGCCGTGCTGTGCCAGGCACAG GCCTCACACCAGAGCAGTCTGGCCATTGCCTCCATGACGGGGGAAA CAGGCTCTGGAGACCGTCCAGAGGTGCTGCCCGTCTCTGTCAAGCTCAC GGCCTGACTCCCAACAAGTGTCGCAATCGCCTCTAATGGCGCGGGAA GCAGGCACTGGAACAGTGCAGAGACTGCTCCTGTGCTTTGCCAAGCTC ATGGGTTGACCCCAACAGGTGTCGCTATTGCCTCAAACGGGGGGGCG AAGCAGGCCCTTGAGACTGTGCAGAGGCTGTTGCCAGTGCTGTGCAGGC TCACGGGCTCACTCCACAACAGTGTCGCAATTGCCAGAACGGCGGCG GAAAGCAAGCTCTGAAACCGTGCAACGCCTCTGCCCGTGCTGTGCAGG CTCATGGCTGACACCACAACAAGTCGTGGCCATCGCCAGTAATAATGGC GGGAAACAGGCTCTTGAGACCGTCCAGAGGCTGCTCCAGTGCTGTCCA GGCACACGGGCTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCTATCGCCAGCAATATTG GGGGCAAGCAGGCCCTGGAACAGTCCAGGCCCTGCTGCCAGTGCTTTC CAGGCTCACGGGCTCACTCCCGAGCAGGTGTCGCAATCGCCTCCAACGG CGAGGGGAAGCAGGCTCTGGAGACCGTGCAAGAGTGTGCTGCCGTCTGT GCCAGGCCACGGACTCACACCTGAACAGGTGTCGCCATTGCCTCTCACG ATGGGGCAAACAAGCCCTGGAGACAGTGACGCGGCTGTTGCCTGTGTTG TGCCAAGCCACGGCTTGAATCTCAACAAGTGGTCGCCATCGCCTCAAAT GGCGGCGGAAAAACAAGCTCTGGAGACAGTGCAAGGTTGCTGCCGTCC TCTGCCAAGCCACGGCTGACTCCCAACAGGTGTCGCCATTGCCAGCA ACAACGGAGGAAAGCAGGCTCTCGAAACTGTGCAGCGGCTGCTCTCTGTG CTGTGTAGGCTCATGGGCTGACCCCGAGCAAGTGGTGGCTATTGCCTCT AATGGAGGCAAGCAAGCCCTTGAGACAGTCCAGAGGCTGTTGCCAGTGCT GTGCCAGGCCACGGGCTCACACCCAGCAGGTGGTGCCTATCGCCAGTA ACAACGGGGGCAACAGGCATTGGAAACCGTCCAGCGCTGCTTCCAGTG CTCTGCCAGGCACAGGACTGACACCCGAACAGGTGGTGGCCATTGCATC CCATGATGGGGCAAGCAGGCCCTGGAGACCGTGCAAGAGTCTCTGCCA GTGTTGTGCAAGCTCACGGCTCACCCCTCAGCAAGTGTGGCCATCGCC TCAAACGGGGGGGCGGCTGCACTGGAGAGCATTGTTGCCAGTTATC TCGCCCTGATCCGGGCTTGGCCGCTTGACCAACGACCACCTCGTCGCCCT GGCCTGCCTCGGCGGGCTCTGCGCTGGATGCAAGTAAAAAGGGATTG GGGGATCCTATCAGCCGTTCCAGCTGGTGAAGTCCGAGCTGGAGGAGAA GAAATCCGAGTTGAGGCACAAGCTGAAGTACGTGCCCCACGAGTACATCG AGCTGATCGAGATCGCCGGAACAGCACCCAGGACCGTATCTGGAGATG AAGGTGATGGAGTTCTCATGAAGGTGTACGGCTACAGGGGCAAGCACCT</p>

[0352]

		GGGCGGCTCCAGGAAGCCGACGGCGCCATCTACACGTGGGCTCCCCA TCGACTACGGCGTGATCGTGGACCAAGGCCTACTCCGGCGGTACAAC CTGCCATCGCCAGCCGACGAAATGCAGAGGTACGTGGAGGAGAACC AGACCAGGAACAAGCACATCAACCCCAACGAGTGGTGAAGGTATCCCC TCCAGCGTGACCGAGTTCAAGTTCTGTTCGTGCGGCCACTTCAAGGGC AACTACAAGGCCAGCTGACCAAGGCTGAACCATCACCAACTGCAACGG CGCCGTGCTGCCGTGGAGGAGCTCTGATCGGCGCGAGATGATCAAG GCCGGCACCTGACCTGGAGGAGGTGAGGAGGAAGTTCAACAACGGCG AGATCAACTCGCGGCCACTGATAA
PD1-T3	서열번호 5	TACCTCTGTGGGGCCATCTCCCTGGCCCCAAGGCGCAGATCAAAGAGA
2A-요소	서열번호 6	TCCGGTGAGGGCAGAGGAAGTCTTCAACATGCGGTGACGTGGAGGAGA ATCCGGGCCCC
세포자멸사 CAR (시작 코돈 없음)	서열번호 7	GCTTTGCCTGTCACTGCCTTGTCTTCCACTTGCTGTGTTGTCACGCCG CAAGACCGAGGTCAAGCTCCAGGAAAGCGGACCAAGGCTGGTGGCCCC TAGTCAGTCATTGAGCGTCACTTGACCCGTGAGCGGCGTGTCTGCCCCGA TTACGGCGTGAGCTGGATCAGACAGCCCCAAGGAAGGAGTGGAGTGG CTGGCGTCACTGGGGGAGCGAGACTACCTACTACAACAGCGCCCTGAA GAGCAGGCTGACCATCATTAAAGGACAACTCCAAGTCCAGGTCTTTCTGAA AATGAACAGCTGCGAGACTGATGACACTGCCATCTACTACTGCCCAAGCA TTACTACTACGGGGCAGCTACGCTATGGACTACTGGGGGACAGGGGACCT CTGTACAGTGTCAAGTGGCGGAGGAGGCACTGGCGGAGGGGGAAGTG GGGGCGGCGGAGCGACATCCAGATGACCCAGACAACATCCAGCCTCTCC GCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACAATCAGCTGCCGGGCCAGTCAGGACAT CAGCAAGTATCTCAATTGGTACCAGCAGAAACAGACGGGACAGTGAAAT TGCTGATCTACACACATCCAGGCTGCACTCAGGAGTCCCAGCAGGTTTT CCGGCTCCGGCTCCGGGACAGATTACAGTCTGACCATTTCCAACCTGGAGC AGGAGGATATTGCCATACTTTTGCCAGCAAGGCAACACTCTGCCCTATA CCTTCGGCGGAGGCACAAAACCTGGAGATTACTCGGTGCGATCCCGAGCCC AAATCTCTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCGACACCTCCCGTG GCCGGCCCGTCAGTGTTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATG ATCGCCCGGACCCCTGAGGTACATGCTGCTGGTGGAGCTGAGCCACGA GGACCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGAGGTGCAT AATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTG TGGTACGCGTCTCACCGTCTGACCCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG TACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAAAAC CATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACACAGGTGTACACCTGTC CCCCATCCGGGATGAGCTGACCAAGAACAGGTGACCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATGCGCGTGGAGTGGGAGAGCAATGG GCAACCGGAGAACAACTACAAGACACGCTCCCGTGTGAGTCCGACG GCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCGTGACAAAGACAGGTGGCAGC AGGGGAACGTGTTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGCCCTGCACAATCACT ATACCCAGAAATCTCTGAGTGTAGCCAGGCAAGAAGGATATTTGGGG TGGCTTTGCCTTCTCTTTTGCCAATTCACATAATTGTTGGGTGAAGAGAA AGGAAGTACAGAAAACATGCAGAAAGCACAGAAAGGAAACCAAGGTTT TCATGAATCTCAACCTTAAATCCTGAAACAGTGGCAATAAATTTATCTGAT GTTGACTTGAGTAAATATATCACCACTATTGCTGGAGTCATGACATAAGT CAAGTTAAAGGCTTTGTTGAAAGAATGGTGCAATGAAGCCAAATAGA

[0353]

		TGAGATCAAGAATGACAATGTCCAAGACACAGCAGAACAGAAAGTTCAAC TGCTTCGTAATTGGCATCAACTTCATGGAAAGAAAGCGTATGACACAT TGATTGCAGATCTCAAAAAAGCCAATCTTTGACTCTTGACAGAGAAAAATTC AGACTATCATCCTCAAGGACATACTAGTGACTCAGAAAAATCAAACCTCA GAAATGAAATCCAGAGCTTGTCGAA
BGH polyA	서열번호 8	TCTAGAGGGCCCGTTTAAACCCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGT TGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCTTCCCCGTCCTTCTTGACCTGGAAG GTGCCACTCCCACTGTCTTTCTAATAAAATGAGGAAATGCATCGCATT GTCTGAGTAGGTGTCAATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGCAGGACAG CAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGT GGGCTCTATGACTAGTGGCAATTC
인터루킨-12 서브유닛 알파	서열번호 9	MCPARSLLVATLVLLDHLSLARNLPVATPDPMFPLCHHSQNLRAVSNML QKARQTLFYPCTSEEDHEDITDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNG SCLASRKTSFMMALCLSSIEDLKMYQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNMML AVIDELMQALNFNSETVPQSSLEEDFYKTKIKLCLLHAFRIRAVTIDRVMSYL NAS
인터루킨-12 서브유닛 베타	서열번호 10	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDYYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDT PEEDGITWTLDSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHSLLLHK KEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWVWLTITDLTFSVKSSR GSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYESVECEQDSACPAEESLPIEVMMV DAVHKLKYENYTSFFIRDIIPDPKPNLQLPLKNSRQVEVSEYPTWSTPH SYFSLTCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS
Lck 왼쪽 상동성	서열번호 11	GGGATAGGGGGTGCCTCTGTGTGTGTGTGAGAGTGTGTGTGTAGG GTGTGTATATGTATAGGGTGTGTGTGAGTGTGTGTGTGTGAGAGAGTGTG TGTGTGGCAGAATAGACTGCGGAGGTGATTTCATCTTGATATGAAAGGT CTGGAATGCATGGTACATTAACTTTGAGGACAGCGCTTTCCAAGCACTCT GAGGAGCAGCCCTAGAGAAGGAGGAGCTGCAGGGACTCCGGGGGCTTCA AAGTGAGGGCCCACTCTGCTTCAGGCAAAACAGGCACACATTTATCACTT TATCTATGGAGTTCTGCTTGATTTCATCAGACAAAAATTTCCACTGCTAAA ACAGGCAAAATAACAAAAAAAAGTTATGGCCAACAGAGTCACTGGAGG GTTTTCTGCTGGGGAGAAGCAAGCCGTGTTTGAAGGAACCTGTGAGAT GACTGTGGGCTGTGTGAGGGGAACAGCGGGGGTGTGATGGTGGACTTCG GGAGCAGAAGCCTCTTCTCAGCCTCCTCAGCTAGACAGGGGAATTATAAT AGGAGGTGTGGCGTGCACACCTCTCCAGTAGGGGAGGGTCTGATAAGTC AGGTCTCTCCAGGCTTGGGAAGTGTGTGTCATCTCTAGGAGGTGGTCCT CCCAACACAGGGTACTGGCAGAGGGAGAGGGAGGGGGCAGAGGCAGGA AGTGGGTAAGTACTAGACTAACAAAGGTGCCTGTGGCGTTTGCCCATCCAG GTGGGAGGGTGGGGCTAGGGCTCAGGGGCCGTGTGAATTTACTTGTGA GCCTGAGGGCTCAGAGGGAGCAGCGTTTGGAGCTGGGACCCCTATTTT AGCTTTTCTGTGGCTGGTGAATGGGGATCCAGGATCTCACAATCTCAGGT ACTTTTGGAACCTTCCAGGGCAAGGCCCATATATCTGATGTTGGGGGAG CAGATCTTGGGGAGCCCTTCAGCCCTCTTCCATTCCTCAGGGACC
lck 오른쪽 상동성	서열번호 12	GGCTGTGGCTGCAGCTCACACCCGGAAGATGACTGGATGAAAAACATCGA TGTGTGTGAGAACTGCCATTATCCCATAGTCCCACTGGATGGCAAGGGCA CGGTAAGAGGCGAGACAGGGCCTTGGTGAGGGAGTTGGGTAGAGAAT GCAACCCAGGAGAAAGAAATGACCAGCACTACAGGCCCTTGAAGAATA GAGTGGCCCTCTCCCTGAAATACAGAAAGGAAAAAGAGGCCAGAGAGG GGAAGGGAATCTCTAAGATCACACAGAAAGTAGTTGGTAACTCAGGGA TAACATCTAACAGGCTGGAGAGGCTGAGAGCAGAGCAGGGGGGAAGG

[0354]

		GGGCCAGGGTCTGACCCAATCTTCTGCTTTCTGACCCACCCCTCATCCCCA CTCCACAGCTGCTCATCCGAAATGGCTCTGAGGTGCGGGACCCACTGGTTA CCTACGAAGGCTCCAATCCGCCGGCTTCCCACTGCAAGGTGACCCAGGC AGCAGGGCCTGAAAGACAAGGCTGCGGATCCCTGGCTTTGGCTTCCAC CTCTCCCCACCTACTTTCTCCCGGTCTTGCTTCTTGTCCCCACCTGT AACTCCAGGCTTCTGCGATCCAGCTCGGTTCTCCTGATGCCCTTGTG TTACAGACAACCTGGTTATCGCTCTGCACAGCTATGAGCCCTCTCACGAC GGAGATCTGGGCTTTGAGAAGGGGAACAGCTCCGCATCTGGAGCAGT GAGTCCCTCTCACCTTGCTCTGGCGGAGTCCGTGAGGGAGCGCGATCT CCGCGACCCGACGCCCTCTGCGGCCCTTGACAGCTCGGGGTGGCCGCC CTTGGGACAAAATTCGAGGCTCAGTATTGCTGAGCCAGGGTTGGGGAG GCTGGCTTAAGGGGTGAGGGGTCTTTGAGGGAGGGTCTCAGGTCGACG GCTGAGCGAGCCACTGACCCACCTCCGTGGCGCAGGAGCGCGAGTG
세포자멸사 CAR (시작 코돈과 함께)	서열번호 13	ATGGCTTTGCCTGTCACTGCCTTGTCTTCCACTTGTCTGTTGTCACG CCGCAAGACCCGAGGTCAAGCTCCAGGAAAGCGGACGAGGCTGGTGGC CCCTAGTCAGTCATTGAGCGTCACTTGACCCGTGAGCGGCTGTCTGTCC CGATTACGGCGTGAGCTGGATCAGACAGCCCCAAGGAAGGGACTGGAG TGGCTGGGCGTCATCTGGGGAGCGAGACTACCTACTACAACAGCGCCCT GAAGAGCAGGCTGACCATTAAGGACAACCTCAAGTCCAGGTCTTTCT GAAAATGAACAGCCTGCAGACTGATGACACTGCCATCTACTGCGCCAA GCATTACTACTACGGGGCAGCTACGCTATGGACTACTGGGGCAGGGG ACCTCTGTACAGTGTCAAGTGCGGAGGAGGCAGTGGCGGAGGGGAA GTGGGGCGGCGGACGACATCCAGATGACCCAGACAACATCCAGCTC TCCGCTCTCTGGGCGACAGAGTGACAATCAGCTGCCGGCCAGTCAGGA CATCAGCAAGTATCTCAATTGGTACCAGCAGAAACGAGCGGACAGTGA AATTGCTGATCTACCACACATCCAGGCTGCACTCAGGAGTCCCAAGCAGGT TTTCCGGCTCCGGCTCCGGGACAGATTACAGTCTGACCATTTCCAACCTGG AGCAGGAGGATATTGCCACATACTTTTCCAGCAAGGCAACACTCTGCCCT ATACCTTCGGCGGAGGCACAAAACCTGGAGATTACTCGGTGCGATCCCGAG CCCAAATCTCTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTCCC GTGGCGGGCCGTCAGTGTCTCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTC ATGATCGCCCGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGACGTGAGCCA CGAGGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGTGACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAGCCGCGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACC GTGTGGTCAGCGTCTCACCCTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAA AACCATCTCAAAGCCAAGGGCAGCCCCGAGAACCACAGGTGTACACCC TGCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAGTCAAGCTGACCTGC CTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA TGGGCAACCGGAGAACAACATAAGACACGCTCCCGTGTGGACTCCG ACGGCTCCTTCTCTCTACAGCAAGCTCACCTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTGTTCTCATGCTCCGTGATGATGAGGCCCTGCACAAT CACTATACCCAGAAATCTCTGAGTCTGAGCCAGGCAAGAAGGATATTTG GGGTGGCTTTCCTTCTTTTGCCAATTCACATAATTGTTGGGTGAAGA GAAAGGAAGTACAGAAAACATGCAGAAAGCACAGAAAGGAAACCAAGG TTCTCATGAATCTCAACCTTAAATCCTGAAACAGTGGCAATAAATTTATCT GATGTTGACTTGAGTAAATATATACCACTATTGCTGGAGTCATGACACTA AGTCAAGTTAAGGCTTTGTTCAAGAATGGTGTCAATGAAGCCAAAAT

[0355]

		AGATGAGATCAAGAATGACAATGTCCAAGACACAGCAGAACAGAAAAGTTC AACTGCTTCGTAATTGGCATCAACTTCATGGAAAGAAAGAGCGTATGAC ACATTGATTGCAGATCTCAAAAAGCCAATCTTTGACTCTTGACAGAGAAA ATTCAGACTATCATCCTCAAGGACATTACTAGTGACTCAGAAAATCAAAC TTCAGAAATGAAATCCAGAGCTTGGTCGAA
Lck 왼쪽 상동성	서열번호 14	CTCATAACAATTCTATGAGGTAGGAACAGTTATTACTCTATTTTCCAAATA AGGAAACTGGGCTCGCCCAAGGTTCCACAACATACTGTGTATTATTGA GCATTTAATTTACACCAGGGAAGCAGGTTGTGGTGGTGACCTGTTGTC CAGCTATTAGGAGGCTGAGGTGAAAGGATCACTTGAACGGAGGAGTTCA AATTTGCAATGTGCTATGATTGTGCTGTGAACAGCTGCTGCCTCCAGCC TGGGCAACATAGTGAGATCCCTTATCTAAAACATTTTTTTAAGTAAATAAT CAGGTGGGCACGGTGGCTCAGCCTGTAATCCAGCACTTTGGGAGGCTGA GGCGGGCGGATCAGTGGGTGAGGTTCAAGACCGCCTGACCAACAT GGAGAAACCGTCTCTACTAAAAATACAAATTAGCTTGGCGTGGTGGTG CATGCTGTAAATCCAGCTACTCGAGAAGCTGAGGAGGAGAAATTGTTG AACCTGGGAGGTGGAGTTGCGGTGAGCCGAGATCGACCATTTGCACTCC AGCCTGGGCAACAAGAGTGAAATTGCATCTCAAAAAAGAAAAGGAA ATAATCTATACAGGCACTCCAAGTGGTGTGACTGATTTCAACAAGTACC TCTAGTGTGACCTTACCATTGATGAAGACCAAGATTCTTTGGATTGGTGC TCACACTGTGCCAGTTAAATATCCGAACATTACCTTGCCTGGGCTTCC AGTGCTGACCTTGATGTCTTTCACCATCAACCGTAGGGATGACCAAC CCGGAGGTGATTGAGAACCTGGAGCGAGGCTACCGCATGGTGGCCCTGA CAACTGCCAGAGGAGCTGTACCAACTCATGAGGCTGTGCTGGAAGGAGC GCCAGAGGACCGGCCACCTTTGACTACCTGCGCAGTGTGCTGGAGGAC TTCTTACGCGCCACAGAGGGCCAGTACCAGCTCAGCCT
Ick 오른쪽 상동성	서열번호 15	GAGGCCTTGAGAGGCCCTGGGGTTCTCCCCCTTCTCTCCAGCCTGACTTG GGGAGATGGAGTTCTTGCCATAGTCACATGGCCTATGCACATATGGAC TCTGCACATGAATCCACCCACATGTGACACATGACACTTGTGTGTAC ACGTGTCTGTAGTTGCGTGGACTCTGCACATGTCTGTACATGTGTAGCC TGTGCATGTATGTCTTGGACACTGTACAAGGTACCCCTTTCTGGCTCTCCCA TTTCTGAGACCACAGAGAGAGGGGAGAAGCCTGGGATTGACAGAAGCT TCTGCCACCTACTTTTCTTCTCAGATCATCAGAAGTTCTCAAGGGCC AGGACTTTATCTAATACCTCTGTGTCTCTCTTGGTGTGCTGGCCTGGCAC ACATCAGGAGTTCAATAAATGTCTGTGATGACTGTTGATACATCTTTGCT GTCCACTCTTTGTGGTGGGCACTGGGGTTAAGAAAATGGTAATTAGGT CACCTGAGTTGGGGTGAAGATGGGATGAGTGGATGTCTGGAGGCTCT GCAGACCCCTTCAATGGGACAGTGTCTCACCCTCCCCAAAGATTCA GGGTGACTCTACCTGGAATCCCTTAGGGAATGGGTGCGTCAAAGGACCT TCTCCCCATTATAAAGGGCAACAGCATTTTTTACTGATTCAAGGGCTATA TTTGACCTCAGATTTTGTTTTAAAGGCTAGTCAAATGAAGCGCGGGAA TGGAGGAGGAACAAATAAATCTGTAATCTCCTCAGATTTTTTTTTTTTT GAGACTGGGTCTCACTTTTTCATCAGGCTGGAGTGCAGTCGATGATCAC GGCTCACTGTAGCCTCAACCTCTCAGCTCAAATGCTCCTCTGTCTCAGCC TCCCGAGTACCTGGGACTACTTTCTTGAGGCCAGGAATTCAAGAACAGAG TAAGATCTGGTCTCAAAAAAGTTTTAAA

[0356]

[0357]

표 4: 실시예 1에 언급된 서열들

[0358]

실시예 2: T-세포들에서 IL-15 및 CAR 코드하는(encoding) 매트릭스들의 TALEN®-매개된 이중 타겟된 통합

[0359]

물질들

[0360]

X-vivo-15는 Lonza (cat#BE04-418Q)로부터, IL-2는 Miltenyi Biotech (cat#130-097-748)로부터, 인간 혈청 AB는 Seralab (cat#GEM-100-318)로부터, 인간 T 활성화인자(activator) CD3/CD28는 Life Technology (cat#11132D)로부터, QBEND10-APC는 R&D Systems (cat#FAB7227A)로부터, 비오블루(vioblue)-표지된 항-CD3, PE-표지된 항-LNGFR, APC-표지된 항-CD25 및 PE-표지된 항-PD1는 Miltenyi (cat# 130-094-363, 130-112-790, 130-109-021 및 130-104-892) 48 웰들 처리된 플레이트들 (CytoOne, cat#CC7682-7548)로부터, 인간 IL-15 Quantikine ELISA 키트는 R&D systems (cat#S1500)로부터, ONE-Glo는 Promega (cat#E6110)로부터 획득되었다. 다른 매트릭스들을 포함하는 AAV6 배치들은 Virovek로부터 획득되었고, PBMC 세포들은 Allcells, (cat#PB004F)로부터 획득되었고 Raji-루시페라제 세포들은 ATCC (cat#CCL-86)로부터의 Raji 세포들의 반딧불 루시페라제-코드하는 렌티바이러스 입자들 형질도입 후 획득되었다.

[0361]

방법들

[0362]

2.1-형질주입-형질도입

[0363]

TRAC 및 PD1 또는 CD25 자리들에서 이중 타겟된 통합이 하기와 같이 수행되었다. PBMC 세포들이 처음에 해동되고, 세척되고, 재현탁되고, 그리고 X-vivo-15 완전 배지 (X-vivo-15, 5% AB 혈청, 20 ng/mL IL-2)에서 배양되었다. 하루 후 세포들은 Dynabeads 인간 T 활성화제(activator) CD3/CD28 (25 uL의 비드들/1E⁶ CD3 양성 세포들)에 의하여 활성화되었고 5% CO₂의 존재에서 37 °C에서 X-vivo 완전 배지에서 3 일 동안 1E⁶ 세포들/mL의 밀도에서 배양되었다. 그 다음에 세포들은 신선한 완전 배지에서 나뉘어 하기 절차에 따라 다음 날 형질도입/형질주입

되었다. 형질도입-형질주입 날, 세포들은 먼저 자력 분리 (EasySep)에 의하여 비드들이 제거되었고, Cytoporation buffer T (BTX Harvard Apparatus, Holliston, Massachusetts)에서 두 번 세척되었고 동일한 용액에서 최종 농도 $28E^6$ 세포들/mL에서 재현탁되었다. 세포 현탁물은 최종 부피 200 μ l에서 (각각 서열번호 :18 및 19 및 서열번호 :20 및 21) CD25 또는 PD1 TALEN®의 암들을 코딩하는 15 μ g mRNA의 부재 또는 존재 하 TRAC TALEN® 암들(arms) (서열번호 :16 및 17)을 코딩하는 5 μ g mRNA와 혼합되었다. TALEN®은 Fok-1와 함께 TALE의 융합으로부터 야기되는 TALE-뉴클레아제들의 표준 구성방식이다. 형질주입은 3,000 V/cm에서 두 번의 0.1 ms 펄스들을 적용하고, 뒤이어 최종 부피 200 μ l Cytoporation buffer T (BTX Harvard Apparatus, Holliston, Massachusetts) 및 0.4 cm 갭 큐벳들에서 325 V/cm에서 네 번의 0.2 ms 펄스들이 이어짐으로써, 펄스(Pulse) 아질(Agile) 기술을 이용하여 수행되었다. 그 다음에 전기천공된 세포들은 즉시 1 mL의 예열된 (prewarm) X-vivo-15 무혈청 배지를 포함하는 12-웰 플레이트로 이동되었고 37°C에서 15 분 동안 배양되었다. 그 다음에 세포들은 48 웰들 주기적으로 처리된 플레이트들에서 기증자 매트릭스들을 포함하는 AAV6 입자들 ($MOI=3E^5$ vg/세포들)의 존재 하 250 μ L의 동일한 배지에서 $8E^6$ 세포들/mL로 농축되었다. 30°C에서 배양 2 시간 후, 10% AB 혈청이 보충된 Xvivo-15 배지 250 μ L 및 40 ng/ml IL-2이 세포 현탁액에 첨가되었고 그 혼합물은 동일한 배양 조건들에서 24 시간 배양되었다. 하루 후, 세포들은 완전 X-vivo-15 배지에서 $1E^6$ 세포들/mL에서 접종(seed)되었고, 5% CO₂의 존재 하 37 °C에서 배양되었다.

[0364] 2.2-IL15의 분비 및 Δ LNGFR의 활성화-의존적 발현

[0365] 조작된 T-세포들은 앞서 기재된 형질주입-형질도입 공정으로부터 회수되었고 완전 X-vivo-15 배지의 최종 부피 100 μ L에서 Dynabeads (12.5 μ L/ $1E^6$ 세포들) 또는 Raji 세포들 (E:T=1:1)의 존재 하 또는 단독으로 $1E^6$ 세포들/mL로 접종되었다. 세포들은 회수되기 전에 48 시간 동안 배양되었고, 표지되었고, 유동세포분석법에 의하여 분석되었다. 세포들은 두 개의 독립적인 세트들의 항체들로 표지되었다. Δ LNGFR, CAR 및 CD3 세포들의 존재를 검출하는 것을 목표로 하는 항체들의 첫 번째 세트들은 QBEND10-APC (1/10 희석됨), 바이오크로(vioblue)-표지된 항 CD3 (1/25 희석됨) 및 PE-표지된 항- Δ LNGFR (1/25 희석됨)로 구성된다. 내생 CD25 및 PD1의 발현을 검출하는 것을 목표로 하는 항체들의 두 번째 세트들은 APC-표지된 항-CD25 (1/25 희석됨) 및 바이오크로-표지된 항 PD1 (1/25 희석됨)으로 구성된다.

[0366] 동일한 실험적 셋업이 배지에서 IL-15 분비를 연구하기 위하여 사용되었다. 세포들 혼합물은 IL-15 특이적 ELISA 키트를 이용하여 상청액 수집 및 분석 전 2, 4, 7 및 10 일 동안 공-배양으로 유지되었다.

[0367] 2.3-순차적 사멸 분석

[0368] 조작된 CAR T-세포들의 항종양 활성을 평가하기 위하여 순차적 사멸(killing) 분석이 수행되었다. 이 분석의 원리는 변함없는 양의 종양 세포들의 매일 첨가에 의하여 매일 CAR T-세포 항종양 활성을 요구하는 것이다. 종양 세포 증식, 통제 및 재발은 종양 세포주들에 안정적으로 통합된 루시페라제 마커 덕분에 형광 판독(read out)을 통하여 모니터링될 수 있다.

[0369] 보통 CAR T-세포들은 총(total) 부피 1 mL의 Xivo 5% AB, 20 ng/ μ L IL-2에서 여러가지 E:T 비율 (E:T=5:1 또는 1:1)에서 2.5×10^5 Raji-luc 종양 세포들의 현탁액에 혼합된다. 혼합물은 ONE-Glo 시약을 이용하여 세포 현탁액 25 μ L의 발광을 결정하기 전에 24 시간 배양된다. 세포들 혼합물은 그 다음에 스핀다운되고, 오래된 배지는 폐기되고 2.5×10^5 Raji-Luc 세포들을 포함하는 1 mL의 신선한 완전 X-vivo-15 배지로 치환되고, 그 결과인 세포 혼합물은 24 시간 동안 배양된다. 이 프로토콜은 4 일 반복된다.

[0370] 실험들 및 결과들

[0371] 이 실시예는 PD1 및 CD25 유전자들을 조절하는 내생 T-세포 프로모터들의 통제 하 IL-15/용해성 IL-15 수용체 알파 헤테로다이머 (IL15/sIL15 α) 발현 카세트들을 통합함으로써 CAR T-세포 요법들의 치료적 결과를 개선하기 위하여 방법들을 기재한다. 유전자들 둘 다 CAR T-세포들에 의하여 종양 이용되면 상호조절되는 것으로 알려져 있기 때문에, 그것들은 종양의 부근에서만 IL- IL15/sIL15 α 을 재-발현시키기 위하여 하이잭될 수 있다. 이 방법은 IL15/sIL15 α 침투성(systemic) 분비의 잠재적인 부작용들을 감소시키고, 반면 활성화 유도된 T-세포 죽음(AICD)을 감소시키고, T-세포 생존을 촉진하고, T-세포 항종양 활성을 향상시키고 그리고 T-세포 면역성결여(anergy)를 역전시키는 그것의 능력을 유지하는 것을 목표로 한다.

[0372] 방법은 AAV6에 의하여 벡터화된 DNA 수선(repair) 매트릭스의 존재 하 TALEN을 이용하여 양 자리들에서 이중-가

닥 손상을 만들어내는 것으로 구성되는 PD1 및 CD25 자리들에서 IL15/sIL15r α를 통합하기 위하여 발달하였다. 이 매트릭스는 2A 시스 작용하는 요소들 및 조절 요소들 (중결 코돈 및 폴리A 서열들)에 의하여 분리된 IL15/sIL15r α 코딩 영역들이 박힌(embedding) 두 개의 상동성 암들로 구성된다. T-세포 활성화에서 그것의 관련 및 타겟이 된 자리에 의존하여, 타겟인 내생 유전자는 특이적 매트릭스 설계를 통하여 불활성화되거나 또는 그렇지 않을 수 있다. CD25 유전자가 타겟인 자리로 고려되었을 때, 삽입 매트릭스는 불활성화시키는 CD25 없이 녹인(knock-in) (KI) IL15/sIL15r α로 설계되는데, 이는 이 유전자의 단백질 산물이 T-세포 기능에 필수적으로 여겨지기 때문이다. 반면, PD1이 T-세포 억제/T-세포들 소모에 관련되기 때문에, 삽입 매트릭스는 그것의 발현을 방지하는 반면 IL15/sIL15r α의 발현 및 분비를 가능하게 하도록 설계되었다.

[0373] 이 접근을 묘사하고 일차 T-세포들에서 이중 타겟된 삽입의 실행가능성을 입증하기 위하여, 세 가지 다른 매트릭스들이 설계되었다 (도 2A, 2B 및 2C). 서열번호 :36 에 의하여 나타내어지는 CARm로 명칭된 첫 번째 것은 TRAC TALEN®의 존재 하 TRAC 자리에서 항-CD22 CAR cDNA를 삽입하도록 설계되었다 (서열번호 :16 및 17). 두 번째 것, IL-15_CD25m (서열번호 :37)은 CD25 TALEN®을 이용하여 CD25 내생 코딩 서열 (서열번호 :18 및 19)의 중결 코돈 바로 전에 2A 시스-작용하는 요소들에 의하여 분리된 ΔLNGFR cDNA들로 명칭된 표면 마커, IL15 및 sIL15r α를 통합하도록 설계되었다. 세 번째 것, IL-15_PD1m (서열번호 :38)은 동일한 발현 카세트를 포함하였고, PD1 TALEN®을 이용하여 PD1 오픈 리딩 프레임의 중간에 통합하도록 설계되었다 (서열번호 :20 및 21). 세 개의 매트릭스들은 타겟이 된 내생 유전자와 CAR 및 IL15/sIL15r α의 공-발현을 가능하게 하도록 추가적인 2A 시스-작용하는 요소 위치된 업스트림 발현 카세트들을 포함한다.

[0374] 우리는 처음에 CAR를 코딩하는 것과 함께 IL15/sIL15r α 매트릭스들을 코딩하는 AAV6 중 하나로 그것들을 형질 도입함으로써 T-세포들에 이중 타겟된 삽입의 효율을 평가하였고 (서열번호 :41; pCLS30519), 그 다음에 상응하는 TALEN®으로 형질주입하였다. TRAC TALEN® (서열번호 :22 및 23) 및 PD1 TALEN® (서열번호 :24 및 25) 또는 CD25 TALEN® (서열번호 :26 및 27)를 코딩하는 mRNA의 존재 하 매트릭스들의 AAV6-도입된 벡터화는 조작된 T-세포들의 46%까지에서 항 CD22 CAR의 발현을 가능하게 하였다 (도 3).

[0375] CD25 및 PD1 자리에서 IL15m 통합의 정도(extent)를 결정하기 위하여, 조작된 T-세포들은 항CD3/CD28 코팅된 비드들로 또는 CD22 발현시키는 Raji 종양 세포들로 활성화되었다. 활성화 2 일 후, 세포들은 회수되었고 IL15/sIL15r α 분비 대리(surrogate)로서 LNGFR 발현을 이용하여 FACS에 의하여 분석되었다 (도 4 및 5). 우리의 결과들은 항CD3/CD28 코팅된 비드들이 항 CD22 CAR의 존재에 독립적으로, IL-15m_CD25 또는 IL-15m_PD1을 포함하는 T-세포들에 의하여 ΔLNGFR의 발현을 유도하였다는 것을 보여주었다 (도 4A-B). 그러나 종양 세포들은 CARm 및 IL-15m 둘 다에 의하여 처리된 T-세포에 의하여 ΔLNGFR의 발현만을 유도하였다. 이것은 ΔLNGFR의 발현이 CAR에 의한 종양 세포 이용을 통하여 특이적으로 유도될 수 있다는 것을 나타내었다 (도 5 및 6).

[0376] 예상된 대로 내생 CD25 유전자는 여전히 활성화된 처리된 T-세포들에서 발현되었던 반면(도 7 및 8), PD1 발현은 강하게 손상되었다 (도 12).

[0377] ΔLNGFR의 발현이 배지에서 IL15의 발현과 관련되었다는 것을 입증하기 위하여, ΔLNGFR 및 항-CD22 CAR을 발현시키는 T-세포들이 총 10일 동안 CD22 발현시키는 Raji 종양 세포들 (E:T 비율 = 1:1)의 존재 하 배양되었다. 상청액은 2, 4, 7 및 10 일에 회수되었고 IL15의 존재는 ELISA 분석에 의하여 정량화되었다. 우리의 결과들은 IL15이 상응하는 TALEN®과 함께 CARm 및 IL15m 매트릭스들 둘 다에 의하여 함께 처리된 T-세포들에 의하여만 배지에서 분비되었다는 것을 보여주었다 (도 13). 이들 매트릭스들 중 하나로 처리된 T-세포는 T-세포들을 그대로 두는 것(rest)과 관련하여 임의의 상당한 수준의 IL15을 분비하는 것이 불가능하였다. 흥미롭게도 IL-15 분비 수준은 4 일에 최고 피크로 집중되어 일시적인 것으로 발견되었다 (도 14).

[0378] 분비된 IL-15 (서열번호 :59)의 수준이 CAR T-세포 활성화에 영향을 줄 수 있는지 여부를 평가하기 위하여 CAR T-세포는 4 일 동안 5:1의 E:T 비율에서 종양 세포들의 존재 하 공-배양되었다. 그것들의 항종양 활성화는 펠렛을 함으로써 매일 요구되었고 신선한 종양 세포들을 포함하고 IL-2가 부족한 배양 배지에서 현탁되었다. CAR T-세포의 항종양 활성화는 루시페라제를 발현시키는 남아있는 Raji 종양 세포들의 발광을 측정함으로써 매일 모니터링되었다. 우리의 결과들은 IL-15을 공-발현시키는 CAR T-세포들이 고려된 모든 점들에서 IL15가 부족한 것들보다 더 높은 항종양 활성을 가졌다는 것을 보여주었다 (도 15).

[0379] 그러므로 우리의 결과들과 함께, 우리는 TRAC 및 CD25 또는 PD1 자리들에서 IL15 cDNA 및 CAR의 동시의 타겟이 된 삽입들을 가능하게 하는 방법을 개발하였다. 이 이중 타겟된 삽입은 배지에서 IL15의 분비 및 항CD22 CAR의 활발한 발현을 이끌었다. 분비된 IL15의 수준들은 CAR T-세포들의 활성을 향상시키는데 충분하였다.

표 5

서열 번호#	서열 명칭	폴리펩타이드 서열	RVD 서열
16	TALEN 오른쪽 TRAC	MGDPKKKRKVIDYPYDVPDYAIDIADRLTLGYSQQQKEKIPKVRSTVA QHHEALVGHGFTHAHIVALSQHPAALGTAVVKYQDMIAALPEATHEAIV GVGKQWSGARALEALLTVAGELRGPPQLDGTGQLLKIARGGVTAVEA VHAWRNALTGAPLNLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHG LTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGG GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVL CQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIA SHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQAL LPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQ VVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALE TVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGL TPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGK QALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLC QAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIAS NNGGRPALESIVAQLSRPDPALAALTNDHLVALACLGGRPALDAVKKGL GDPISRSQLVKSELEEKSELRHKLKYVPHEYELIEIARNSTQDRILEMK VMEFFMKVGYRGKHLGGSRKPDGAIYTVGSPIDYGVIVDTKAYSGGY NLPIGQADEMQRYVEENQTRNKHINPNEWVKYPSVTEFKFLVSGH FKGNYKAQLTRLNHITNCNGAVLSVEELLIGGEMIKAGTLLEEVRKRFN NGEINFAD	NG-NN-NG-HD- HD-HD-NI-HD-NI- NN-NI-NG-NI-NG- HD-NG#
17	TALEN 왼쪽 TRAC	MGDPKKKRKVIDKETAALKFERQHMSIDIADRLTLGYSQQQKEKIPK VRSTVAQHHEALVGHGFTHAHIVALSQHPAALGTAVVKYQDMIAALPEA THEAIVGVGKQWSGARALEALLTVAGELRGPPQLDGTGQLLKIARGGV TAVEAVHAWRNALTGAPLNLTPQQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVL CQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIA ASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQA LLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPE QVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQA LETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQA HGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASN GGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLP VLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVA IASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETV QRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLT PQQVVAIASNNGGRPALESIVAQLSRPDPALAALTNDHLVALACLGGRP ALDAVKKGLGDPISRSQLVKSELEEKSELRHKLKYVPHEYELIEIARNST QDRILEMKVMEFFMKVGYRGKHLGGSRKPDGAIYTVGSPIDYGVIVDT TKAYSGGYNLPIGQADEMQRYVEENQTRNKHINPNEWVKYPSVTE FKFLVSGHFKGNYKAQLTRLNHITNCNGAVLSVEELLIGGEMIKAGTLT LEEVRKRFNNGEINFAD	HD-NG-HD-NI-NN- HD-NG-NN-NN- NG-NI-HD-NI-HD- NN-NG#
18	TALEN 오른쪽 CD25	MGDPKKKRKVIDYPYDVPDYAIDIADRLTLGYSQQQKEKIPKVRSTVA QHHEALVGHGFTHAHIVALSQHPAALGTAVVKYQDMIAALPEATHEAIV GVGKQWSGARALEALLTVAGELRGPPQLDGTGQLLKIARGGVTAVEA VHAWRNALTGAPLNLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHG LTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGG GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVL CQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIA SNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQ RLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTP QQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQ ALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQ AHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIAS NNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRL LPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQ VVAIASNNGGRPALESIVAQLSRPDPSSGSGGDPISRSQLVKSELEEK KSELRHKLKYVPHEYELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVGYRGKHL GGSRKPDGAIYTVGSPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEMQRYVEEN	NN-NG-NG-HD- NG-NG-NG-NG- NN-NN-NG-NG- NG-NG-HD-NG#

[0380]

		QTRNKHINPNEWWKVYPSSVTEFKFLFVSGHFKGNKQALTRLNHITN CNGAVLSVEELLIGGEMIKAGTLTLEEVRKFNNGEINFAAD	
19	TALEN 왼쪽 CD25	MGDPKKKRKVIDYPYDVPDYAIDIALRLTGYSSQQQEKIKPKVRSTVA QHHEALVGHGFTHAHIVALSQHPAALGTAVKYQDMIAALPEATHEAIV GVGKQWVGARALEALLTVAGELRGPPLQDGTGQLLKIAKRGGVTAVEA VHAWRNALTGAPLNLTPQVVVAIASNNGGKQALETVQALLPVLCOAHGL TPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASNNGGK QALETVQALLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLC QAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIAS NIGGKQALETVQALLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRL PVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQV VAIASNIGGKQALETVQALLPVLCOAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETV QALLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLT PEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQ ALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQ AHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCOAHGLTPQQVVAIASN GGGRPALESIVAQLSRDPGSGSGGDPISRSQLVKSELEKKSELRH KLKYPVHEYELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRK PDGAIYTVGSPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEMQRYVEENQTRNK HINPNEWWKVYPSSVTEFKFLFVSGHFKGNKQALTRLNHITNCNGAV LSVEELLIGGEMIKAGTLTLEEVRKFNNGEINFAAD	NI-HD-NI-NN-NN- NI-NN-NN-NI-NI- NN-NI-NN-NG-NI- NG#
20	TALEN 오른쪽 PD1	MGDPKKKRKVIDYPYDVPDYAIDIALRLTGYSSQQQEKIKPKVRSTVA QHHEALVGHGFTHAHIVALSQHPAALGTAVKYQDMIAALPEATHEAIV GVGKQWVGARALEALLTVAGELRGPPLQDGTGQLLKIAKRGGVTAVEA VHAWRNALTGAPLNLTPQVVVAIASKLGKQALETVQALLPVLCOAHGL TPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASHDGG KQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVL COAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAI ASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASYKGGKQALETVQ RLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTP QQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQ ALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQ HGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASHD GGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLP VLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCOAHGLTPQQVVA IASNNGGGRPALESIVAQLSRDPDPAALNDHLVALACLGGRPALDAVK KGLGDPISRSQLVKSELEKKSELRLKLYVPHEYELIEIARNSTQDRIL EMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKPDGAIYTVGSPIDYGVIVDTKAYS GGYNLPIGQADEMQRYVEENQTRNKHINPNEWWKVYPSSVTEFKFLFV SGHFKGNKQALTRLNHITNCNGAVLSVEELLIGGEMIKAGTLTLEEVR KFNGEINFAAD	KL-HD-HD-NG-HD- NG-YK-NG-NN- NN-NN-NN-HD- HD-NI-NG#
21	TALEN 왼쪽 PD1	MGDPKKKRKVIDKETAAKFERQHMSIDIALRLTGYSSQQQEKIKPK VRSTVAQHHEALVGHGFTHAHIVALSQHPAALGTAVKYQDMIAALPEA THEAIVGVGKQWVGARALEALLTVAGELRGPPLQDGTGQLLKIAKRGGV TAVEAVHAWRNALTGAPLNLTPQVVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVL COAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAI ASHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQ RLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTP QQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQ ALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCOA HGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASH DGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRL PVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQV VAIASNNGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETV QRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLT PQQVVAIASNNGGGRPALESIVAQLSRDPDPAALNDHLVALACLGGRP ALDAVKKGLGDPISRSQLVKSELEKKSELRLKLYVPHEYELIEIARNST QDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKPDGAIYTVGSPIDYGVIVDT KAYSGGYNLPIGQADEMQRYVEENQTRNKHINPNEWWKVYPSSVTE FKFLFVSGHFKGNKQALTRLNHITNCNGAVLSVEELLIGGEMIKAGTLT LEEVRKFNNGEINFAAD	HD-NG-HD-NG- NG-NG-NN-NI-NG- HD-NG-NN-N-NN- HD-NG#

[0381]

서열 번호#	서열 명칭	폴리뉴클레오타이드 서열
22	TALEN TRAC pCLS11370	ATGGGCGATCCTAAAAAGAAACGTAAGGTCATCGATTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTAT CGATATCGCCGATCTACGCACGCTCGGCTACAGCCAGCAGCAACAGGAGAAGATCAAACCGAA GGTTCGTTGACAGTGGCGCAGCACCCACAGGCACTGGTCGGCCAGGGTTTACACACCGGC ACATCGTTGCGTTAAGCCAAACCCGCGCAGCTTAGGGACCGTCTGCTCAAGTATCAGGACA TGATCGCAGCGTTGCCAGGCGCACACCAAGCGATCGTTGGCGTCGGCAACAGTGGTCC GCGCACGCGCTCTGGAGGCTTGTCTACGCTGGCGGGAGAGTTGAGAGGTCCACCGTTACA GTTGGACACAGGCCAATTCTCAAGATTGCAAAACGTGGCGGCGTGACCGCAGTGGAGGCAAT GCATGCATGGCGCAATGCACTGACGGGTGCCCGCTCAACTTGACCCCCAGCAGGTGGTGG CCATCGCCAGCAATGGCGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTG CTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGG CAAGCAGCGCTGGAGACGCTCCAGCGCTGTTGCCGCTGTGGCCAGGCCACGCGCTTGA CCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGCGCTGGAGCGGT CCAGCGCTGTTGCCGCTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCA TCGCCAGCCAGATGGCGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGCTGTTGCCGGTGTG TGCCAGGCCACGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCACGATGGCGGCAAGCA GCGCTGGAGACGGTCCAGCGCTGTTGCCGGTGTGTTGCCGGTGTGTTGCCGGTGTGTC GCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCACGATGGCGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCA GCGGCTGTTGCCGGTGTGTTGCCAGGCCACGCGTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCG CCAGCAATATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGCGCTGTTGCCGGTGTGTC CAGGCCACGCGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCACGATGGCGGCAAGCA GCGCTGGAGACGGTCCAGCGCTGTTGCCGGTGTGTTGCCGGTGTGTTGCCGGTGTGACCCG GAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGC GCTGTTGCCGGTGTGTTGCCAGCGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGTCCCA GCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGCTGTTGCCGGTGTGTTGCCAG GCCACGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGC GCTGGAGACGGTGCAGGCGCTGTTGCCGGTGTGTTGCCAGGCCACGCGTTGACCCCGAGC AGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGT GTTGGCGGTGCTGTGCCAGGCCACGCGTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCA ATATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGCGCTGTTGCCGGTGTGTTGCCAGGCC CAGCGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCT GGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGTGTTGCCAGGCCACGCGTTGACCCCGAGCAGC GTGGTGGCCATCGCCAGCCACGATGGCGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGTGTT GCCGGTGTGTTGCCAGGCCACGCGTTGACCCCGTGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATG GCGCGGCGAGCCGCGCTGGAGACGATTGTTGCCAGTTATCTGCCCTGATCCGGCGTTG CCGCGCTTGACCAACGACCACTGTCGCTTGCGCTGCTCGCGGCGCTGCTGCGCTGGA TGCAGTGAAGAGGATTGGGGATCTATCAGCGTTCCAGCTGCTGAAGTCCAGCTGGA GGAGAAAGAAATCCGAGTTGAGGCAACAGCTGAAGTACGTGCCCAAGAGTACATCGAGCTGAT CGAGATCGCCCGGAACGACCCAGGACCGTATCTCGGAGATGAAGGTGATGGAGTTCTTCAT GAAGGTGTACGGCTACAGGGGCAAGCACCTGGCGGCTCCAGGAAGCCGACGCGCCATCT ACACCGTGGGCTCCCCATCGACTACGGCGTGATCTGGACACCAAGGCTACTCCGGCGGC TACAACCTGCCATCGGCCAGGCCGACGAAATGCAGAGGTACGTGGAGGAGAACGACGACG GAACAAGCACATCAACCCCAAGGAGTGGTGGAGGTGTACCCCTCCAGCGTGACCGAGTTCAA GTTCTGTGTCGTGCCGCACTTCAAGGGCAACTCAAGGCCAGCTGACCGAGCTGAACCA CATCACCACTGCAACGGCGCGCTGCTGTCGTGGAGGAGCTCCTGATCGCGCGCGAGATGA TCAAGGCCGCGACCGCTGACCGTGGAGGAGTGAAGGGAAGTTCAACAACGGCGAGATCAAC TTCCGGGCGGACTGATAA
23	TALEN TRAC pCLS11369	ATGGGCGATCCTAAAAAGAAACGTAAGGTCATCGATAAGGAGACCGCGCTGCCAAGTTGAG AGACAGCACATGGACAGCATCGATATCGCCGATCTACGCACGCTCGGCTACAGCCAGCAGCAA CAGGAGAAGATCAAACCGAAGGTTCTGTTGACAGTGGCGCAGCAGCACGAGGCACTGGTCGG CCACGCGTTTACACACGCGACATCGTTGCGTTAAGCCAAACCCGCGAGGTTAGGGAGCGT CGCTGTCAAGTATCAGGACATGATCGAGCTTGCCAGAGGCGACACAGCAATCGTTGG CGTCGGCAACAGTGGTCCGCGCACGCGCTCTGGAGGCGTTGCTACGGTGGCGGAGAGT TGAGAGTCCACCGTTACAGTTGGACACAGGCCAATCTCAAGATTGCAAAACGTGGCGGCG TGACCGCAGTGGAGGCGATGATGATGGCGCAATGCACTGACGGGTGCCCGCTCAACTCT ACCCGGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCACGATGGCGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGG TCCAGCGGCTGTTGCCGGTGTGTTGCCAGGCCACGCGTTGACCCCGCAGCAGGTGGTGGCC ATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGCTGTTGCCGGTGTG GTGCCAGGCCACGCGTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCACGATGGCGGCG AAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGCTGTTGCCGGTGTGTTGCCAGGCCACGCGTTGAC CCGGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGC AGGCGCTGTTGCCGGTGTGTTGCCAGGCCACGCGTTGACCCCGCAGCAGGTGGTGGCCATC GCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGCTGTTGCCGGTGTGTC CAGGCCACGCGTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCACGATGGCGGCAAG CAGCGCTGGAGACGGTCCAGCGCTGTTGCCGGTGTGTTGCCAGGCCACGCGTTGACCCG CCAGCAGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAG

[0382]

		CGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGC CAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGAGCGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCC AGGCCACCGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAG GGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCCA GCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGG CTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAG CAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGGAGAGCGGTGTTGCCGGTGCTGTGCCAG CCACGGCTTGACCCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCACGATGGCGGCAAGCAGGC GCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCGAGC AGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGGAGCGGCTG TTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCA CGATGGCGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCC CAGCGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCT GGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGG TGTTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGCGGAGGCCGCGCTGGAGAGCATTGTTGCCAGTTA TCTCGCCGTGATCGGCGCTTGCCGCGCTTGACCAACGACCACTGCTCGCTTGCCCTGCTC GGCGGGCGCTCTCGGCTGGATGCAGTGAAAGGGGATGGGGGATCCTATCAGCCGTTCCTCA GCTGGTGAAGTCCGAGCTGGAGGAGAAGAAATCCGAGTTGAGGCACAAGCTGAAGTACGTGGC CCAGGAGTACATCGAGCTGATCGAGATGCCCGGAAACAGCAACCGAGCCTATCTCGAGAT GAAGTATGGAGTTCTTATGAAGGTGACGCGCTACAGGGGCAAGCACTGGCGGCTTCA GGAGCGCGAGCGGCCCATCTACACGCTGGGCTCCCCCATCGACTACGGCTGATCGTGAGC ACCAAGGCTACTCGGCGGCTACCACTGCCCATCGGCCAGGCCGACGAATCGCAGAGGTA CCTGGAGGAGAACCAGCCAGCAAGCAACATCAACCCCAACGAGTGGTGAAGGTGTACC CCTCGAGCGTGACCGAGTTCAAGTTCTGTTCTGTTCTGTTCTCGGCGCACTTAAGGGCACTACAAGG CCACGCTGACCGGCTGAACCATCAACCACTGAACGCGCGCTGCTGCTCGGTGGAGGAG CTCTGATCGGCGCGGATGATCAAGGCCGCGCACCTGACCTGGAGGAGGTGAGGAGGAA GTTCAACACGCGGAGATCAACTTCGCGGCCGACTGATAA
24	TALEN CD25 pCLS30480	ATGGGCGATCCTAAAAAGAAACGTAAGGTATCATGATTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTAT CGATATCGCCGATCTACGACGCTCGGCTACAGCCAGCAGCAACAGGAGAAGATCAAAACCGAA GGTTGTTCTGACAGTGGCGCAGCACACGAGGCACTGGTGGCCACGGGTTTACACACGCGC ACATCGTTGCTTAAAGCAACACCCGCGAGCGTTAGGAGCCGTGCTGTCAAGTATCAGGACA TATCGCAGCGTTGCCAGGGCGACACAGCGATCGTTGGCGTCGGCAACAGTGGTCC GGCGCACGCGCTCTGGAGGCTTGCTCACGGTGGCGGAGAGTTGAGAGGTTCCACGTTACA GTTGGACACAGGCCAATCTTCAAGATTGCAAAACGTTGGCGGCGTGACCGCAGTGAGAGCAGT GCATGCATGCGCAATCGACTGAGCGGTGCCCGCTCAACTTGACCCCCAGCAGGTGGTGG CCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTG CTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGG CAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGA CCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGT CCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCA TGCCAGCCAGCATGGCGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTG TGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAA GCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCC CCACAGCGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCA GGCGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCG CCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGC CAGGCCACCGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAG GGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCC AGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGG CTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAG CAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGG CCCCAGCGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCG CTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCA GGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTG TTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAA TGCGGCTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCC CAGCGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCT GGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCGAGCAG GTGGTGGCCATCGCCAGGCCACGATGGCGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTT GCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATG CGCGGCGAGCGCGGCTGGAGACGATTGTTGCCAGTTATCTGCCCTGATCCGAGTGG AGCGGAAGTGGCGGGATCTATCAGCGCTTCCAGCTGCTGAAGTCCGAGCTGGAGAGAA GAAATTCGAGTTGAGGCCAAGCTGAAGTACGTGCCCCAGAGTACATCGAGCTGATCGAGAT CGCCCGGAACAGCACCCAGGACCGTATCCTGGAGATGAAGGTGATGAAGTCTTATGAAGGT GTACGGCTACAGGGGCAAGCACTGGCGGCTCCAGGAAGCCGACGCGGCCATCTACACCG TGGGCTCCCCATCGACTACGCGCTGATCGTGACACCAAGGCGCTACTCGGCGGCTACAACC TGCCATCGGCCAGGCCGACGAATGCAAGGTTACGTGGAGGAGAACACAGACAGGAACAAG CACATCAACCCCAAGGAGTGGTGAAGGTGTACCCCTCCAGCGTGACCGAGTTCAAGTCTCTG TTCTGTTCGCGCCACTTCAAGGGCAACTCAAGGCCAGCTGACCAAGGCTGAACCATCAAC AATCGAACCGGCCGCTGCTGTCCGTGGAGGAGCTCTGATCGGCGCGGAGATGATCAAGGC CGGCACCTGACCTGGAGGAGGTGAGGAGGAAGTTCAACAACGCGCGAGATCACTTCGCGG CCGACTGATAA

[0383]

25	TALEN CD25 pCLS30479	<p>ATGGGCGATCCTAAAAAGAAACGTAAGGTCATCGATTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTAT CGATATCGCCGATCTACGCACGCTCGGCTACAGCCAGCAGCAACAGGAGAAGATCAAAACCGAA GGTTCGTTGACAGTGGCGCAGCACCACAGGCGACTGGTCGGCCACGGGTTTACACACGCGC ACATCGTTGCGTTAAGCCAAACACCCGCGAGCGTTAGGGACCGTCGCTGTCAAGTATCAGGACA TGATCGCAGCGTTGCCAGAGCGCAGACACGAAGCGATCGTTGGCGTCGGCAAAACAGTGGTCC GGCGCACGCGCTCTGGAGGCGCTTGCTCACGGTGGCGGGAGAGTTGAGAGGTTCCACCGTTACA GTTTGACACAGGCCAATCTCTCAAGATTGCAAAACGTGGCGGGGTGACCGCAGTGGAGGCGAGT GCATGCATGGCGCAATGCACTGACGGGTGCCCGCTCAACTTGACCCCGGAGCAGGTGGTGG CCATGCCACGAATAATTGGTGCACAGCGCGCTGGAGACGGTGCAGGCGCTGTTGCCGGTG CTGTGCCAGGCCACCGCTTGACCCCGGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCACGATGGCGG CAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTCTGTGCCAGGCCACGCGTTGA CCCGGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTG CAGGCGCTGTTGCCGGTCTGTGCCAGGCCACGCGTTGACCCCGCAGCAGGTGGTGGCCAT CGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTCTGT GCCAGGCCACCGCTTGACCCCGCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAG CAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTCTGTGCCAGGCCACCGGCTTGACCC GGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGG CGCTGTGGCGGTGCTGTGCCAGGCCACCGCTTGACCCCGCAGCAGGTGGTGGCCATCGCC AGCAATAATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTCTGTGCCA GGCCACGCGCTTGACCCCGCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGG CGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTCTGTGCCAGGCCACGCGTTGACCCCGGAG CAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGCGCT GTTGGCGGTGCTGTGCCAGGCCACGCGTTGACCCCGGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCA ATAATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGCGCTGTTGCCGGTCTGTGCCAGGCC CAGCGCTTGACCCCGCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCT GGAGCAGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTCTGTGCCAGGCCACGCGTTGACCCCGGAGCAGG GCCGGTCTGTGCCAGGCCACGCGTTGACCCCGCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAAT ATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTCTGTGCCAGGCCAC GGCTTGACCCCGCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGA CAGGCTGCAGCGGCTGTTGCCGGTCTGTGCCAGGCCACGCGTTGACCCCGGAGCAGGTGG TGCCCATCGCCAGCAATAATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGCGCTGTTGCC GTGCTGTGCCAGGCCACGCGTTGACCCCGCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGCGG CGCGAGCAGCGCTGGAGACGATGTTGCCAGTTATCTCGCCCTGATCCGAGTGGCAGCG GAAGTGGCGGGATCCTATCAGCGCTTCCAGCTGTTGAAGTCCGAGCTGGAGGAGAAGAAAT CCAGTTGAGACAAAGCTAAATGACGTGCCCGCCAGCAGGTACATCGAGCTGATCGAGATGCGC GGAACAGCACCAGGACCGTATCTGGAGATGAAGGTGATGGAGTTCTCATGAAGTGTACCG GCTACAGGGCAAGCACTGGCGGCTCCAGGAAGCCGACGGCCCATACACCGTGGCG TCCCGGCTGACTACGGCGTGATCTGGACACCAAGGCTACTCCGGCGCTACAACCTGCCAT ATCGGCCAGGCCGACGAATGCAGAGGTACGTGGAGGAGAACCAGCAGGAAACAGCAGCAT CAACCCCAAGAGTGGTGAAGGTGTACCCCTCCAGCGTGACCGAGTTCAAGTTCTGTTCTGT GTCCGGCCACTTCAAGGGCACTACAAGGCCAGCTGACCAAGGTGAACACATACCAACCTG CAACGGCGCGTGTGTCGGTGGAGAGCTCCTGATCGCGGGCGAGATGATCAAGGCCGGCA CCCTGACCTGGAGAGGTGAGGAGGAAGTTCAACACGGCGAGATCAACTCGCGGCCGAC TGATAA</p>
26	TALEN PD1 pCLS28959	<p>ATGGGCGATCCTAAAAAGAAACGTAAGGTCATCGATTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTAT CGATATCGCCGATCTACGCACGCTCGGCTACAGCCAGCAGCAACAGGAGAAGATCAAAACCGAA GGTTCGTTGACAGTGGCGCAGCACCACAGGCGACTGGTCGGCCACGGGTTTACACACGCGC ACATCGTTGCGTTAAGCCAAACACCCGCGAGCGTTAGGGACCGTCGCTGTCAAGTATCAGGACA TGATCGCAGCGTTGCCAGAGCGCAGACACGAAGCGATCGTTGGCGTCGGCAAAACAGTGGTCC GGCGCACGCGCTCTGGAGGCGCTTGCTCACGGTGGCGGGAGAGTTGAGAGGTTCCACCGTTACA GTTTGACACAGGCCAATCTCTCAAGATTGCAAAACGTGGCGGGGTGACCGCAGTGGAGGCAAT GCATGCATGGCGCAATGCACTGACGGGTGCCCGCTCAACTTGACCCCGGAGCAAGTGGTGG CTATCGCTTCAAGCTGGGGGAAAGCAGGCCCTGGAGACGCTGACAGGCCCTTCTCCAGTG CTTTGCCAGGCTCACGGAAGTGAACCGTGAACAGGTGGTGGCAATTGCTTACACAGCAGCGGG CAAGCAGGCACTGGAGAGTGTCCAGCGGCTGCTGCTGTCTGCCAGGCCACGGAAGTCA CTCCTGAGCAGGTGCTGGCCATTGCCAGCCAGATGGGGCAACAGGCTCTGGAGACCGTG CAGCGCTCTCCAGTGTGCTGTGCCAGGCTCATGGGTGACCCACAGCAGGTGCTGCCATT GCCAGTAACGGCGGGGGGAAGCAGGCCCTCGAAACAGTGCAGAGGCTGCTGCCGCTTTGTG CCAAGCACACGGCGCTGACACCCAGCAGGTGGTGGCCATGCGCTCTCATGACGGCGGCAAGC AGGCCCTTGAGACAGTGCAGAGACTGTTGCCCGTGTGTTGTGACGGCCACGGGTTGACACCC AGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGGGGAAAGCAGGCCCTTGAGACCGTGCAGCGG TGTCTTCAGTGTGTTGCCAGGCACACGGAAGTGAACCGTGAACAGGTGGTGGCAATCGCCAGC TACAAGGGCGGAAAGCAGGCTCTGGAGACAGTGCAGCGCTCCTGCCCGTGTGTTGACGGC TCACGGACTGACACCAAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGTAACGGGGGGGCGCAAGCAGGCTT TGGAGACCGTGCAGAGACTCCTCCCGTCTTTGGCAGGCCACCGGTTGACACCTCAGCAGG TCGTGCCATTGCTCTCAACAAAGGGGGCAAGCAGGCCCTCGAACTGTGCAGAGGCTGCTG CCTGTGCTGTGCCAGGCTCATGGGTGACACCCAGCAGGTGGTGGCCATTGCTCTTAACAAAC GGCGGCAACAGGCACTGGAGACCGTGCAAAAGGCTGCTGCCCTGCTGTCGAACGCCACCGG GCTCTCAACAGCAGGTGCTGGCCATCGCTCAACCAATGGCGGGAAGCAGGCCCTGGAGA CTGTGCAAAAGGCTGCTCCTGTGCTGTGCCAGGCACAGGACTGACCCCTCAGCAGGTGGT GCAATCGCTTCAACAAAGGGGGAAAGCAGGCCCTCGAAACCGTGCAGCGCTCTCCTCCAGT</p>

[0384]

		GCTGTGCCAGGCACATGGCCTCACACCCGAGCAAGTGGTGGCTATCGCCAGCCACGACGGAG GGAAGCAGGCTCTGGAGACCGTGCAGAGGCTGCTGCTGTCTGTGCCAGGCCACGGGGCTT ACTTCCAGAGCAGGTGCTGCCATCGCCAGTCTAGTGGGGGAAGCAGGCCCTTGAGACAGT CCAGCGGCTGCTGCCAGTCTTTGCCAGGCTCACGGCTTGACTCCCGAGCAGGTCTGTGCCAT TGCTTCAAACTTTGGGGCAAGCAGGCCCTGGAGACAGTGCAGGCCCTGCTGCCGTGTTGTG TCAGGCCACGGCTTGACACCCAGCAGGTGCTGCCATTGCTCTAATGGGGCGGAGAC CGGCTTGAGAGCATTGTTGCCAGTTATCTCGCCCTGATCCGGCTTGCCGGCTTGACCA ACGACCACCTGCTGCCCTGGCTGCTCGGGGGCTGCTCGCTGGATGCAAGTGAAGAAAG GGATTGGGGGATCTATCAGCCGTTCCAGCTGGTGAAGTCCGAGCTGGAGGAGAAAGATCC GAGTTGAGGCAAGCTGAAGTACGTGCCACAGGATACATCGAGCTGATCGAGATCGCCGG AACAGCACCCAGGACCGTATCTCGAGATGAAGTGTAGGAGTCTTCTATGAAGGTGACGGC TACAGGGGCAAGCACCTGGGGGGCTCCAGGAAGCCGACGGGGCATCTACACCTGGGGCTC CCCATCGACTACGGCTGATCTGGACACCAAGGCCCTACTCCGGGGCTACAACTGCCCAT CGGCCAGGCCGACGAATGCAAGGTACGTGGAGGAGAACAGACAGGAACAAGCACATCA ACCCCAAGAGTGGTGAAGGTGTACCCCTCCAGCGTGACCGAGTTCAAGTTCTCTGTTCTGT CGGCCACTTCAAGGGCAACTACAAGGCCAGCTGACCGGCTGAACCATACCAACTGCA ACGGCGCTGCTGCTGCTGGAGGAGCTCTGATCGGGGGGAGATGATCAAGGCCGGCAC CTGACCTGGAGGAGGTGAGGAGGAGTTCAACAACGGCGAGATCAACTTCGGGGCGACTG ATAA
27	TALEN PD1 pCLS18792	ATGGGCGATCCTAAAAGAAACGTAAAGTGCATCGATAAGGAGACCGCGCTGCCAAGTTGAG AGACAGCACATGGACAGCATCGATATGCGCGATCTACGCCACGCTCGGCACAGCCAGCAGCA CAGGAGAGATCAACCGAAGTTCTTGACAGTGGCGCAGCACAGGCACTGGTGG CCAGCGGTTTACACACCGGCACATCGTTGCGTTAAGCAACACCCGGCAGCGTTAGGAGCGT CGCTGTCAAGTATCAGGACATGATCGACGCTTGCCAGAGCGCACACGAAAGCATCGTTGG CGTCCGCAAAAGTGGTCCGGGCGACGCGCTCTGGAGGCGCTTGCTCAGCGTGGCGGAGAGT TGAGAGGTTCCACCGTTACAGTTGGACACAGGCCAATTCTCAAGATTGCAAAACGTGGCGGC TGACCGCAGTGGAGGACGATGATGATGGCGCAATGCACTGACGGGTGCCCGCTCAACTTG ACCCCGAGCAAGTCTCGCAATCGCCAGCCATGATGGAGGAAAGCAAGCCCTGAAACCGT GCAGCGGTTGCTTCTGCTGCTGCCAGGCCACGGCTTACCCCTCAGCAGGTGGTGGCCAT CGCAAGTAACGGAGGAGAAAGCAAGCCTTGGAGACAGTGCAGCGCTGTTGCCGTGCTGT GCCAGGCAACGGCTCACACAGAGCAGGTGCTGGCCATGCTCCCATGACGGGGGAAAG CAGGCTCTGGAGACCGTCCAGAGGCTGCTGCCCGCTCTCTGTCAAGCTCACGGCTGACTCC CAACAAGTGGTCCCATCGCTCTAATGGCGGGGAAAGCAGGCACTGGAACAGTGCAGAG ACTGCTCCCTGTGCTTTGCAAGCTCATGTGCTTGAACCCCAAGCAGGTGCTGCTATTGCTCA AACGGGGGCAAGCAGCCCTTGACAGTGTGCAAGGCTGTTGCCAGTCTGTGCAAGG TCACGGGCTCACTCCACACAGGTGCTGCAATTGCCAGCAACGGGGCGGAAAGCAAGCTCT TGAACCGTCAACCGCTCTGCGCGTGTCTGTGAGGCTATGGCGTGCACACCAACAAGT CGTGCCCATCGCCAGTAAATAGCGGGGAACAGGCTCTTGAGACCGTCCAGAGGCTGCTCCC AGTGTCTGCGAGGCAACGGGCTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCTATCGCCAGCAATATTG GGGGCAAGCAGGCCCTGGAACAGTCCAGGCCCTGCTGCCAGTGTCTTGCCAGGCTCACGGG CTCACTCCCGAGGCTGCTGGCAATCGCCTCCAGCGGGAGGGAAGCAGGCTGAGAGC CGTGAGAGAGTGTGCGCGCTTGTGCGCAGGCCACGGACTCACACCTGAACAGGTGCTGCG CATTGCTCTACGATGGGGGCAAAAGCCCTGGAGACAGTGCAGCGGCTGTTGCTGTGTT GTGCCAAGCCACCGCTTGACTCTCAACAAGTGGTGCCTATCGCCTCAAAATGGCGGGGAA ACAAGCTCTGGAGACAGTGCAGAGTTGCTGCCCGTCTCTGCAAGCCACGGCTGACTCC CCAGAGGTGCTGCGCATTTGCCAGCAACAAGCGGAGGAAGCAGGCTCTGAAACTGTGACGCG GCTGCTCTGCTGTGTGTCAGGCTCATGGGCTGACCCCGAGCAAGTGTGGCTATGCGCTCA TAATGGAGGCAAGCAAGCCCTTGAGACAGTCCAGAGGCTTGGCAGTCTGTGCGAGGCCA CGGGCTCACACCCAGCAGGTGGTGCCTCGCCAGTAAACACGGGGGCAACAGGCAATTGG AAACGCTCCAGCGCTGCTTCCAGTGTCTGCGCAGGCACAGGACTGACACCCGAACAGGTG TGCCCATTTGATCCCATGATGGGGGCAAGCAGGCCCTGGAGACCGTGCAGAGACTCTGCCA GTGTTGTGCCAAGCTCACGGCTCACCCCTCAGCAAGTGTGGCTATCGCCTCAACCGGGG GGGGCGGCTGCACTGGAGAGCATTTGTTGCCAGTTATCTCGCCCTGATCCGGCGTTGGCGG CGTTGACCAACGACCCTCGTCGCTTGGCTGCTCGGGGGGCTCCTGCGCTGGATGCA GTGAAAGGGATTGGGGGATCCTATCAGCCGTTCCAGCTGGTGAAGTCCGAGCTGGAGGAG AAGAAATCCGAGTTGAGGCAAGCTGAAGTACGTGCCCGCAGATACATCGAGCTGATCGAG ATCGCCCGGAACAGCACCCAGGACCGTATCCTGGAGATGAAGTGTGAGGTTCTTATGAAG GTGTACGGCTACAGGGGCAAGCAGCTGGGGGCTCCAGGAAGCCCGAGCGGCCCATCTACAC CGTGGGCTCCCATCTGACTACGGCTGATGCTGGACACCAAGGCCCTACTCCGGCGGTACA ACCTGCCATCGCCAGGCCGCAAGTGCAGGCTACGTGGAGGAGAACAGGACAGGAGAAC AAGCACATCAACCCCAAGGAGTGGTGAAGGTATCCCTCCAGCTGACCGAGTTCAAGTTT CTGTTCTGTGCGGCCACTTCAAGGGCAACTACAAGGCCAGCTGACAGGCTGAACACATC ACCAACTGCACCGCGCGCTGCTGCTGCGGAGGAGCTCTGATCGCGGGCGAGATGATCAA GGCGGCGACCTGACCTGGAGGAGGTGAGGAGGAAGTTCAACAACGGCGAGATCAACTCG CGGCCGACTGATAA
28	TALEN 타겟 TRAC	TTGTCCCAAGATATCCAGAACCTGACCCCTGCCGTGTACCAAGCTGAGA
29	TALEN 타겟 CD25	TACAGGAGGAAGAGTAGAAGAACAATCTAGAAACCAAAAGAACA

[0385]

30	TALEN 타겟 PD1	TACCTCTGTGGGGCCATCTCCCTGGCCCCCAAGGCGCAGATCAAAGAGA
31	매트릭스들 TRAC 자리_CubiCA R CD22 pCLS30056	TTGCTGGGCTTTTCCCATGCCTTACTCTGCCAGAGTTATATTGCTGGGGTTTGAAGA AGATCCTATTAAATAAAAGAAATAGCAGTATTATTAGTAGCCCTGCATTTAGGTTTCTTGAGT GGCAGGCCAGGCCCTGGCCGTGAACGTTCACTGAAATCATGGCCCTTTGGCCAAAGATTGATAGC TTGTGCTGTCCCTGAGTCCAGTCCATCACGAGCAGCTGGTTTCTAAGATGCTATTCCCGTA TAAAGCATGAGACCGTGACTTGGCAGCCCCACAGAGCCCCGCCCTTGTCCATCACTGGCATCT GGACTCCAGCCTGGGTGGGGCAAAGAGGGAATGAGATCATGTCTTAACCCGTATGCTCTTG TCCCACAGATATCCAGTACCCCTAGCAGCTGCCCGACTACGCCCTCCGGTGAGGGCAGAGGAAG TCTTCAACATGCGGTGACGTGAGCGAATCCGGCCCCCGGATCCCTCTGCCCGTCAACGCG TCTGCTGCTGCCACTGGCACTGCTGCTGCACGCTGCTAGGCCCGGAGGGGAGGCAGCTGCC CCTACAGCAACCCAGCCTGTGCAGCGGAGGGCGGCGGAGCGGGGAGGGGTAGCCAGGT GCAGCTGCAGCAGAGCGGCCCTGGCCTGGTGAAGCCAAGCCAGACACTGTCCCTGACCTGCG CCATCAGCGCGGATTCCTGAGCTCCAACCTCCGCCCTGGAATTGGATCAGGCGAGTCCCTT CTCGGGGCTGGAGTGGCTGGGAAGGACATACTATCGGTCTAAGTGGTACAACGATTATGCGG TGCTGTGAAGAGCAGAAATCAACATCAACCTGCACCTCCAAGAAATCAGTTCTCTCTGCAGCT GAATAGCTGACACCAAGGACACCGCCGTGACTATTGCGCCAGGGAGGTGACCGGCGACCT TGAGGATGCTTTGACATCTGGGGCCAGGGCAAAATGTTGACCGTGAGCTCCGGAGGGCGGC GGATCTGGCGGAGGAGAAAGTGGGGCGGGGAGTGATATCCAGATGACACAGTCCCTCAT CTCTCTGAGCGCTCCGTGGCGGACAGAGTGACAATCACTGTAGGGCTCCCGAGACCATCTG GTCTTGGTGAACCTGGTATCAGCAGAGGCCCGGCAAGGCCCTAATCTGCTGATCTAGCGAGC AAGCTTCTCTGAGAGCGGAGTGCCATCCAGATTCTCTGGCAGGGGCTCCGGCAGACAGCTTAC CTTGACATCTCTAGCTCAGGCGGAGGACTTGGCCACTACTATTGGCAGCAGCTTGTATAGC ATCCCCCAGACATTGGCCAGGGCACCAGCTGGAGATCAAGTCCGGATCCCGAAGCGGAGG GGGAGGCGAGCTGCCCTACAGCAACCCAGCCTGTGCAGCGGAGGGCGGCGGAGCGAGCTG CCACCCAGGGCACCTTCTCAACGTGTCCACCACTGAGCCCAAGCCCAAGCCCAACCAACC GCCTGTCTTATTCCAATCTTCCCTGTGTGCTCCCAACCAACCCCGCTCCAAGGCCCTCTG CCCCCGCACCAACTATTGCTTCCAGCCTCTCACTGCGGCTGAGGCTGTGCGGCCGCTG CTGGAGGCGCAGTACATACAAGGGGCTCGATTTCGCTGCGATATTACATCTGGGCACCC TCGCCGGCAGCTGCGGGGTGCTTCTCTCTCCCTGGTGATTACCTGTATTGCAAGCGGGGCG GGAAGAGCTCTCTACATTTTAAAGCAGCTTTCATGCGGCCAGTGCAGACAAACCAAGAGGA GGATGGGTCTCTGCAGATTCCCTGAGGAAGAGGAAGCGGGTGCGAGCTGAGAGTGAAT TCTCCAGGAGCGCAGATGCCCGCGCTATCAACAGGGCCAGAACCAAGCTCTACAACGAGCTTA GCTTGGGAGGGCGGAAGAATACGACGTGTGGATAAGAGAAGGGGGGGGAGCCCGGAGAT GGAGGAAAGCCCGGAGGAGAACCCCTCAGGAGGGCTGTACAAACAGCTGCAGAGAGGATTA GATGCGCAGAGCTCTGAGAGATCGGATGAAGGGGAGGCGGGCGGGAAGAGGGGAC GATGGGCTCTACCAAGGGCTGAGCAGACGCCAAGGACACATACGACGCTTGCACATGACG GCCCTTCAACCCCGGAATAGCTAGAGGGCCGTTTAAACCCGCTGATCAGCTCGACTGTG CCTTCTAGTTCGCCACCTCTGTTGTTGCCCTCCCGCTGCCCTTCTTGACCTGGAAGGTG CCACTCCCACTGCTCTTCTCAATAAAATGAGGAAATGCAATCGCATTTGTCTGATAGGTGTCAT TCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAG GCATGCTGGGATGCGGTGGGCTCTATGACTAGTGGCGAATCCCGCTGTACAGCTGAGAGAC TCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTCTGCTATTACCGATTTTGATTCTCAAAACAATGTGTACA AAGTAAGGATTCTGATGTGTATACAGACAAAATCTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCA AGAGCAACAGTGTGTGGCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAACGCGCTTCAACAA CAGCATATTCCAGAGACACCTTCTTCCCGAGCCAGGTAAGGGCAGCTTTGGTGCCCTTCGCA GGCTGTTTCTTGTCTCAGGAATGGCCAGGTTCTGCCAGAGCTCTGGTCAATGATGTCTAAAA CTCTCTGATTTGGTGGTCTCGGCTTATCCATTGCCACAAAACCCCTGTTTACTAA
32	매트릭스들 CD25 자리_IL15_2A siL15Ra pCLS30519	GTTTATTATTCTGTCCACAGCTATTGTCTGCCATATAAAACCTTAGGCCAGGCACAGTGGCTC ACACCTGTAATCCAGCACTTTGGAAGGCGGAGGCGAGGCAGATCAAAAGTTCAGGAGTTTCGAG ACCGCCTGTGCCACATAGCAAAACCCATCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCCAGGATGG TGCGGTGTGCACTGTTTGAAGTGAGGACCAATTTTGGTGCGCTGTTACACATATGACCG TGACTTTGTTACCACTACAGGAGGAAGTAGAAGAACAAATCGTTCTGGCGTGAACAGAC TTTGAATTTTGACCTTCTCAAGTTGGCGGAGAGCTGGAGTCCAACCCAGGGCCCGGTACCGG GTCCGCCACCATGGAAGTGGACCTGGATTCTGTTCTGCTGGCTGCTGCTACAAGAGTGCACAG CGGCATTCATGCTCTCATTTTGGGCTGTTTCACTGAGGGCTTCTTAAACAGAGGCAACCTGG GTGAATGTAATAAGTGATTGAAAAAATTTGAAGATCTTATTCAATCTATGCATATTGATGCTACT TTATATACGGAAGTGTGTTTCAACCCAGTTCGAAAGTAAACAGCAATGAAGTGTCTTCTTGGGA GTTACAAGTTATTTCACTTGAGTCCGGAGATGCAAGTATTTCATGATACAGTAGAAAACTGTGATCA TCTAGCAACAAACAGTTTGTCTTCTAATGGGAATGTAACAGAAATCTGGATGCAAAAGATGTGAG GAACGGAGGAAAAAATTTAAAGAAATTTTGCAGAGTTTGTACATATTGTCCAAATGTTTCATC AACACTTCTGGAAGCGGAGCTACTAACTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAG AACCCCTGGACCTGGGACCGGCTTGCACCAATGGATTGGACGTGGATCCTGTTTCTGCTGGCA GCTGCGCAAGAGTTTACAGTATCACGTCGCCCTCCGCCCATGTCCGTGGAACACGAGACATC TGCGTCAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGAGCGGTACATTTGTAACCTGTGTTTCAAGCTTA AAGCGCGCAGCTCCAGCCTGACGAGTGGCTGTTGAACAGGCCAGAAATGTCGCCACTG ACAACCCCCAGTCTCAATGATTAGAGCCCTGCCCTGGTTTCAACAAAGGCCAGCGCCACCC TCCACAGTAAAGCAGGCGAGGGGTGACCCACAGCCAGAGAGCTCTCCCTCTGGAAGAAAG CCCGCAGCTTATCTCCAGCTCAAAACACAGCGGCGCAACAGCAGCTATTGTCCCGGGC TCCAGCTGATGCTTCAAAATCACCTTCCACAGGAACACAGAGATAAGCAGTCTAGTGTCT

		CCCACGGCACCCCTCTCAGACAACAGCCAAGAACTGGGAACCTCACAGCATCCGCTCCACC AGCCGCCAGGTGTGTATCCACAGGGCCACAGCGACCACTGAGGGCAGAGGCGCCTGCTG ACCTGCGGCGAGCTCGAGGAGAACCCCGGGCCATGGGGGAGGTGCCACCGGCCGCGCCA TGGACGGGCGCGCCTGCTGCTGTTGCTGCTTCTGGGGGTGTCCCTTGGAGGTTGCCAAGGAG GCATGCCCCACAGGGCTGTACACACACAGCGGTGAGTGTGCAAAAGCTGCAACCTGGGCGA GGGTGTGGCCAGCCTTGTGGAGCCAACAGACCGTGTGTGAGCCTGCGCTGGACAGCGTGA CGTTCTCCGAGTGTGTGAGCGGACGAGCGCTGCAAGCGCTGCACCGAGTGTGTGGGCTC CAGAGCATGTGCGGCCCGCTGCTGAGGCGCATGACGCGCTGTGCGCTGCGCTTACGGCTA CTACAGGATGAGACACTGGGCGCTGCGAGGCGTGCCCGTGTGCGAGGCGGCGCTCGGGC CTCGTGTCTCTCTGCCAGGACAAGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCCCGAGCGGACGAT TCCGACAGGCCAACACGCTGGACCGCTGCTGCGCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGCG CCAGCTCCGCGAGTGCACACGCTGGGCGGACGCGAGTGCAGGAGATCCCTGGCGTTGGA TTACACGGTCCACACCCCGAGGGCTCGGACAGCACAGCCCCAGCACCAGGAGCCTGAG GCACCTCCAGAACAAAGACCTCATAGCCAGCACGTTGGCAGGTGTGTTGACCAAGTATGGG CAGCTCCACGCCCGTGTGACCGAGGCAACACCGCAACCTCATCCCTGTCTATTGCTCCAT CCTGGCTGTGTGGTTGTGGGTCTTGTGGCTACATAGCCTTCAAGAGGTGAAAAACCAAGA ACAAGAAATTTCTGGTAAGACCGGGGAACAGACAACAGAGTCTGAAGCCCAAGTGAATCA AAGTGTCTAAATGTCGCCAGGAGACATCCGTTGTGCTTGGCTGCCCTTTTGAAGCTCTGAA GTGACATCACAGGACACGGGGCAGTGGCAACCTTGTCTCTATGCCAGCTCAGTCCCATCAGAG AGCGAGCCTACCCACTTCTAAATAGCAATTTTCGCCGTTGAAGAGGAGGGCAAAACCACTAGA ACTCTCCATCTTATTTTCATGTATATGTGTTCA
33	매트릭스들 PD1 자리_IL15_2 A_sIL15Ra pCLS30513	GACTCCCCAGACAGGCCCTGGAACCCCGCACCTTCTCCCGCCCTGCTGCTGGTGACCGAA GGGCAACAGCCACTTCACTGCGACCTTCTCAACACATCGGAGAGCTTCTGTGTAACCTG TACCGCTACGACCCAGCAACACAGCAGCAAGCTGGCGGCTTCCCCGAGGACCGCAGCGA CGCCGGCGAGGACTGCCGCTTCCGTGTACACAACTGCCAACGGGCGTGACTTCCACATAGG CGTGTGTACGGGCCCGGCGCAATGACAGCGGCACCTACCTCTGTGGGGCGGTTCTGGCGTA AACAGACTTTGAATTTGACCTTCTCAAGTTGGCGGGAGACGTGGAGTCAACCCAGGGCGCG GTACCGGCTCCGCCACCATGGACTGGACCTGGATTCTGTTCTGTGGCTGCTGCTACAAAG TGACAGCGGCGATTCATGTCTTCTATTGGGCTGTTTCACTGAGGGCTTCTTAAACAGAAAGC AAGTGTCTAAATGTAATAAGTGATTTGAAAAAATTGAAGATCTTATTCATCTATGCATATTGA TGCTACTTTATATACGGAAGTGTGTTACCCCGAGTTGCAAAATACAGCAATGAAGTGCTTTC TCTTGGAGTTACAAGTTATTCACTTGGTCCGGAGATGCAAGTATTCTATGATACAGTAGAAAA CTGATCATCTTAGCAACACAGTTTGTCTCTAATGGGAATGAACAGAACTTGGATGCAAAAG ATGTGAGGAACCTGGAGAAAAAATTAAGAAATTTTTCAGAGTTTGTACATATTGTCCAAAT GTTCAATACACTTCTGGAAGCGGAGCTACTAAGTTACGCTGCTGAGGACAGCTGGAGAGCT GGAGGAGAACCTGAGCTCGGACCGGCTCTGCAACCATGATTTGAGCTGAGACTGTTTCT CGTGCGAGCTGCCCAAGAGTTACAGATATCAGTGCCTTCCCGCATGTCCGTGGAACAGC AGACATCTGGGTCAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGAGCGGTACATTTGTAACCTGTGGTTT AAGCGTAAAGCGGACAGTCCAGCTGACGGAGTGCGTGTGAAACAGGCCAGAAATGTGCG CCACTGGACAACCCCGAGTCTCAAAATGCTATAGAGCCCTGCGCTGGTTACCAAAAGGCCAGC GCCACCCCTCCACAGTAACGACGCGAGGGGTGACCCACAGCCAGAGAGCCTCTCCCGCTCTG GAAAAGAGCCCGCAGCTTCTATCTCCAGCTCAAAACACACGCGGCCACAACAGCAGCTATTG TCCCGGGCTCCAGCTGATGCCCTTCAAAATCACCTTCCACAGGAACACAGAGATAAGCAGTCA TGAGTCTCTCCACGGCACCCCTCTCAGACAACAGCCAAGAACTGGGAACTCACAGCATCCGC CTCCACACAGCGGCCAGGTGTGTATCCACAGGGCCACAGCGACACCACTGAGGGCGAGGGCA GCCTGCTGAGCTTGGCGGAGCTCGAGGAGAACCCCGGGGCCATGGGGGCGAGTTGCCACCGG CCCGGCCATGGAAGGGCCCGGCTGCTGCTGTTGCTGCTTCTGGGGGTGTCCTTGGAGGTG CCAAAGGAGCATGCCCCACAGGCTGTACACACACAGCGGTGAGTGTGCAAGGCTGCAAC CTGGGCGAGGCTGTGGCCAGCTTGTGGAGCCAACAGACCGTGTGTGAGCCCTGCTGGA CAGCGTGAAGTTCTCCGACGTGTGTGAGCGGACCGAGCGGTGCAAGCGGTGCAACGAGTGG TGGGCTCCAGAGCATGTGCGGCGCGTGGTGGAGGCGCATGACGCGGTGTGCGGCTGCGC CTACGGCTACTACAGGATGAGACGACTGGGCGCTGCGAGGCGTGCCGCGTGTGCGAGGCGG GCTCGGGCTCGTGTCTCTGCGCAGGACAAGCAGAACCCGTGTGCGAGGAGTGCCCGGAC GGCAGTATTCCGACAGGCCAACACAGTGGACCGCTGCTGCTGCAACCGTGTGCGAGGA CACCGAGCGCAGCTCCGCGAGTGACACGCTGGGCGGACGCCAGTGCGAGGAGATCCCT GGCGGTGGATTACACGCTCCACACCCCGAGGGGCTCGGACAGCACAGCCCCAGCACCCA GGAGCTGAGGCACTCCAGAACAGACCTCATAGCCAGCAGCGTGGCAGGTGTGGTGAACCA CAGTGATGGGCGAGTCCCGAGCCGTGGTGACCCGAGGCAACCGACACCTCATCCCTGTCT ATTGCTCATCTGCTGCTGTGGTGTGTGGTCTTGTGGCTTACATAGCCTTCAAGAGGTGATC TAGAGGGCGCTTAAACCGCTGATGAGCTGCTGCTTCTAGTGTCCAGCCATCTGTT GTTTGGCCCTCCCGGTGCTTCTTGAACCTGGAAGGTGCGACTCCCACTGTCTTCTCTAAT AAATGAGGAAATGCTATGCTGCTGAGTAGGTGCTATTCTTCTGGGGGTGGGGTGGG GCAGGACAGCAAGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGATGCTGGGATCGGTTGGCT CTATGACTAGTGGCAATTCGGCGCAGTCAAGAGAGCCCTGCGGGCAGAGCTCAGGGTGACA GGTGCGGCTCGGAGGCCCGGGGCGAGGGGTGAGCTGAGCCGGTCTGGGTGGGTGTGCC CTCTGTCACAGGATCAGGAGCTCCAGGGTGTGAGGGCAGGACCCCGAGCTCCAGTCCAGG GCTCTGTCTGACCTGGGGAATGTTGACCGCATCTCTGCTCTAGCTCTGGAAGCACCC AGCCCTCTAGCTGCGCTTACCCCTGACCTGACCTCCACCTGACCCGCTCTAACCCCT GACCTTTG
34	매트릭스들 CD25	GTTTATTATTCTGTTCCACAGCTATTGTCTGCCATATAAACTTAGGCCAGGCACAGTGGCTC ACACCTGTAATCCAGCACTTTGGAAGGCCGAGGCAGGCAGATCACAAGGTGAGGAGTTGAG ACCAGCCTGGCCAACATAGCAAAACCCATCTCTACTAAAAATACAAAATTAGCCAGGCATGG

[0387]

	<p>자리_IL12a_2 A_IL12b pCLS30520</p>	<p>TGGCGTGTGCATGGTTTAGAGTGAGGACCACATTTTTTGGTGCCGTGTTACACATATGACCG TGACTTTTACACCACTACAGGAGGAAGAGTAGAAGAACAATCGGTTCTGGCGTGAAACAGAC TTTGAATTTTGAACCTTCTCAAGTTGGCGGGAGACGTGGAGTCCAAACCCAGGGCCATGTGGCC CCCTGGGTGAGCTCCCAAGCCACCCGCTCACCTGCGCGGGCCACAGGTCTGCATCCAGCGG CTCGCCCTGTGTCCCTGCAGTGCCGGCTCAGCATGTGTCCAGCGCGGAGGCTTCTCTGTGTG CTACCTGTGCTCTCTGGACACCTCAGTTTGGCCAGAAACCTCCGCTGGCCACTCCAGAAC CAGAACTTTCCTCATGCTTCAACCTCCAAACCTGCTGAGGGCCGTGAGCAACATGCTCCA GAAGGCCAGACAAACTCTAGAATTTTACCCTTGCACTCTGAAGAGATTGATCATGAAGATATCA CAAAAGATAAAACAGCACAGTGGAGGCGCTGTTTACCATTGGAATTAAACCAAGATGAGAGTTG CCTAAATTTCCAGAGAGACCTCTTTCACTAATTAATGGAGTTGCGTGGCTCCAGAAAGACCTCT TTTATGATGGCCCTGTGCCCTTAGTAGTATTTATGAAGACTTGAAGATGTACCAAGGTGGAGTTCAA GACCATGAATGCAAAAGCTTCTGATGGATCCTAAGAGGCAGATCTTTCTAGATCAAAACATGCTG GCAGTTATTGATGAGCTGATGACGGCCCTGAATTTCAACAGTGAGACTGTGCCACAAAATCCT CCCTTGAAGAACCGGATTTTTTATAAACTAAATCAAGCTCTGCATCTTCTCATGCTTTAGAA TTCCGGGACGTGACTATTGATAGAGTGATGAGCTATCTGAATGCTTCCGGAAGCGGAGCTACTAA CTTCAGCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGACCTATGTGTACCCAGCA GTGTGTCATCTCTGGTTTTCCTGGTTTTCCTGGCATCTCCCTCGTGCCCATATGGGAACCTGA AGAAAGATGTTTATGCTGAGAAATTGGATTGGATGCGGATGCCCCGAGAGAAATGGTGGTCT CACCTGTGACACCCCTGGAAGAGATGATCAACCTGGACCTGGACCCAGCAGCAGTGAAGTCTT AGGCTCTGGCAAAACCTGACCATCCAAAGTCAAGGATTTGAGATGCTGGCCAGTACACCTGT CACAAAGGAGCGAGGTTCTAAGCCATTGCTCCTGCTGCTTACAAAAAGGAAGATGGAATTT GGTCCACTGATATTTAAAGGACCAAGAAACCCAAATAAGACCTTTCTAAGATGCGAGGC CAAGAATTATCTGGACGTTTACCTGCTGGTGGCTGACGACATCAGTACTGATTTGACATTCA GTGTCAAAGCAGCAGAGGCTCTTCTGACCCCAAGGGGTGACGTGCGGAGCTGCTACACTCT CTGACAGAGAGTCAAGGGGACACAAAGGAGTATGAGTACTCAGTGGAGTGCCAGGAGGAC AGTGCTTGGCCAGCTGCTGAGGAGAGTGTGCCATTGAGGTGATGGTGGATGCCGTTTCAAA CTCAAGTATGAAAACTACACGACGCTTCTTCAAGGACATCATCAACCTGACCCACCCA AGAACTTGCAGCTGAAGCCATTAAAGATTCTCGGCAGGTGGAGGTGAGTGGGAGTACCCCT ACACCTGGAGTACTCCACATTCTACTTCTCCCTGACATTCTCGGTTCAAGTCCAGGGCAAGAG CAAGAGAGAAAAAGAGATAGAGTCTTCAAGGACAAAGCTCAGCCACCGCTATCTGCGCGCA AAATGCCAGCATTAGCGTGCAGGGCCAGGACCGCTACTATAGCTCATCTTGGAGCGAATGGGC ATCTGTGCTGCTGAGTGAGGGCAGGACAGCTGCTGACCTGGCGGACGCTGAGGAGAAC CCGGGCCCATGGGGCAGGTGCCACCGCGCGCCATGGAACGGCGCGGCTGCTGCTGTT GCTGCTCTGGGGGTGCTCCTTGGAGTGCCAAAGGAGCATGCCCAAGGCGCTGTACACAC ACAGCGGTGAGTCTGCAAGCGCTGCAACCTGGGCGAGGCTGTGGCCAGCCCTGTGGAGCC AACCAGACCGTGTGTGAGCCCTGCTGACAGCGTGACGTTTCCGACGTGGTGAGCGGAC CGAGCCGTGCAAGCCGTGACCCAGTGCGTGGGGCTCCAGAGCATGTGGCGCCGTGCGTG GAGGCCGATGACCGCTGTGCGGCTGCGCTACGGCTACTACAGGATGAGACGACTGGGGC CTGCGAGGCGTGGCGGTGTGCGAGGCGGGCTGGGGCTCGTGTCTCTGCCAGGACAAAGC AGAAACCGGTGTGCGAGGAGTGCCCGACGGCAGTATCCGACGAGGCCAACCGTGGAC CGTGCTGCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGCGCCAGCTCCGCGAGTGACACGCTG GGCGGACCGCGAGTGCGAGGAGATCCTGGCGTTTGAATTACAGGTTCCACACCCCGAGAGG GCTTGGGACAGCAGCCCGCAGCAGCCAGGAGCCTGAGGACCTTCCAGAACAGACCTCATA GCCAGCAGCGTGGCAGGTGTGTGACCAAGTGTGAGGAGCTCCAGCCCGCTGGTGACCCG AGGACACAGGAGAACCTCATCCCTGTCTATGCTCCTATCCCTGCTGTGTGTGTGGTCTT GTGGCTACATAGCTTCAAGAGGTGAAAGCCAAAGAACAGAAATTTCTGTGTAAAGCCG GGAAACAGACAAAGAGTCAAGAGCCCAAGTGAATCAAAGGTGCTAAATGGTCCGCCAGGA GACATCCGTTGTGCTGCGCTTGTGAAGCTCTGAAGTACATCAGGACACCGGGCGAG TGGCAACCTTGTCTCTATGCCAGCTCAGTCCCATCAGAGAGCGAGCTACCCACTTCTAAATA GCAATTTCCGCGTTGAAGAGGAAGGGCAAAACCACTAGAACTCTCCATCTTATTTCTCATGATAT GTGTTCTAT</p>
35	<p>매트릭스들 P D1 자리_IL12a_2 A_IL12b pCLS30511</p>	<p>GACTCCCCAGACAGGCCCTGGAACCCCCACCTTCTCCAGCCCTGCTCGTGGTGACCGAA GGGGACAACGCCACCTTCACTGCACTTCTCCAAACATCGGAGAGCTTCGTGCTAAACTGG TACCGCATGAGCCCCAGCAACCAAGCAGGACAAAGCTGGCCGCTTCCCGAGGACCGCAGCCA GCCCGCCAGGACTGCCGCTTCCGTGTACACAACTGCCCAACGGGCGTGAATCCACATGAG CGTGGTCAAGGGCCCGGCGCAATGACAGCGGCACCTACCTCTGTGGGGCCGGTTCTGGCGTGA AACAGACTTTGAATTTTGAACCTTCTCAAGTTGGCGGGAGACGTGGAGTCCAAACCCAGGGCCAT GTGGCCCTTGGGTGAGCTTCCAGCCACCGCCCTCACCTGGCGGGCCACAGGTCTGATC CAGCGGCTCGCCCTGTGCTGCTGAGTGCGCGCTCAGCATGTGTGCGAGCGCGAGCCCTCTCT CTTGTGCTACCTGCTGCTGCTGAGACACCTCAGTTTGGCCAGAAACCTCCGCTGGCCACT CCAGACCCAGGAAATGTTCCATGCTTCAACCTCCAAACCTGCTGAGGGCCGTGACCACT ATGCTCAGAAAGGCCAGCAAACTCTAGAATTTTACCCTTGCACTTCTGAAGAGATTGATCATGA AGATATCAGAAAGATAAAACAGCAGCATGGAGGCTGTTTACCATTGGAATTAACCAAGAT GAGAGTTGCTTAAATCCAGAGAGACCTTCTTCACTAATTAATGGAGTTGCTGGCTCCAGAA AGACCTCTTTATGATGGCCCTGTGCTTATGATATTTATGAAGACTTGAAGATGTACCAAGTG GAGTCTAAGACCATGAATGCAAGCTTCTGATGGATCCTAAGAGGCAGATCTTTCTAGATCAAAA CATGCTGGCAGTTATTGATGAGCTGATGACGGCCCTGAATTTCAACAGTGAGACTGTGCCACAA AAATCTCCCTTGAAGAACCGGATTTTTATAAACTAAATCAAGCTCTGCATACTTCTCATGCT TTCAAGATTCGGGCGAGTGAATTTGATAGAGTGAAGCTATCTGAATGCTTCCGGAAGCGGAG CTACTAATTTAGGCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGACCTATGTGTC ACCAGCAGTTGGTCACTCTTGGTTTTCCTGGTTTTCCTGGCATCTCCCTCGTGCCCATATGG GAACCTGAAGAAAGATGTTTATGCTGAGAAATTGGATTGGATCCGATGCCCCGGGAAATGG TGSTCTCACCTGTGACACCCCTGAAGAGATGATCACTGGACCTTGGACCAAGCAGCTG AGGCTTAGGCTCTGGCAAAACCTGACCATCAAGTCAAGAGTTGGAGATGCTGGCCAGTA</p>

		<p>CACCTGTACAAAGGAGGCGAGGTTCTAAGCCATTGCTCTGCTGCTTACAAAAAGGAAGAT GGAAATTTGGTCCACTGATATTTTAAAGGACCAAGAAAGCCAAAAATAAGACCTTTCTAAGATG CGAGGCCAAGAAATTAATTTGAGCGTTTACCTGCTGCTGGCTGACGACAAATCAGTACTGATTTG ACATTCAGTGTCAAAGCAGCAGAGGCTCTTCTGACCCCAAGGGGTGACSTGCGAGCTGCT ACACTCTTGCAGAGAGAGTCAAGGGGCAACAAAGGAGTATGATACCTCAGTGGAGTCCAG GAGGACAGTGCCTGCCAGCTGCTGAGGAGAGTCTGCCATTGAGGTCAATGGTGGATGCCGTT CACAAGCTCAAGTATGAAACTACACCAGCAGCTTCTCATCAGGACATCATCAAACTGACCC CACCCAGAACTTGACGCTGAAGCCATTAAAGAAATTCGCGAGGTGAGGTGAGTGGAGT ACCTGTGACACTGGAGTACTCCACATTCTACTTCTCCCTGACATTTCTGCTTCAAGTCCAGGG CAAGAGCAAGAGAGAAAAAGAGATAGAGTCTTACGGACAAGACCTCAGCCACGGTCACTGT CCGCAAAATGCCAGCATTAGCGTGCAGGCGCCAGGACCGCTACTATAGCTCATCTTGGAGCGA ATGGGCATCTGTCCCTGCACTGAGGGCAGAGGCGACCTGCTGACCTGCGGCGACGTCGAGG AGAAGCCCGGGGCCATGGGGGAGGTGCCACCGCGCCGCCATGGACGGGGCGCGCTGCT GCTGTTGCTGCTTCTGGGGGTGCTCCCTGGAGGTGCCAAGGAGGATGCCCCACAGGCGTGA CACACACAGGGGTGAGTGTGCAAGCGCTGCAACCTGGGGGAGGGTGTGGCCAGCGCTTGTG GAGCCAACAGACCGGTGTGTGAGCGCTGGGCTGGACAGCGTGACGTTCTCGACGTGGTGAGC GCGACCGAGCGCTGCAAGCGCTGCAACGAGTGGCTGGGGCTCCAGAGCATGTGCGCGCGT CGSTGGAGGCCGATGACCGCTGTGCGCGCTGCGCCTACCGCTACTACAGGATGAGAGACT CGGCGCTGCGAGCGGTGCCGCTGTGCGAGGCGGGCTCGGGCTCGTGTCTCTGCCAGG ACAAGCAGAACCCGTGTGCGAGGAGTGCCTGACGGCACGTATTCGACGAGGCCAACCC GTGGACCGCTGCCCTGCCCTGCAACGTGTGCGAGGACACCGAGCGCCAGCTCCGCGAGTGAC ACGCTGGGCGCAGCGCGAGTGCAGGAGATCCCTGGCGCTGGATTACACGGTCCACACCCC CAGAGGGCTCGGACAGCACAGCCCCAGCACCCAGGAGCTGAGGCACCTCCAGAACAGAC CTCATAGCCAGCAGGTGGCGAGGTGTGTGAGCCAGATGATGGGCGAGCTCCACGCCCGTGTG GACCCGAGGCGACCCAGCACACCTCATCCCTGTCTATTGCTCCATCTGGCTGCTGTGGTGT GGGTCTGTGGCTACATAGCTTCAAGAGGTGATCTAGAGGGCCGCTTAAACCCCGTGATCA GCCCTGAGTGTGCTTCTAGTTGCCAGCATCTGTTGTTTGCCTCCCGCTGCTTCTCTTGA CCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGCTCTTCTCTAATAAAATGAGGAAATGTCATGCGATGTGT GAGTAGGTGTCTATTCTATTGCGGGGTGGGGTGGGGGAGGACAGCAAGGGGAGGATTGGG AAGACAATAGCAGCATGCTGGGATGCGGTGGCTCTATGACTAGTGGCGAATTCGGCGCAG ATCAAAGAGAGCTGCGGGCAGAGCTCAGGGTGACAGSTGGCGCTCGGAGGCGCCGGGGC AGGGTGAGCTGAGCCGGTCTGGGGTGGGTGCTCCCTCTGCACAGGATCAGGAGCTCCAG GGTCTAGGGCAGGACCCCGAGCTCCAGTCCAGGGCTCTGTCTCTGACCTGGGGAATGGT GACCGGCATCTGTCTCTAGCTCTGGAAGCACCCAGCCCTAGTCTGCCCTACCCCT GACCTGACCTCCACCTGACCCGTCTAACCCTGACCTTTG</p>
36	<p>삽입된 매트릭스들 TRAC 자리_CubiCA R CD22 (60 뉴클레오타이 드들 업스트림 및 다운스트림)</p>	<p>ATGAGATCATGTCTAACCTGATCCTCTTGTCCACAGATATCCAGAACCCTGACCCCTGTTGCT GGACCTTTTCCCATGCTGCTTTTACTCTGCCAGAGTTATTATTGCTGGGTTTGAAGAAGATC CTATTAAATAAAAGAAATAAGCAGTATTATTAAAGTACCCCTGCAATTCAGGTTTCTTGTAGTGGCA GGCCAGGCTGGCGGTGAACGTTCACTGAAATCATGGCCTTTGGCCAAAGATTGATAGCTTGT GCCTGTCCCTGAGTCCCGATCCATCAGCAGCAGCTGGTTTCTAAGATGCTATTTCCCGTATAAA GCATGAGACCGTGACTTGCAGCCCCACAGAGCCCCGCCCTTGCCATCACTGGCATCTGGAC TCCAGCCTGGGTGGGGCAAGAGGGAATGAGATCATGTCTCAACCTGATCCTCTTGTCCCA TACATATCCAGTACCCCTACGAGCTGCCCGACTACGCTCCGGTGAGGGGACAGGAAGTCTTC TAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAAATCCGGGCGCCGGATCCGCTCTGCCCTCACCGCTCTG CTGCTGCCACTGGCACTGCTGCTGCACGCTGCTAGGCCGGAGGGGAGGCGAGCTGCCCTTA CAGCAACCCAGCCTGTGACGCGGAGGCGGCGGAGCGGCGGAGGGGTAGCCAGGTGCGAG CTCAGCAGAGGCGGCTGCGCTGTGGAAGCAGGACAGCACTGTCCCTGACCTGCGGCAT CAGCGCGGATTCGTGAGCTCCAACCTCGCGCTGGAATTGATCAGGCGCTCCCTCTCTCG GGGCTGTGAGTGGCTGGGAAAGACATACTACGGTCTAAGTGGTACAACGATTATGCCGTGTC TGTGAAGAGCAGAATCACAATCAACCCTGACACCTCCAAGAAATCAGTTCTCTGCGAGCTGAAT AGCGTGACACCAGAGGACACCCCGGTGATCTTGCAGGAGGAGGTGACCGGCGACCTGGGA GGATGCTTTGACATCTGGGGCCAGGGCACAAATGGTGACCGTGAGCTCCGAGGCGCGCGAT CTGGCGGAGGAGGAAGTGGGGCGGGCGGAGTGATATCCAGATGACACAGTCCCATCTCTCT CTGAGCGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGACAATCACCTGTAGGGCTCCAGACCATCTGGTCT TACCTGAACGTGATCAGCAGAGGCCCGGCAAGGCCCTAATCTGCTGATCTACGCGAGCAAGC TCCCTGACAGCGGAGTGCCATCCAGATTCTCTGGCAGGGGCTCCGGCAGAGACTTCAACCCTG ACCATCTCTAGCCTGCAGGCGGAGGACTTCGCCACCTACTATTGCCAGCAGTCTTATAGCATCC CCAGACATTTGGCCAGGGCACCAAGCTGGAGATCAAGTGGATCCCGGAAGCGGAGGGGGA GGCAGCTGCCCTACAGCAACCCAGCCTGTGCGAGCGGAGGCGGCGGCGAGCGAGCTGCCCA CCAGGGACCTTCTCCAAAGTGTGCAACCACTGAGCCAGCCAAAGCCACCAACCAAGCCCT GTCTTATTCCAATCTTCCCTGTGTGCTCCCAACCAACCCCGCTCCAAGGCCCTTACCC CGCAACAACTATTGCCCTCCAGCCACTCTCACTCGCGCTGAGGCTGTGCGGCCGCTGCTGG AGCGCGAGTGACATCAAGGGGCTCGATTTCGCTGCGATATTTACATCTGGGCAACCCCTCGC CGGCACTGCGGGGTGCTTCTCTCTCCCTGGTGATTACCTGTATTGCGAGCGGGGCGGGA GAAGCTCTCTACATTTTAAAGCAGCTTTCTATGCGGCCAGTGACAGCAACCAAGAGGAGAT GGGTGTTCTGAGATTCCTGAGGAAGAGGAAGGCGGGTGCAGCTGAGAGTGAAGTTCTCT CAGGAGCGAGATGCCCGGCTATCAACAGGGCCAGAACCGCTCTACAACGAGCTTAACCT CGGGAGGCGCAAGAAATACGAGCTGTGGTAAGAAAGGGGGCGGGACCCCGAGATGGGA GGAAAGCCCGGAGGAAGAACCTCAGGAGGGCTGTACAACGAGCTGCAAGAGGATAAGAT GGCGAGGCTACTCAGAGATCGGATGAAGGGGAGCGGCGCGCGGGAGGGGACAGAT GGGCTCTACAGGGGCTGAGCACAGCCACAAAGGACACATACGACGCTTGCACATGCAAGG CCTTCCACCCCGGAATAGTCTAGAGGGCCGTTTAAACCCGCTGATCAGCTCGACTGTGCC TTCTAGTTGCCAGCATCTGTTGTTTGCCTTCCCGCTGCTTCTTGAACCTGGAAGGTGCC ACTCGCACTGTCTTCTCTAATAAAATGAGGAAATGATCGCATGTCTGAGTAGGTGCTATTG</p>

		TATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGC ATGCTGGGGATCGCGTGGGCTCTAGCTAGTGGCGAATTCGCCGTGTACAGCTGAGAGACTC TAAATCGAGTGACAAGTCTGTCTGGCTATTCAACGATTTTGATTCTCAAAACAAATGTGTGACAAA GTAAGGATTTCTGATGTATATCAGACACAAACCTGTCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCAAG AGCAACAGTCTGTGGCTGGAGGACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAAAGGCTTCAACAA GCATTATTCAGAAAGACACCTTCTCCCAAGCCAGTAAGGGCAGCTTTGGTGGCTTCGAG CCTGTTTCTGCTTCAGAAATGGCCAGGTTCTGCCACAGAGCTGTGCTCAATGATGTCTAAAC TCCTCTGATTGGTGGTCTCGGCTTATCCATTGCCACCAAAACCTCTTTTACTAGAAACAGT GAGCCTGTTCTGGCAGTCCAGGAATGACACGGGAAAAAGCAGATGAAGA
37	삽입된 매트릭스들 CD25 자리_IL15_2A _sIL15Ra (60 뉴클레오타이 드들 업스트림 및 다운스트림)	AGTGTGGCTAGAAACCAAGTGCTTTACTGCATGCACATCATTTAGCAGAGTTAGTGTGCTTTA TTATTCCTGTTCCACAGCTATTGTCTGCCATATAAAACCTTAGGCCAGGCACAGTGGCTCACACC TGTAAATCCAGCATTGGAAAGGCCAGGCAGGCAGATCACAAAGTCAGGATTCGAGACCAG CCTGGCCAAACATAGCAAAACCCATCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCCAGGCATGGTGGCG TGTGCACCTGGTTTAGAGTGAGGACCACATTTTTTGGTGGCGTGTACACATATGACCCTGACTT TGTTACACCACCTACAGGAGGAAGTAGAAGAACAACTCGGTTCTGGCGTGAACAGACTTTGAA TTTTGACCTTCTCAAGTTGGCGGAGAGCTGGAGTCCAAACCCAGGGCCCGTACCGGGTCCGC CACCATGAGCTGACCTGGATTCTGTTCTCGTGGCTGCTGCTACAAAGTGCACAGCGGCAT TCATGTCTCATTTTGGGCTGTTTCAGTGCAGGGCTTCTTAAACAGAAAGCCAACTGGGTGAAT GTAATAAGTGATTTGAAAAAATGAAGATCTATTCAATCTATGCATATTGATGCTACTTTATATA CGGAAAGTGATGTTCAACCCAGTTGCAAGTAACAGCAATGAAGTGTCTTCTTTGGAGTTACA AGTTATTTACCTTGAGTCCGAGATGCAAGTATTATCATGATACAGTAGAAAAATCTGATCATCTAG CAACCAACAGTTTGCTTCTAATGGGAATGTAACAGAACTCGGATGCAAGAAATGTAGGAACCT GGAGGAAAAAATATTAAGAAATTTTGCAGAGTTTGTACATATTGTCCAAATGTTTCATCAACAC TTCTGGAAGCGGAGCTACTAATCTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACC TGGACCTGGGACCGGCTGTGCAACCATGGATTGGACGTGGATCTGTTTCTCGTGGCAGCTGC CAACAGATTCACAGTATCACGTGCCCTCCCCCATGTCCGTGGAACACGCAGACATCTGGGT CAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTACATTTGAACCTGTGTTTCAAGCGTAAAGCC GGCAGCTCAGCCTGACGGAGTGGTGGTTGAACAAGGCCACGAATGTCGCCCTCAGGCAAC CCCCAGTCTCAAAATGCATTAGAGACCTGCCCTGGTTCCAAAGGCCAGCGCCACCTCCAC AGTAACGAGCGGAGGGTGACCCACAGCCAGAGAGCCTTCCCTTCTGGAAGAGCGCG CAGCTTCATCTCCAGCTCAAAACACAGCGGCCCAACAGCAGCTATTGTCGGGGCTGCC AGCTGATGGCTTCAAAATCACCTTCCACAGGAACACAGAGATAAGCAGTCAATGAGTCTGCCA CGGACCCCTCTCAGACACAGCCAGAACTGGGAACCTCAGACATCCGCTCCACAGAGCC CCAGCTGTGATCATCAGCGCCACAGCACTGACAGCACTGAGGGAGAGCGACCTGCTGCTG CGCGCAGCTCGAGGAGAACCCGGGCCATGGGGCAGGTGCCACCGCCCGCCCATGGA CGGGCCCGCTGCTGCTGTTGCTGCTTCTGGGGTGTCCCTTGGAGGTGCCAAGGAGGCAT GCCCAACAGCCTGTACACACACAGCGGTGAGTGTGCAAAAGCTGCAACCTGGGCGAGGGT GTGGCCCAAGCTTGTGGAGCCAAACAGACCGTGTGTGAGCCCTGCCTGGACAGCGTGAAGT TCTCCAGCTGGTGGAGCGACCGAGCCGTGCAAGCGTGCACCGAGTGGTGGGGCTCCAGA GCATCTCGGCGCGCTGGTGGAGGCCGATGACCGCTGTGCCGTGCGCTACCGCTACTAC CAGGATGAGACGACTGGGCGCTGCGAGGCGTGGCGCTGTGCGAGGCGGGCTCGGGCTCG TGTCTCTGCCAGGACAGAGAACCCGTGTGCGAGGAGTGCCCCGACGGCACGTATTCCG ACGAGGCCAACACGTGGACCCGTGCCCTGCCCTGACCGTGTGCGAGGACACCGAGCGCCAG CTCGCGAGTGCACACCTGGGCGCAGCGCGAGTGCAGGAGATCCCTGGCCGTTGGATTAC ACGGTGCACACCCCGAGAGGGCTCGGACAGCACAGCCCCAGCAGCCAGGAGCTGAGGAC CTCCAGAACAGACCTCATAGCCAGCAGCGTGGCAGGTGTGGTGAACACAGTATGGGAGCT CCAGCGCTGTGATCAGCGGACACAGCACTGAGGGAGAGCGACCTGCTGCTATGCTCATCTGG CTGCTGTGGTTGTGGGTCTTGTGGCTACATAGCCTTCAAGAGGTGAAAAACCAAGAAAG AATTTCTTGGTGAAGAACCGGGAAACAGACAGAAAGTCAAGAGCCCAAGTGAATCAAGGT GCTAAATGGTGCAGGAGACATCCGTTGTGCTTGCCTGCTTTTGAAGCTCTGAAGTCACA TCACAGGACACGGGCGAGTGGCAACCTTGTCTCTATGCCAGCTCAGTCCCATCAGAGAGCGAG CGCTACCCACTTCTAAATAGCAATTTGCCGTTGAAGAGGAAGGGCAAAACCACTAGAATCTC CATCTTATTTATGATATGTGTTTCAATGAAGCATGAATGGTATGGAACCTCTCCACCCCTATAT GTAGTATAAGAAAAAGTAGGT
38	삽입된 매트릭스들 P D1 자리_IL15_2A _sIL15Ra (60 뉴클레오타이 드들 업스트림 및 다운스트림)	GGTGGCCGGGAGGCTTTGTGGGGCCACCCAGCCCTTCCCTACCTCTCTCATCTCTCAGAC TCCCCAGACAGGCCCTGGAACCCCCCACCTTCTCCCAAGCCCTGCTCGTGGTGACCGAAGG GGACAACGCCACCTTCACTGCAGCTTCTCCAACACATCGGAGAGCTTCGTGCTAACTGGTAC CGCATGAGCCCCAGCAACAGACGGACAAGCTGGCCGCTTCCCGAGGACCGCAGCCAGCC CGGCCAGGACTGCCGCTTCCGTGTACACAACCTGCCAACGGGCGTGACTTCCACATGAGCGT GGTCAGGGCCCGGCGCAATGACAGCGGCACCTACCTCTGTGGGGCCGGTCTGGCGGTGAAAC AGACTTTGAAATTTGACCTTCTCAAGTTGGCGGGAGACGTGGAGTCCAAACCCAGGGCCCGGTA CCGGGTCCCGCACCATGGACTGGACTGGATTCTGTCTCTGCTGGCTGCTGCTCAAGAGTGC ACAGCGGATTCATGCTTCTATTTGGGCTTCTTCAAGTGCAGGCGCTTCTAAACAGGAAGCA CTGGGTGAATGTAATAGTGATTTGAAAAAATGAAGATCTTATCAATCTATGCATATTGATGC TACTTTATATACGAAAGTGATGTTACCCCAAGTTGCAAGATAACAGCAATGAAGTGTCTTCTCT TGGAGTTACAGTTATTTCACTTGAAGTCCGAGATGCAAGTATTATGATACAGTAGAAAACTG ATCATCTAGCAAAACAGCTTTGTCTTCTAATGGGAATGAACAGAACTGGATGCAAAAGATG TGAGGAACCTGGAGGAAAAAATATTAAGAAATTTTGCAGAGTTTGTACATATTGTCCAAATGTT CATCAACACTTGTGGAAGCGGAGCTACTAATTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGA GGAGAACCTGGACCTGGGACCGGCTCTGCAACCATGGATTGGACGTGGATCCTGTTTCTCGT GGCAGCTGCCACAAGATTCACAGTATCAGTGGCCCTCCCCCATGTCCGTGGAACACGCAGA CATCTGGGTCAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTACATTTGAACCTGCGTTTCAAG

		CGTAAAGCCGGCAGCTCCAGCCTGACGGAGTGCCTGTTGAACAAGGCCACGAATGTCGCCCA CTGGACAAACCCCAAGTCTCAAATGCAATAGAGACCCCTGCCCTGGTTACCAAAGGCCACGGCC ACCCTTCACAGTAACGACGGCAGGGGTGACCCACAGCCAGAGAGCCTCTCCCTTCTGGAAA AGAGCCCGCAGCTTCAATCTCCCAAGCTCAAACACAGCGGCCACACAGCAGCTATTGTCCC GGGCTCCACAGCTGATGCTTCAAATCACCTTCACAGGAAACACAGAGATAAGCAGTGATGAG TCTCCACGGCAGCCCTCTCAGACAAACGCAAGAACTGGGAACCTCAGACATCCGCTCC CACACCGCCAGGTGTGTATCCACAGGGCCACAGCGACACCACTGAGGGCAGAGGACGCT GCTGACCTCGGGGACGCTGAGGAGAACCCGGGCCATGGGGCAGGTGCCACCGGCCG GCCATGACGGGCCGCGCTGCTGCTGTTGCTGCTTCTGGGGGTGCTCCCTTGGAGGTGCCAA GGAGGCATGCCACAGGCTGTACACACAGCGGTGAGTGTGCAAGGCTGCAACCTGG CGAGGGGTGGGCCAGCCTGTGGAGCCAACAGACCGTGTGTGAGCCCTGCCTGGACAGC GTGACGTTCTCCGACGTGGTGAGCGCAGCCGAGCCGTGCAAGCCGTGCACCGAGTGCCTGGG GCTCCAGAGCATGTCCGGCCGCTGCGTGGAGGCCGATGACGCCGTGTGCCGCTGCGCCTACG GCTACTACAGGATGAGACGACTGGGCGCTGCGAGGCGTCCCGCTGTGCGAGGCGGGCTC GGGCTCGTGTCTCCTGCCAGGACAGCAGAACCCGTTGCGGAGGAGTGCCCGGACGGCA CGTATTCCGACGAGGGCAACACAGTGGACCCGTGCCCTGCCCTGCAACGCTGTGCGAGGACAC GAGCGCAGAGCTCCGAGTGCACACGCTGGGCGGAGGCGAGTGGGAGGATCCCTGGCC GTTGATTAACAGGTCCACACCCCAAGAGGCTCGGACAGCACAGCCCCAGCACCCAGAGAG CCTGAGGACCTCCAGAACAGACCTCATAGCCAGCACGTTGGCAGGTGTGGTACCCAGTG ATGGGCGAGCTCCAGCCCGTGGTGACCCGAGGCAACCCGACACCTCATCCCTGTCTATTGC TCCATCTGGCTGCTGTGTTGTGGTCTTGTGGCTACATAGCCTTCAAGAGGTGATCTAGAG GGCCCGTTTAAACCCGCTGATCAGCCTGCACTGTGCCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTG CCCTCCCCCGTGCCTTCTTGAACCTGGAAGGTGCCACTCCACTGTCTTCTTAATAAAT GAGGAATGTCATCGCATTTGTGAGTAGGTGTCTATTCTTGGGGGTGGGTGGGGCAG GACACGAAGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGATGCGGTGGCTCTAT GACTAGTGGCGAAATTCGGCGCAGATCAAAGAGAGCTGCGGGCAGAGCTCAGGGTGACAGGT CGCGCTCGGAGGCCCCGGGGCAGGGGTGAGCTGAGCCGGTCTCGGGGTGGGTGTCCTC CTGACAGAGTACGAGCTCCAGGCTGTAGGGCAGGGACCCCGCAGCTCAGTCCAGGGCT CTGTCTGACCTGGGGAATGTGACCGGCACTCTGTCTTACGCTGAGCTGGAAGACCCCGC CCCTCTAGTCTGCCCTCACCCCTGACCTGACCCCTGACCCGCTCTAACCCCTGAC CTTTGTGCCCTTCCAGAGAGAGGGCAGAGTGCCACAGCCACCCAGCCCTCACCCAGG CC
39	삽입된 매트릭스들 CD25 자리_IL12a_2 A_IL12b (60 뉴클레오타이 드들 업스트림 및 다운스트림)	AGTGTGGCTAGAAACCAAGTGCTTTACTGCATGCACATCAATTAGCACAGTTAGTTGCTTTA TTATTCTGTTCCACAGCTATTGTCTGCCATATAAAACCTTAGGCCAGGCACAGTGGCTCACACC TGAATCCAGCACCTTTGGAAGCCGAGGCAGGCAGATCACAAGTTCAGGAGTTCCAGACCCAG CCTGGCCACATAGCAAAACCCCTCTCTACTAAATAACAAATATAGCCAGGCATGGTGGCG TGTGCACTGGTTTAGAGTGAGGACCACTTTTTTGGTGCCGTGTTACACATATGACCGTGA TGTACACCACTACAGGAGGAAGAGTAGAAGAACCAATCGGTTCTGGCGTGAACAGACTTTGAA TTTTGACCTTCTCAAGTTGGCGGGAGACGTGGAGTCCAAACCCAGGGCCCATGTGGCCCGCTGG GTACGCTCCAGCCACCCGCCCTCACTGCGCGGCCACAGGTCTGCATCCAGCGGCTCGCC CTGTGCTCCTGCACTGCCGGCTCAGCATGTGTCCAGCGCGCAGGCTCCTCTTGTGGCTACCC TGGTCTCCTGGACCACTCAGTTTGGCCAGAAACCTCCCGCTGGCCACTCCAGACCCAGGAA TGTTCCTATGCTTCCACACTCCAAACCTGCTGAGGGCGCTGAGCAACATGCTCCAGAAAG CCAGACAACTCTAGAATTTTACCCCTGCACTCTGAAGAGATTGATCATGAAGATATCACAAA GATAAAACAGCAGCAGTGGAGGCTGTTTACCATTGGAATTAACCAAGATGAGAGTTGCCATA ATTCCAGAGACCTCTTTCATACTAATGGAGTTGCCCTCCAGAAAGACCTCTTTTATG ATGGCCCTGTGCTTAGTAGTATTATGAAGACTTGAAGATGTACCAAGTGGAGTTCAAGACCA TGAATGCAAGCTTCTGATGATCCTAAGAGGCAGATCTTTCTAGATCAAAACATGCTGGCAGTT ATTGATGAGTGTGACAGGCCCTGAATTTCAACAGTGAAGCTGTGCCACAAAAATCCTCCCTTG AAGAACCGGATTTTATAAACTAAATCAAGCTCTGCATCTTCTCATGCTTTCAGAAATTCGGG CAGTGACTATTGATAGAGTGATGAGCTATCTGAATGCTTCCGGAAGCGGAGCTACTAACTTCAG CCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGACCTATGTGTACCCAGCAGTTGGT CATCTCTTGGTTTCCCTGGTTTCTGCGCATGCTCCCTCGTGGCCATATGGGAAGTGAAGAAA GATGTTTATGTGTGAATTTGATTCGATCCGATGCCCTGGAGAAATGCTGGTCTCACT GTGACACCCCTGAAGAAATGATGATCACTGACCTTGGACAGAGCAGTGAAGTCTTAGGCT CTGGCAAAACCTGACCATCAAAGTCAAAGAGTTTGGAGATGCTGGCCAGTACACCTGTACAAA AGGAGGCGAGGTTTAAAGCCATTGCTCCTGCTGCTTCAAAAAGGAAGATGGAATTTGGTCC ACTGATATTTAAAGGACCAAGAAACCCAAAAATAAGACCTTCTAAGATGCGAGGCCAAGAA TTATTCTGGACGTTTACCTGCTGGTGGCTGACGACAATCAGTACTGATTGACATTCAGTGCA AAAGCAGCAGAGGCTCTTCTGACCCCAAGGGGTGACGTGCGGAGCTGCTACACTCTCTGCAG AGAGAGTCAGAGGGGACAACAAGGAGTATGAGTACTCAGTGGAGTGCCAGGAGGACAGTGCC TGCCAGCTGCTGAGGAGAGTCTGCCATTGAGGTCACTGGTGGATGCCGTTCAAAAGCTCAAG TATGAAACTACACAGCAGCTTCTCATCAGGGACATCATCAACCTGACCCACCCAAAGAACTT GCAGCTGAAGCCATTAAAGAATTCTCGGCAGGTGGAGGTGACGTGGGAGTACCTTGACACCTG GAGTACTCCACATTCCTACTTCTCCTGACATTTCTGCTTCAAGGTCCAGGGCAAGAGCAAGAGA GAAAGAAAGATAGAGTCTTCAAGCAGAGACCTGAGCCAGGCTCATCTCCGCAAAATGCCA GCATTACGCTGCGGGCCAGGACCGCTACTATAGCTCATCTTGGAGCAATGGGCACTCTGTGC CCTGCACTGAGGGCAGAGGACGCTGCTGACCTGCGGCGACGTGAGGAGAACCCTGGGCG CATGGGGCAGGTGCCACCGGCCGCCCATGGACGGGCGCGCTGCTGCTGTTGCTGCTTC TGGGGGTGCTTGGAGGTGCCAAGGAGGATGCCACAGGCTGTACACACAGCGGT GAGTGCTGCAAGGCTGCAACCTGGGCGAGGGTGTGGCCAGCCTTGTGAGCCAAACAGAC CGTGTGTGAGCCCTGCTGGACAGCGTGACGTTTCCGACGTGTTGAGCGGACCGGAGCCG GCAAGCGTGCACCGAGTGCCTGGGGCTCCAGAGCATGTCGGCGCGCTGCTGAGGAGCCG TGACCGCGTGTGCCGCTGCGCTTACGGCTACTACAGGATGAGACGACTGGGCGCTGCGAGG

		CGTGCCGCGTGTGCGAGGCGGGCTCGGCCCTCGTGTCTCTGCCAGGACAAGCAGAACACC GTGTGCGAGGAGTGGCCCGGACGCGACGATATCCGACGAGGCGCAACACGCTGGAGCCCGTGCCCT GCCCTGTCACCGTGTGCGAGGACACCGAGCGCCAGCTCCGCGAGTGCACACGCTGGGCCGAC GCCGAGTGGAGGAGATCCCTGGCCGTTGGATTACACCGTCCACACCCCCAGAGGCGTGGGA CAGCAGACCCCGACACCGAGGAGCTGAGGACCTCCAGAACAGACCTCATAGCCAGCA CGGTGCGAGGTGTGGTGACCCAGTGAATGGCAGCTCCACGCCGTGGTGACCCGAGGACCC ACCGACAACCTCATCCCTGTCTATTGCTCCATCTGGCTGTGTGGTGTGGGTCTTGTGGCCT ACATAGCCTTCAAGAGGTGAAAAACCAAAAGAACAAAGAAATTTCTTGGTAAGAAGCCGGGAACAG ACAAACAGAGTCATGAAGCCCAAGTAAATCAAGGTGCTAAATGGTCGCCAGGAGACATCC GTTGTGCTTGCCTGCGTTTTGGAAGCTCTGAAGTCACATCAGAGACACGGGGCAGTGGCAAC CTTGTCTCTATGCCAGCTCAGTCCCATCAGAGAGCGAGCGCTACCCACTCTAAATAGCAATTT CGCCGTGAAGAGGAAGGGCAAAACCACTAGAATCTCCATCTTTATCATGTATATGTGTTCA TGAATGATGTAAGCACTCTCCACCCCTATATGTAGTATAAAGAAAAGTAGGTT
40	삽입된 매트릭스들 PD1 자리 IL12a_2 A IL12b (60 뉴클레오타이 드들 업스트림 및 다운스트림)	GGTGGCCGGGGAGGCTTTGTGGGGCCACCCAGCCCTTCTCCACCTCTCTCCATCTCTCAGAC TCCCCAGACAGGCCCTGGAAACCCCCCACTTCTCCCCAGCCCTGCTGCTGGTGACCGAAGG GGACAACGCCACCTTCACTGCACTTCTCCAAACACATCGGAGAGCTGCTGCTAACTGGTAC CGCATGAGCCCGAGCAACAGACGAGCAAGCTGGCCGCTTCCCGGAGGACCGGACGCGAGCC CGGCGCAGGACTGCGGCTTCCGTGTCACACAACCTGCCAACGGGCGTGACTTGCACATGAGCGT GGTCAGGGCCCGGCGCAATGACAGCGGCACTTACTCTGTGGGGCCGCTTCTGGCGTGAAC AGACTTTGAATTTTGAATTTCTCAAGTTGGCGGAGACGTGGAGTCCAAACAGGCCCATGT GGCCCGCTGGGTGAGCTCCGAGGACCCCTCAGCTGCGCGGGCCAGGCTTGCATCCA CGGCTCGCCCTGTGTCCCTGCACTGCGGCTCAGCATGTGTCCAGCGCGCAGCTCCTCCTT GTGGCTACCTGGTCTCTCGGACCACTCAGTTTGGCCAGAAACCTCCCGTGGCCACTCCA GACCCAGGAATGTTCCCATGCTTCACTCCCAAACTGCTGAGGGCCGTGACCAACATG CTCCAGAGGCGCAGACAACTCTAGAATTTTACCCTTGCACTTCTGAAGAGATTGATCATGAAGA TATCACAAAGATAAAACAGCACAGTGGAGGCCGTTTACCATTGGAATTAACCAAGAATGAG AGTTCCTAAATTCAGAGAGACCTCTTTCATAAATTAATGGGAGTTGCCTGGCCCTCCAGAAAG CCTCTTTTATGATGGCCCTGTGCTTATAGTATTTTATGAAGACTGAAGATGTACAGGTTGGAG TTCAGACCATGAATGCAAGCTTCTGATGGATCCTAAGAGGCGAGATCTTCTAGATCAAAACAT GCTGGCAGTTTATGATGAGCTGATGCAAGGCCGTAATTTCAACAGTGAGACTGTGCCACAAAA TCTCCTCTGAAAGAACCGGATTTTATAAACTAAATCAAGCTCTGCATCTTCTCATGCTTTC AGAAATTCGGCGAGTGACTATTGATAGAGTGATGAGCTATCTGAATGCTTCCGGAAGCGGAGCTA CTAACTTCAGCTCTGAAGAGAGCTGGAGACCTGGAGAGAACCTGGACATATGTGTCAAC AGCAGTTGGTCATCTCTGGTTTCCCTGGTTTCTGGCACTCCCTCTGTGGCCATATGGGAA CTGAAGAAAGATGTTTATGCTGAGAATTGATTGTTATCCGATGCCCTGGAGAAATGGTGG TCTCCTCCTGTGACACCCCTGAAGAGATGGTATCACCTGGACCTTGGACAGAGCAGTGAGG TCTTAGGCTCTGGCAAAACCTGACCATCCAAGTCAAGAGTTTGGAGATGCTGGCCAGTACAC CTGTCCACAAAGGAGGCGAGGTTCTAAGCCATTCGCTCCTGCTGCTTCAACAAAGGAGATGGA ATTTGGTCCACTGATATTTTAAAGGACCAAGAAAGCCAAATAAGACCTTTCTAAGATGCGA GGCCAGAAATTTCTGGAGCTTTCACCTGCTGGTGGCTGACGACATCAGTACTGATTTGACA TTACATGTCAAAAGCAGCAGAGGCTCTTCTGACCCCAAGGGGTGACGTGCGGAGCTGCTACA CTCTCTGCAGAGAGGTCAGAGGGGCAACAAAGAGTATGAGTACTCAGTGAGGTGCCAGGAG GACATGTGCTGCCAGCTGTGAGGAGAGTCTGCCATTGAGGTATGGTGGATGCGGTTCCAC AAGCTCAAGATGAAACCTACACAGCAGCTTCTTCATCAGGGACATCATCAACCTGACCCAC CCAAGACCTTGCAGCTGAAGCATTAAGAAATTCGCGAGGTGGAGGTCAAGCTGGAGGTACCC CTGACACCTGGAGTACTCCACATCTCTACTTCTCCCTGACATCTGCGTTCAAGTCCAGGGCAA GAGCAAGAGAGAAAGAAAGATAGAGTCTTCAAGGACAAGACCTCAGCCACGCTCATCTCCCG CAAAATGCCCAGCATTAGCGTGGGGCCAGGACCGCTACTATAGCTCATCTTGGAGCGAATG GGCATCTGTGCCCTGCACTGAGGGCAGAGGACGCTGCTGACCTGCGGCGACCTGAGGAGAG ACCCCGGGCCCATGGGGCAGGTGCCACCGGCGCGCATGGACGGGCGCGCCTGCTGCT GTTGCTGCTTCTGGGGGTGCTCCCTTGGAGGTGCCAAGGAGGACGCCCCACAGGCCCTGTACAC ACACAGCGGTGAGTGTGCAAAAGCTGCAACCTGGGGCAGGGGTGGGCCAGCCTTGTGGAG CCAACAGACCGGTGTGTGAGCCCTGCTGGACAGCGTGACGTTCTCCGACGTGGTGAGCGCG ACCGAGCCGTGCAAGCCGTGCAAGGAGTGTGCGTGGGGCTCCAGAGCATGTCGGCGCCTGTGCT GGAGGCCGATGACGCGCTGTGCCCTGCGCCTACGGCTACTACCGAGATGAGCAGCTGGGC GCTGCGAGGCGTGGCGGTGTGCGAGGCGGGCTCGGGCTCTGTGTCTCTGCGAGGACAAG CAGACACCGTGTGCGAGGAGTGGCCGACGCGACGATTCGAGGAGGCGCAACACGCTGGA CCCGTGCCTGCTGCAACCTGTGCGAGGACACGAGCCACGCTCCGAGTGGAGTGCACACGCT GGGCGCAGCGCGAGTGGCAGGAGATCCCTGGCCGTGGATTACACGCTCCACACCCAGAG GGCTCGGACAGCACAGCCCGCAGCACCCAGGAGCCTGAGGCACTCCAGAACAAAGCCCTCAT AGCCAGCACGTTGGCAGGTGTGGTGACCAAGTATGGGCACTCCAGGCCGTGGTGACCC GAGGACACCCGACAACTCATCCCTGTCTATTGCTCCATCTGGCTGCTGTTGTGGGTCT TGTGGCTTACATAGCCTTCAAGAGGTGATCTAGAGGGCCGTTTAAACCCGCTGATCAGCCTC GACTGTGCTTCTAGTGGCAGCCATCTGTTGTTGGCCCTCCCGCTGCTTCTTGAACCTG GAAGTGGCACTCCCACTGCTCTTCTAATAAAATGAGGAAATGCATCGATTGTCTGAGTA GGTGTCTATTCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGAC AATAGAGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGACTAGTGGCGAATTCGGCGCAGATCAA AGAGAGCCTGCGGGCAGAGCTCAGGCTGACAGGTGCGGCCCTCGGAGGCGCCGGGGCAGGGG TGAGCTGAGCCGCTCTGGGGTGGGTGTCCTCCTGCAAGGATCAGGAGCTCCAGGGTCTG TAGGGCAGGGACCCCGAGCTCAAGTCCAGGGCTGTGCTGACCTGGGAAATGGTGGCG GCATCTGTGCTCTAGCTGTGAAGCACCCAGCCCTTATGCTGCGCTCAGCCCTGACCT GACCTCCACCTGACCCGCTCTAACCCCTGACCTTTGTGCCCTCCAGAGAGAAGGGCAGA AGTGCCACAGCCACCCAGCCCTCAGCCAGGCC

[0392]

41	업스트림 TRAC 자리 폴리뉴클레오타이드 서열	ATGAGATCATGTCCTAACCTGATCCTCTTGTCCTCCACAGATATCCAGAACCTGACCCTG
42	다운스트림 TRAC 자리 폴리뉴클레오타이드 서열	GAAACAGTGAGCCTTGTTCTGGCAGTCCAGAGAATGACACGGGAAAAAGCAGATGAAGA
43	업스트림 CD25 자리 폴리뉴클레오타이드 서열	AGTGCTGGCTAGAAACCAAGTGCTTTACTGCATGCACATCATTTAGCACAGTTAGTTGCT
44	다운스트림 CD25 자리 폴리뉴클레오타이드 서열	GAATGGTATGGAACCTCTCCACCCTATATGTAGTATAAAGAAAAGTAGGTT
45	업스트림 PD1 자리 폴리뉴클레오타이드 서열	GGTGGCCGGGGAGGCTTTGTGGGGCCACCCAGCCCTTCCTCACCTCTCTCCATCTCTCA
46	다운스트림 PD1 자리 폴리뉴클레오타이드 서열	TGCCCTTCCAGAGAGAAGGGCAGAAGTGCCACAGCCCACCCAGCCCTCACCCAGGCC
47	IL-12a 폴리뉴클레오타이드	ATGTGGCCCCCTGGGTCAGCCTCCAGCCACCGCCCTCACCTGCCGCGGCCACAGGTCTGCATCCAGCGGCTCGCCCTGTGTCCCTGCAGTGCCGGCTCAGCATGTGTCCA GCGCGCAGCCTCCTCCTTGTTGGCTACCTGTCTCCTGGACACCTCAGTTTGGC CAGAAACCTCCCGTGGCCACTCCAGACCCAGGAATGTTCCCATGCCTTCACCACT CCCAAAACCTGCTGAGGGCCGTCAGCAACATGCTCCAGAAGGCCAGACAACTCTA GAATTTTACCCTTGCACTTCTGAAGAGATTGATCATGAAGATATCAGAAAGATAAAA CCAGCAGTGGAGGCTGTTTACCATTGGAATTAACCAAGAATGAGAGTTGCCTAA ATTCCAGAGAGACCTCTTTCATACTAATGGGAGTTGCCTGGCTCCAGAAAGACCT CTTTTATGATGGCCCTGTGCCTTAGTAGTATTATGAAGACTTGAAGATGTACAGGT GGAGTTCAAGACCATGAATGCAAAGCTTCTGATGGATCCTAAGAGGCAGATCTTTCT AGATCAAAACATGCTGGCAGTTATTGATGAGCTGATGAGGCCCTGAATTTCAACAG TGAGACTGTGCCACAAAAATCCTCCCTTGAAGAACCAGGATTTTATAAACTAAATC AAGCTCTGCATACTTCTTCATGCTTTCAGAATTCGGGCAGTGACTATTGATAGAGTGA TGAGCTATCTGAATGCTTCC
48	IL12b 폴리뉴클레오타이드	ATGTGTCACAGCAGTTGGTCATCTCTTGGTTTTCCCTGGTTTTCTGGCATCTCCCC TCGTGGCCATATGGGAACGAAGAAAGATGTTTATGTCGTAGAATTGGATTGGTATC CGGATGCCCTGGAGAAATGGTGGTCTCACCTGTGACACCCCTGAAGAGATGGT ATCACCTGGACCTTGGACCAGAGCAGTGAGGTCTTAGGCTCTGGCAAAACCTGAC CATCCAAGTCAAGAGTTTGGAGATGCTGGCCAGTACACCTGTCAAAAGGAGGCG AGGTTCTAAGCCATTGCTCCTGCTGCTTCAAAAAAGGAAGATGGAAATTTGGTCCA CTGATATTTAAAGGACCAGAAAGAACCCAAAAAAGACCTTTCTAAGATGCGAGG CCAAGAATTTCTGGACGTTTACCTGCTGGTGGCTGACGACAATCAGTACTGATT TGACATTAGTGTCAAAAGCAGCAGAGGCTCTTCTGACCCCAAGGGGTGACGTGC GGAGCTGTACACTCTCTGCAGAGAGAGTCAAGGGGACAACAAGGAGTATGAGTA CTCAGTGGAGTGCCAGGAGGACAGTGCCTGCCAGCTGCTGAGGAGAGTCTGCCC ATTGAGGTGATGGTGGATGCCGTTTCAAGCTCAAGTATGAAAACTACCCAGCAGC TTCTTCATAGGGACATCATCAACCTGACCCACCAAGAACTTGAGCTGAAGCCA TTAAAGAAATCTCGGCAGGTGGAGGTGAGCTGGGAGTACCCTGACACCTGAGGTAC TCCACATTCTACTTCTCCTGACATTTCTGCGTTGAGGTCCAGGGCAAGAGCAAGAG AGAAAAAGAGATAGAGTCTTACGGACAAGACCTCAGCCAGGTCATCTGCCGCA

[0393]

		AAAAATGCCAGCATTAGCGTGGCGGCCAGGACCGCTACTATAGCTCATCTTGGAGC GAATGGGCATCTGTGCCCTGCAGT
49	IL15 폴리뉴클레오 타이드	GGCATTTCATGCTCTTCATTTTGGGCTGTTTCAGTGACGGGCTTCTAAACAGAAAGCC AACTGGGTGAATGTAATAAGTGATTGAAAAAATTGAAGATCTTATTCAATCTATGC ATATTGATGCTACTTTATATACGGAAGTGATGTTTACCCCGAGTTGCAAGTAACAGC AATGAAGTGCTTTCTCTTGGAGTTACAAGTTATTTCACTTGAGTCCGGAGATGCAAGT ATTATGATACAGTAGAAAACTGATCATCTAGCAAAACACAGTTTGTCTTCTAATG GGAATGTAACAGAACTCGGATGCAAGAAATGTGAGGAAGTGGAGGAAAAAATATTA AAGAATTTTGCAGAGTTTGTACATATTGTCCAAATGTTTCATCAACACTTCT
50	sIL15ra 폴리뉴클레오 타이드	ATCAGCTGCCCTCCCCCATGTCCGTGGAACACGCAGACATCTGGGTCAAGAGCTA CAGCTTGTAAGTCCAGGGAGCGGTACATTTGTAAGTCTGGTTTCAAGCGTAAAGCCGG CAGCTCCAGCCTGACGGAGTGCGTGTGAAACAAGGCCACGAATGTCGCCCACTGGA CAACCCCAAGTCTCAATGATTAGAGACCTGCCCTGGTTTCAACCAAGGCCAGCG CCACCCCTCCACAGTAACGACGGCAGGGGTGACCCACAGCCAGAGAGCCTCTCCC CTTCTGGAAGAGGCCCGAGCTTATCTCCAGCTCAAAACACAGCGGCCACAG ACAGCAGCTATTGTCGGGGCTCCAGCTGATGCTTCAAAATCACCTTCCACAGGA ACCACAGAGATAAGCAGTCTAGTCTCCACGGCAGCCCTCTCAGACAAACAGC CAAGAACTGGGAAGTACAGCATCCGCTCCACACAGCGCCAGGTGTGTATCCAC AGGGCCACAGCGACCACT
51	soluble GP130 폴리뉴클레오 타이드	ATGCTGACACTGCAGACTTGGCTGGTGACGGCACTGTTATTTTCTGACTACTGAA TCAACTGGCGAACTGCTGGACCTTGTGGCTACATCAGCCCTGAGTCCCAAGTGGT GCAGCTGCACAGCAACTTACCCCGCTGTGCGTGTGAAGGAGAAGTGTATGGAAGT ACTTTCAGCTGAACGCCAATATATCGTGTGGAAGCAACCACTTCACAATCCCAA GGAGCAGTACACCATCATCAATAGGACAGCCAGCTCCGTGACCTTACAGACATCG CCCTCCCTGAACTCCAGCTGACCTGCAATATCCTGACATTGGGCCAGCTGGAGCAG AAGCTGTATGGCATCACCATCATCTCTGGCTGCCCTTGAGAAAGCTAAGAACCTG AGCTGATCGTGAATGAGGGCAAGAAAGTGCAGTGTGAGTGGGACGGCGGACAGAG AGACACACCTGGAGACAACTTACCCCTGAAGTCCGAGTGGGCCACACACAAGTTT GCCGACTGCAAGGCCAAGCGCGATACCCCAACATCTGTACCGTGGATTAAGTCTAC AGTGTATTTGTGAACATCGAAGTGTGGGTGGAGGCCGAGAATGCCCTGGGCAAGG TGACCTCCGACCATCAACTTCGATCCCGTGTACAAGGTGAAGCCTAACCCACCCCA ACAATGAGCGTGTACAAATCCGAGGAGCTGTCTAGCATCTGAAGCTGACCTGGA CAACCCATCTATCAAGAGCGTGTATCTCTGAAGTACAATATCCAGTATCGGACCA AGGACCGCTCCCATGGAGCCAGATCCCTCCAGAGGATACCGCCAGCACAAGATCC TCTTTCACCGTGACGGACCTGAAGCCCTTACAGAGTACGTGTTTCCGATCAGATGT ATGAAGGAGGACGGCAAGGGCTACTGGAGCGATTGGTCCGAGGAGGCCAGCGGCA TCACCTATGAGGACAGGCCCTTCTAAGGCCCCCAAGCTTCTGGTACAAGATCGATCCAT CCACACCCAGGGCTATCGCACAGTGCAGCTGGTGTGGAAGCCCTGCCCTTCTTC GAGGCCAAGCGCAAGATCCTGGACTACGAGGTGACCTGACACGGTGGAAGTCCC ACCTGCAGAACTATACCGTGAATGCCACCAAGCTGACAGTGAACCTGACAAATGATC GGTACCTGGCCACCTGACAGTGAAGAACTGGTGGGCAAGCTGACGCCCGCTGT GCTGACCATCCCTGCCGATTTCAGGCCACACACCAAGTATGAGCTGAAGG CCTTTCCCAAGGATAATATGCTGTGGGTGGAGTGGACCAACCTAGAGAGTCCGTG AAGAAGTACATCCTGGAGTGGTGGTGTCTGTCTGACAAGGCCCATGTATCACCGA CTGGCAGCAGGAGGATGACCCGTGCACAGGACATATCTGCGCGGCAACCTGGCC GAGTCTAAGTGTACCTGATCACCCTGACACCGGTATGACAGACGGACCAAGCTC TCCTGAGAGCATCAAGGCCCTACCTGAAGCAGGCCACCAAGCAAGGACCAACCG TGCGGACAAAGAGGTGCGCAAGAAATGAGGCCGTGTGGAGTGGGACCAAGCTGCC TGTGGATGTGAGAACGGCTTATCAGGAATTACACATCTTTATCGCACATCATC GGCAACGAGACAGCGTGAATGTGGACAGCTCCACACCGAGTATACACTGTCTAG CCTGACCTCCGATACACTGTACATGGTGAGGATGGCCGCTATACAGACGAGGGCG GCAAGGATGGCCCGAGTTT
52	IgE 신호 서열	GGTACCGGGTCCGCCACCATGGACTGGACCTGGATTCTGTTCTCGTGGCTGCTGC TACAAGAGTGACACAGC
53	F2A	GGTTCTGGCGTGAACAGACTTTGAATTTTACCTTCTCAAGTTGGCGGGAGACGTG GAGTCCAACCCAGGCCCC
54	P2A	GGAGCGGAGCTACTAACTTCAGCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGAGAGA ACCTTGAGCT

[0394]

55	T2A	GAGGGCAGAGGCAGCCTGCTGACCTGCGGCGACGTCGAGGAGAACCCCGGGCCC
56	LNGFR	ATGGGGGCAGGTGCCACCGGCCGCGCCATGGACGGGCGCGCCTGCTGCTGTTG CTGCTTCTGGGGGTGCCCTTGAGAGGTGCCAAGGAGGCATGCCCCACAGGCCTGT ACACACACAGCGGTGAGTGTGCAAGGCCTGCAACCTGGGCGAGGGTGTGGGCCA GCCTTGTGGAGCCAACAGACCGTGTGTGAGCCCTGCTGGACAGCGTGACGTTCT CCGACGTGGTGAGCGCGACCGAGCCGTGCAAGCCGTGACCGAGTGCGTGGGGC TCCAGAGCATGTGCGCGCCGTGCGTGGAGGCCGATGACGCCGTGTGCCGCTGCGC CTACGGCTACTACCAGGATGAGACGACTGGGCGCTGCGAGGCGTGCCGCGTGTGC GAGGCGGGCTCGGGCCCTCGTGTTCCTGCCAGGACAAGCAGAACCCGTGTGCG AGGAGTGCCCGACGCGACGTATTCCGACGAGGCCAACACGTGGACCCGTGCCT GCCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGCGCCAGCTCCGCGAGTGACACGCTGG GCCGACGCCGAGTGCGAGGAGATCCCTGGCCGTTGGATTACACGGTCCACACCCC CAGAGGGCTCGGACAGCACGCCCCAGCACCAGGAGCCTGAGGCACCTCCAGA ACAAGACCTCATAGCCAGCACGGTGGCAGGTGTGTTGACACAGTGATGGGCAGCT CCCAGCCCGTGTGTGACCCGAGGCACACCGACAACCTCATCCCTGTCTATTGCTCC ATCCTGGCTGCTGTGTTGTGGGTCTTGTGGCCTACATAGCCTCAAGAGGTGA
서열 번호#	서열 명칭	폴리펩타이드 서열
57	IL-12a 폴리펩타이드	MWPPGSASQPPSPAAATGLHPAARVSLQCRLSMCPARSLLLVATLVLLDHLSLARNL PVATPDPMFPCLLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEA CLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSMMLCLSSIYEDLMKYQVEFTMNAK LLMDPKRQIFLDQNLMAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDPYKTIKILCILLHAFRIRA VTIDRMSYLNAS
58	IL12b 폴리펩타이드	MCHQQLVISWFSVLFLASPLVAIWELKKDVIYVVELDWYPDAPGEMVVLTCDTPEEDGIT WTLDDSSSEVLGSGKLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLHSHLLLLHKKEDGIWSTDILKD QKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWWTITISTDLTSVKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAE RVRDGNKEYEYSVECCQEDSACPAAEESLPIEVMDAVHKLKYENYTSFFIRDIKPDPP KNLQLKPLKNSRQVEVSWEYPTWTSTPHSYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSA TVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS
59	IL15 폴리펩타이드	GIHVILGCFSAGLPKTEANWVNVISDLKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKVAMKC FLELQVISLESGDASIHDTVENLILANNLSNNGNVTESGCKECELEEKNKEFLQSFV HIVQMFINTS
60	sIL15ra 폴리펩타이드	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLSRERYICNSGFKRKAGTSSLTECVLNKATNVAHWTPPS LKCIDRPALVHQRPAPPSTVTTAGVTPQPELSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGS QLMPKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT
61	융해성 gp130	MLTLQTLWLQALFIFLTTESTGELLPCGYISPESPVQLHSNFTAVCVLKEKCMDYFHV NANYIVWKTNHFTIPKEQYTIINRTASSVFTDIASLNQLTCNLTFGQLEQNVIYGITISGL PPEKPNKLSKIVNEGKMRCEWDGGRHLETNFTLKSEWATHKFADCKAKRDTPTSC TVDYSTVYFVNIWVEAENALGKVTSDHINFDVYKVKPNPPHNLVINSEELSSILKT WTNPSIKSVILKYNIQYRTKDASTWSQIPPEDTASTRSSFTVQDLKPFTEYVFRIRCMKE DGKGYWSDWSEESAGITYEDRPSKAPSFYKIDPSHTQGYRTVQLVWKLPPFEANGK ILDYEVTLTRWKSHLQNYTVNATKLTNLTNDRYLATLTVRNLVGKSDAAVLTPACDFQA THPVMDLKAFPKDNMLWVEWTTTPRESVKYILEWCVLSDKAPCITDWQQEDGTVHRTY LRGNLAESKCYLITVTPVYADGPGSPESIKAYLKQAPPSKGPTVTRTKKVGKNEAVLEWD QLPVDVQNGFIRNYTIFYRTIIGNETAVNVDSHTEYTLSSLTSDTLVMVRMAAYTDEGG KDGPEF
62	Fc 에 융합된 융해성 gp130	MLTLQTLWLQALFIFLTTESTGELLPCGYISPESPVQLHSNFTAVCVLKEKCMDYFHV NANYIVWKTNHFTIPKEQYTIINRTASSVFTDIASLNQLTCNLTFGQLEQNVIYGITISGL PPEKPNKLSKIVNEGKMRCEWDGGRHLETNFTLKSEWATHKFADCKAKRDTPTSC TVDYSTVYFVNIWVEAENALGKVTSDHINFDVYKVKPNPPHNLVINSEELSSILKT WTNPSIKSVILKYNIQYRTKDASTWSQIPPEDTASTRSSFTVQDLKPFTEYVFRIRCMKE DGKGYWSDWSEESAGITYEDRPSKAPSFYKIDPSHTQGYRTVQLVWKLPPFEANGK ILDYEVTLTRWKSHLQNYTVNATKLTNLTNDRYLATLTVRNLVGKSDAAVLTPACDFQA THPVMDLKAFPKDNMLWVEWTTTPRESVKYILEWCVLSDKAPCITDWQQEDGTVHRTY LRGNLAESKCYLITVTPVYADGPGSPESIKAYLKQAPPSKGPTVTRTKKVGKNEAVLEWD

[0395]

		QLPVDVQNGFIRNYTIFYRTIIGNETA VNVDSHSHEYTLSSLTSDTLYMVRMAAYTDEGG KDGPEFRSCDKTHTCPPCPAPEAEGGPSVFLFPPKPKD TLMISRTPEVTCVVVDVSHED PEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSP GK
서열 번호#	서열명칭	폴리뉴클레오타이드 서열
63	베트릭스들 TRAC 자리_CubiCA R CD22 pCLS30056 전체 서열	GTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTTATTTTCTAAATACA TTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCGTGATAAATGCTTCAATAATATTGAA AAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTTCGGGC ATTTTGCCCTTCCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTAAAGTAAAGATGCTGAA GATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGAT CCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTG CTATGTGGCGCGGTATTATCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGCG CATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTACCAAGTACAGAAAAAGCATCTT ACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCACTGCTGCCATAACCATGAGTGATAAC ACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTT TTTGACAAACATGGGGGATCATGTAACTCGCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGA ATGAAGCCATACCAACGACGAGCGTGACACCCAGATGCCTGTAGCAATGGCAACA ACGTTGGCGAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAA TAGACTGGATGGAGCGGATAAAGTTGCAAGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTCCG GCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGTTCTCGCGGTAT CATTTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGA CGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCC TCACTGATTAAGCATTTGGTAACCTGTACAGCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGA TTTAAACACTTCATTTTAAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCTCAT GACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAA GATCAAGAGATCTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAAACA AAAAAACCCACCGCTACCAAGCGGTGGTTTTGTTGCGCGATCAAGAGCTACCAACTCTT TTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGCAGAGCGGAGATACCAAACTGTTCTCTAGTG TAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCAACCGCTACATACCTCGCT CTGCTAATCCTGTTACCACTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCTGTCTTACCGG GTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGCTCGGGCTGAACGCGGG GGTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCT ACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCGAAGGGAGAAAGCGGACAGG TATCCGGTAAGCGGAGGGTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGG GAAACGCTGGTATCTTTATAGTCCTGTGCGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGCGTC GATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGA AAAACGCCAGCAACGCG GCCTTTTTACGGTTCTTGCCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGGTCTTTCTGCGT TATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTC GCCGACGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAGAGCG CCCAATACGCAAAACGCCCTCTCCCGCGCGTTGGCCGATTCAATTAATGCACTGGC ACGACAGGTTTTCCGACTGGAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGT TAGTCACTCATTAGGCACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGT GTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACG CCAGCGCGCTCAATTAACCTCACTAAAGGGAACAAAGCTGTTAATTAATGTCTGG GCCTTTTTCCCATGCCTGCCCTTACTCTGCCAGAGTTATATTGCTGGGGTTTTGAAGA AGATCCTATTAATAAAAGAAATAAGCAGATTATTAAAGTAGCCCTGCATTTCAGGTTT CCTTGAGTGGCAGGCCAGGCTGGCCGTGAACGTTCACTGAAATCATGGCCTCTTG GCCAAGATTGATAGCTTGTGCCGTGTCCTGAGTCCAGTCCATCACGAGCAGCTGG TTTCTAAGATGCTATTTCCGTATAAAGCATGAGACCGTGACTTGCCAGGCCACAG AGCCCCGCCCTTGCCATCACTGGCATCTGGACTCCAGCCTGGGTGGGGCAAAGA GGGAAATGAGATCATGTCCTAACCTGATCCTCTTGTCACACAGATATCCAGTACCC CTACGACGTGCCGACTACGCCTCCGGTGAGGCGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCG GTGACGTGGAGGAGAATCCGGGCCCGGATCCGCTCTGCCCTCACCGCTCTGCT GCTGCCACTGGCACTGCTGCTGCACGCTGTAGGCCCGAGGGGGAGGCGAGCTGC CCCTACAGCAACCCAGCCTGTGCAGCGGAGGCGCGGCGAGCGCGGAGGGGGT AGCCAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGCCCTGGCCTGGTGAAGCCAAGCCAGACAC TGTCCCTGACCTGCGCCATCAGCGGGGATTCCGTGAGCTCCAACTCCGCCGCTTG AATTGATCAGGCGAGTCCCTTCTCGGGGCTGGAGTGGCTGGGAAGGACATACTA TCGGTCTAAGTGTACAACGATTATGCCGTGTCTGTGAAGAGCAGAATCACAAACAA CCCTGACACCTCCAAGAATCAGTTCTCTGTCAGCTGAATAGCTGACACCAAGAGGA

[0396]

		<p> CACCGCCGTGTACTATTGCGCCAGGGAGGTGACCGGCGACCTGGAGGATGCCTTT GACATCTGGGGCCAGGGCACAATGGTGACCGTGAGCTCCGGAGGCGCGGATCTG GCGGAGGAGGAAGTGGGGCGCGGGAGTGATATCCAGATGACACAGTCCCCATC CTCTCTGAGCGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGACAACTACCTGTAGGGCCCTCCAGA CCATCTGGTCTTACCTGAACTGGTATCAGCAGAGGCCCGGCAAGGCCCTAACTG CTGATCTACGACGAAGCTCCCTGCGAGCGGAGTGCCATCCAGATTCTCTGGCAG GGGCTCCGGCACAGACTTACCCCTGACCATCTAGCCTGCAGGCCGAGGACTTCG CCACCTACTATTGCCAGCAGTCTTATAGCATCCCCAGACATTTGGCCAGGGCACCA AGCTGGAGATCAAGTCGGATCCCGGAAGCGGAGGGGGAGGCGAGCTGCCCTACAG CAACCCGACGCTGTGACGCGGAGGGCGGCGGAGCGAGCTGCCACCCAGGGCAC TTTCTCCAACTGTGTCACCAACGTGAGCCAGCCAGGCCACCCACCCAGCGCTGTC CTTATTCCAATCCTTCCCTGTGTCTCCACCAACCCCGCTCCAAGGCCCTTA CCCCGCACCACTATTGCTTCCAGCCACTCTCACTGCGGCTGAGGCTGTCCG CCCGCTGTGGAGGCGCAGTGACATCAAGGGGCTCGATTTGCGCTGCGATATTTA CATCTGGGCACCCCTCGCCGGCACCTGCGGGGTGCTTCTCTCTCCCTGGTGATTA CCCTGTATTGACAGCGGGCCGGAAGCTCCTCTACATTTTAAAGCAGCTTTCA TGCGGCCAGTGACAGACAACCCAAGAGGAGGATGGGTGTTCTGCAGATTCCCTGAG GAAGAGGAAGGCGGGTGCGAGCTGAGAGTGAAGTCTCCAGGAGCGCAGATGCC CCGCTATCAACAGGGCCAGAACGAGCTTACAACGAGCTTAACCTCGGGAGGCGC GAGGATCAAGAGCTGTTGGATAAGAGAAGGGGGCGGACCCGAGATGGGAGGAA AGCCCCGAGGAAGAACCCTCAGGAGGGCTGTACAACGAGCTGCAGAGGATAA GATGGCCGAGGCTACTCAGAGATCGGATGAAGGGGGAGCGGCCCGCGGGAA GGGGCAGGATGGGCTTACCAGGGGCTGAGCAGAGCCACAAGGACACATACGAC GCCTTGACATGACGGCCCTTCCACCCGGGAATAGTCTAGAGGGCCCTTAAAC CCGCTGATCAGCTCGACTGTGCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTGGCCCTC CCCCGTGCTTCTTGAACCTGGAAGTGCCACTCCCACTGCTTCTCTAATAAAA TGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCTTATCTGGGGGGTGGGGT GGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGAT CGGTGGGCTCTATGACTAGTGGCGAATTCCTGTGACGCTGAGAGACTTAA TCCAGTGACAAGTCTGTCTGCTTATCACCGATTTTGATTCTCAACAAATGTGTAC AAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGACAAACTGTGTAGACATGAGGCTAT GGACTTCAAGAGCAACAGTGTGTGGCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTG CAACAGCCTTCAACAACAGCATTATTCGAAGACACCTTCTCCCGAGCCAGGTA AGGGCAGCTTTGGTGCCTTCGAGGCTGTTTCTTGTCTCAGGAATGGCAGGTT TGCCAGAGCTCTGTGCAATGATGTCTAAAACCTCTGATTGGTGGTCTCGGCCCT ATCCATTGCCACCAAAACCTCTTTTACTAAGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAAGT GGCAGAGCGCACATGCCACAGTCCCGGAGAAAGTGGGGGGAGGGGTGGGAAT TGAAAGGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGTAACTGGGAAGTGATGTCTGT ACTGGCTCGGCCCTTTTCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTC GCCGTGAACGTTCTTTTCCGAACGGGTTTCCGCCAGAACACAGCTGAAGCTTCG AGGGGCTCGCATCTCTCTTACAGCGCCCGCCGCCCTACCTGAGGCCGCCATCCA CGCCGGTTAGTGCCTTCTGCGCCCTCCCGCTGTGGTGCCTCTGAACTGCGTC CGCCGCTAGTGAAGTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCTTTGTCGCGCGCTCC CTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGCTCTCCACGCTTTGCTGACCTGCTTGCT CAACTCTAGCTTTTGTCTGTTTCTGTTCTGCGCGCTTACAGATCCAAGCTGTGAC CGGGCCTACCTGAGATCACCGGCGCCACCATGGCTTCTTACCTGGACACGACA TGCTTCTGCTTTTGACGAGCTGCCAGATCCAGGGGCCACTCCAACAGGAGAACTG CCCTAAGACCCAGAGACAGCAGGAAGCCACTGAGGTGAGGCTGAGCAGAAAT GCCAACCCCTGCTGAGGGGTATACATTGATGGACCTCATGGCATGGGCAAGACCACA CCACTCACTGCTGGTGGCACTGGGCTCCAGGGATGACATTGTGTATGTGCTGAG CCAATGACCTACTGGAGAGTGCTAGGAGCTCTGAGACCATGCCAACATCTACACC ACCCAGCAGAGCTGGACAGGGGAGAACTCTGCTGGAGATGCTGCTGTGGTGTG GACCTCTGCCAGATCACAATGGGAATGCCCTATGCTGTGACTGATGCTGTTCTGGC TCCTCACATTGGAGGAGAGGCTGGCTTCTCATGCCCTCCACCTGCCCTGACCC TGATCTTTGACAGACACCCATTGACGCCCTGCTGTGCTACCCAGCAGCAAGGTAC CTCATGGGCTCCATGACCCACAGGCTGTGCTGGCTTTTGTGGCCCTGATCCCTCC AACCCCTCCCTGGCACCAACATTGTTCTGGGAGCACTGCCTGAAGACAGACACATTGA CAGGCTGGCAAGAGGACAGACCTGGAGAGAGCTGGACCTGGCCATGCTGGCT GCAATCAGAAGGGTGATGGACTGCTGGCAACACTGTGAGATACCTCCAGTGTGG AGGCTCTGGAGAGAGGACTGGGACAGCTCTCTGGAACAGCAGTGCCCTCAA GGAGCTGAGCCCAAGTCCAATGCTGGTCCAAGACCCACATTGGGGACACCTGTT CACCTGTTTCAAGGCCCTGAGCTGTGCTCCCAATGGAGACCTGTACAAATGTGT TTGCTGGGCTCTGGATGTTCTAGCCAAGAGGCTGAGGTCCATGCATGTGTTATCC TGACTATGACCACTCCCTGCTGATGACAGATGCTGCTGCACTAACCTCTG GCATGGTGACACCATGTGACACCCCTGGCAGCATCCCAACCATCTGTGACCTA GCCAGAACCTTTGCCAGGGAGATGGGAGGGCCAACTAAGGCGCGCCACTCGAGC GCTAGCTGGCCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGACAAACCACAACATA </p>
--	--	---

[0397]

		<p>ATGCAGTGAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAAC CATTATAAGCTGCAATAAACCAAGTTAACCAACCAATTCGATTCAATTTATGTTTCAGG TTCAGGGGGAGGTGTGGGAGGTTTTTAAAGCAAGTAAACCTCTACAAATGTGGTA TGGAAAGGCGCGCCCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGATTACGTCGCGCTCACTGGC CGTCGTTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAAACCTGGCGTTACCCAACCTTAATCGCCT TGAGGACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCGCGCACCGGAA CGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGGAGCGCCCTGTAGCGG CGCATTAAAGCGCGCGGGTGTGGTGTACGCGCAGCGTGACCGCTACACTTGCC AGCGCCCTAGCGCGCGCTCCTTTTCGCTTTCTCCCTTCTTCGCCACGTTTCGCC GGCTTTCCCGCTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCGGAATTAGTGCT TTACGGACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATGGTTGGCCTGTAGTGGG CCATAGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATA GTGGACTCTTTTCCAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGCTATTCTTTTGA TTTATAAGGGATTTTGGCGATTTCGGCCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTAAACA AAATTTAACGCGAATTTTAAACAAATATTACGCTTACAAATTTAG</p>
64	<p>메트릭스들 CD25 _자리_IL15_2A _sIL15Ra pCLS30519 전체 서열</p>	<p>GTTTATTATTCCTGTCCACAGCTATTGTCTGCCATATAAAAACTTAGGCCAGGCACA GTGGCTCACACCTGTAATCCCAGCCTTTGGAAGGCCGAGGCAGGCAGATCACAAAG GTCAGGAGTTGAGACACAGCCTGGCCAACTAGCAAAACCCCATCTCTACTAAAAAT ACAAAAATTAGCCAGGCATGGTGGCGTGTGCACTGGTTTAGAGTGAGGACCAATTT TTTTGGTGCCGTGTACACATATGACCGTGACTTTGTACACCACTACAGGAGGAAG AGTAGAAGAACAACTCGGTTCTGGCGTGAACAGACTTTGAATTTTACCTTCTCAAGT TGGCGGAGACGTTGGAGTCCAACCCAGGGGCCGTTACCGGTTCCGCCACCATGGA CTGGAACTGGATTCTGTTCTCGTGCTGCTGCTACAAGAGTGACACGCGCATTC ATGCTCTCATTTTGGGCTGTTTCAGTGACGGGCTTCTTAAACAGAAAGCCAACTGGG TGAATGTAATAAGTGATTGAAAAAATTGAAGATCTTATCAATCTATGCATATTGAT GCTACTTTATATACGAAAGTGATTTACCCCACTGCAAGATACAGCAATGAAG TGTCTTTCTTTGGAGTTACAAGTTATTTCACTTGAGTCCGAGATGCAAGTATTCATG ATACAGTAGAAAACTGATCATCTAGCAAAACAGTTTGTCTTCTAATGGGAATGT AACAGAACTTGGATGCAAGAATGTGAGGAACTGGAGGAAAAAATATTAAAGAAAT TTTGACAGTTTGTACATATTGTCAAATGTTCAACACCTTCTGGAAGCGGAGCT ACTTAATCTAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGACCTGG GACCGGCTCTGCAACCATGGATTGGACGTGGATCCTGTTCTCGTGGCAGCTGCCA CAAGAGTTCACAGTATCACGTGCCCTCCCCCATGTCCGTGGAACACGACAGATC TGGGTCAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTACATTTGTAACCTGGTTTC AAGCGTAAAGCCGGCACGTCCAGCCTGACGGAGTGCCTGTTGAACAGGCCACGA ATGTCGCCCACTGGACAACCCCACTCAAAATGCATTAGAGACCTGGCCTGGTTTC ACCAAGGGCAGCGCCACCTCCACAGTAACGAGCGGAGGGGTGACCCACAGCC AGAGAGCCTCTCCCTTCTGGAAAAAGGCCCGCAGCTTATCTCCAGCTCAAAACA CACAGCGGCCACACAGCAGCTATTGTCCCGGGCTCCAGCTGATGCTTCAAAAT ACCTTCCACAGGAACACAGAGATAAGCAGTCATGAGTCTCCACGGCACCCCTC TTCAGACAACAGCCAAGAACTGGGAATCACAGCATCCGCCCTCCACAGCGCGCC AGGTGTGTATCCACAGGGCCACAGCGACCACTGAGGGCAGAGGACGCTGCTG ACCTCGCGCGCAGCTCGAGGAGAACCCCGGGCCCATGGGGCAGGTGCCACCGGC CGCGCCATGGACGGGCCCGCCTGCTGCTGTTGCTGCTTCTGGGGGTGTCCTTG GAGGTGCCAAGAGGACATGCCCCACAGGCCTGTACACACACAGCGGTGAGTGCTG CAAGCCTGCAACCTGGGCGAGGGTGTGCCCGAGCCTTGTGAGCCAACAGAGCC GTGTGTGAGCCCTGCCGTGGACAGCGTGACGTTCTCCGACGTGGTGAGCGCAGCC AGCCGTGCAAGCCGTGCACCGAGTGCGTGGGGCTCCAGAGCATGTCGGCGCCGTG CGTGAGGCGCGATGACGCCGTGTGCCGTGCGCCTACGGCTACTACAGGATGAG ACGATGGGCGCTGCGAGGCGTGCCGCGTGTGCGAGGCGGGCTCGGGCTCGTG TTCTCTGCCAGGACAAGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCCCCGACGGCACGT ATTCGACGAGGCAACACAGTGACCCGTGCTGCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGA CACCGAGCGCCAGCTCCGCGAGTGACACGCTGGGCCGACGCCGAGTGCGAGGA GATCCCTGGCCGTTGGATTACACGGTCCACACCCCAAGGGCTCGGACAGCACA GCCCCAGCACCCAGGAGCCTGAGGCACCTCCAGAACAGACCTCATAGCCAGCA CGGTGGCAGGTGTGGTGACCACAGTGATGGGACGCTCCAGCCCGTGGTGACCCG AGGCACCCAGCACACCTCATCCCTGTCTATTGCTCCATCTGGCTGCTGTGGTTGT GGGTCTTGTGGCTTACATAGCCTTCAAGAGGTGAAAAACCAAGAACAAAGAAATTC TTGGTAAGAGCCGGGAACAGACAAGAGTATGAAGCCCAAGTGAATCAAAG GTGCTAAATGTCGCCAGGAGACATCCGTTGTGCTTGCTGCGCTTTTGAAGCTCT GAAGTCACATCACAGGACACGGGGCAGTGGAACCTTGTCTATGCCAGCTCAGT CCCATCAGAGAGCGAGCGCTACCCACTTCTAAATAGCAATTCGCCGTTGAAGAGGA AGGGCAAAACCACTAGAACTCTCCATCTTATTTTCATGTATATGTGTTTCATGCGATCG CTCCGGTGCCCGTCACTGGGCGAGGCGACATCGCCCACTGCCCGAGAAAGTTG GGGGGAGGGGTCGGCAATTGAACGGGTGCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAACT</p>

[0398]

	<p>GGGAAAGTGATGTCGTGTAAGTGGCTCCGCCCTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCG TATATAAGTGACAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCCAGA ACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTCACGCGCCCGCCGCCCTAC CTGAGGCCGCCATCCACGCCGTTGAGTCGCGTTCGCGCCTCCCGCCTGTGGT GCCTCCTGAACGTGCGTCCGCCGTCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGG CCTTTGTCGGCGCTCCCTTGAGCCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTT GCCGTACCCCTGCTTGCTCAACTCTACGCTTTGTTTCTGTTTCTGCTGCGCGTTA CAGATCCAAGCTGTGACCGGCCCTACCTGAGATCACCAGCGCCACCATGGCTTCT TACCCTGGACACACAGCATGCTTCTGCCCTTGACCAGGCTGCCAGATCCAGGGGCCA CTCCAACAGGAGAACTGCCCTAAGACCAGAGACAGCAGGAAAGCCACTGAGGTGA GGCCTGAGCAGAGATGCCAACCTGCTGAGGGGTACATTGATGGACCTCATGGC ATGGGCAAGACACACCACTCAACTGCTGGTGGCACTGGGCTCCAGGGATGACAT TGCTATGTGCTGAGCCAATGACCTACTGAGAGTCTAGGAGCCTCTGAGACCA TTGCCAATCTACACACCCAGCAGGCTGGACAGGAGAAATCTCTGCTGGA GATGCTGCTGTGGTGATGACCTCTGCCAGATCACAATGGGAATGCCCTATGCTGT GACTGATGCTGTTCTGGCTCCTACATTGGAGGAGAGGCTGGCTCTTCTCATGCC CTCCACCTGCCCTGACCTGATCTTTGACAGACACCCCATGACGCCCTGCTGTGCT ACCCAGCAGCAAGGTACCTCATGGGCTCCATGACCCACAGGCTGTGCTGGCTTTT GTGGCCCTGATCCCTCCAACCCCTCCCTGGCACCAACATTGTTCTGGGAGCACTGCC TGAAGACAGACACATTGACAGGCTGGCAAGAGGCAGAGACCTGGAGAGAGACTG GACCTGGCCATGCTGGCTGCAATCAGAAAGGTGTATGAGCTGCTGGCAACACTGT GAGATACCTCCAGTGTGAGGCTCTTGAGAGAGGAGCTGGGACAGCTCTCTGGAA CAGCAGTGCCCCCTCAAGGAGCTGAGCCCCAGTCCAATGCTGGTCCAAGACCCAC ATTGGGGACACCCCTGTTACCCCTGTTCAAGGCCCTGAGCTGCTGGCTCCAATGG AGACCTGTACAATGTTTGCCTGGGCTCTGGATGTTCTAGCCAAGAGGCTGAGGT CCATGCAATGTGTTTCATCCTGGACTATGACCAAGTCCCTGCTGGATGCAGAGATGCTC TGCTGCAACTAACCTCTGGCATGGTGACAGCCCATGTGACCAACCCCTGGCAGCATC CCACACCTGTGACCTAGCCAGAACCTTTGCCAGGAGATGGAGAGGCGCAACTA AGGCGCGCCACTCGAGCGCTAGCTGGCCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTT GGACAAACACCAACTAGAATGCAAGTGAAGAAATGCTTTATTTGTGAATTTGTGATG CTATTGCTTTTATTGTAACCATTAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAACAACATTTG ATTGCTTTTATGTTTCAAGTTTCAAGGGGAGGTGTGGAGGTTTTTAAAGCAAGTAA ACCTCTACAAATGTGGTATGGAAGCGCGCCCAATTCCGCCCTATAGTGAGCTGATTT ACGTGCGCTCACTGGCCGTCGTTTTTCAACGTCGTGACTGGGAAACCCCTGGCGT TACCAAACTTAATCGCCTTGACGACATCCCCCTTTCCGCAAGCTGGCGTAAATAGCGA AGAGGCCCGCACCGCAACGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCAATG GGAGCGCCCTGTAGCGCGCGCATTAAGCGCGCGCGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCG TGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTTCGCTTTCTTCCCTTCCT TTCTCGCCACGTTGCGCGGCTTTCCCGCTCAAGCTCAAAATCGGGGGCTCCCTTTAG GGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACTTGATTAGGGTGATG GTTGGCTGTAGTGGCCATAGCCCTGATAGACGTTTTCGCCCTTTGACGTTGGA GTCCACGTTCTTAATAGTGGACTCTTTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCCTATC TCGGTCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTGCGCCTATTGGTTAAAAA TGAGCTGATTTAACAAAAATTAACGCGAATTTTAACAAAAATTAACGCTTACAATTT AGGTGGCACTTTTCGGGGAATGTGCGCGGAACCCCTATTGTTTATTTTCTAAATA CATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCCTGATAAATGCTTCAATAATATT GAAAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCCTTTTTTGC GGCATTTTGCCTTCCTGTTTGTCTACCCAGAACGCTGGTGAAAGTAAAGATGC TGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTAACAGCGGTA AGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCGCAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGT TCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCGGGCAAGAGCAACTCGGTC GCCGCATACACTATTCTCAGAACTGACTTGGTTGAGTACTACCAAGTACAGAAAAAGC ATCTTACGATGGCATGACAGTAAGAGAAATATGCAAGTCTGCCATAACCATGAGTG ATAACACTGCGGCCAATTAATCTGACAACTGCGAGGACCGAAGGAGCTAACG GCTTTTTTGCACAACATGGGGATCATGTAACCTCGCTTATGCTTTGGGAACCGGAG CTGAATGAAGCCATACCAACGACGAGCGTGACACCAAGTGCCTGTAGCAATGGC AACACGTTGCGCAACTATTAACGTGCGAACTACTTACTAGCTTCCCGCAACA ATTAATAGACTGGATGGAGCGGATAAAGTTGACAGGACCACTTCTGCGCTCGGCC TTCCGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGAGCGCGTGAGCGTGCTTCTCGC GGTATCATTTGACGACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCGCTATCGTAGTTATCTAC ACGACGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGTGAGATAGG TGCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTGACACCAAGTTTACTCATATATACTTTAG ATTGATTTAAACCTCATTTTAAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTGATAAT CTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTTCCACTGAGCGTCAGACCCGTA GAAAAGATCAAGGATCTTCTGAGATCCTTTTCTGCGGTAACTGCTGCTTCTG AAACAAAAAACCCGCTACCAGCGGTGGTTTGTTCGCCGATCAAGAGCTACCAA CTCTTTTCCGAAGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAACTGTTCTTCT</p>
--	---

		AGGTGAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCAGCGCTACATACCT CGCTCTGCTAATCCTGTTACCAAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGCTTAC CGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCGGGCTGAACG GGGGTTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATA CCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCGAAAGGAGAAAGCGGAC AGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCGGAAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTCCAG GGGGAACGCTTGGTATCTTTATAGTCTGTCGGGTTTCCGCACTCTGACTTGAGC GTCGATTTTGTGATGCTGCTCAGGGGGCGGAGCCTATGGA AAAACGCCAGCAAC GCGGCCCTTTTACGGTTCTGGCCCTTTTGTGGCCTTTTGTGCATAGGCTTTCTCT GCGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACC GCTCGCCGAGCGCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAG AGCGCCCAATACGCAAAACCGCCTCTCCCGCGCGCTGGCCGATTCAATATGCGAGC TGCCACGACAGGTTTCCGACTGGAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGT GAGTAGCTCACTCATTAGGCACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTAT GTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAAATTACACAGGAAACAGCTATGACCAATGA TTACGCCAAGCGCGTCAATTAAACCTCACTAAAGGGAACAAAAGCTGTTAATTAA
65	배트릭스들 PD1 자리_IL15_2A _slIL15Ra pCLS30513 전체 서열	GACTCCCCAGACAGGCCCTGGAACCCCCCACTTCTCCCCAGCCCTGCTCGTGGT GACCGAAGGGGACAACGCCACCTTCACTGCGAGCTTCTCAACACATCGGAGAGCT TCGTGCTAACTGGTACCGCATGAGCCCCAGCAACAGAGCGGACAAGCTGGCCGCC TTCCCGAGGACCGCAGCCAGCCCGGCCAGGACTGCCGCTTCCGTGTACACAACT TGCCCAACGGGGCTGACTTCCACATGAGCGTGGTCAGGGCCCGGCCGAATGACAG CGGCACCTACCTCTGTGGGGCCGGTTCTGGCGTGAAACAGACTTTGAATTTTGACCT TCTCAAGTTGGCGGGAGACGTGGAGTCCAACCCAGGGCCCGGTACCGGGTCCGCC ACCATGGACTGGACCTGGATTCTGTTCTCGTGGCTGCTGCTACAAGAGTGACACG CGGCATTATGTCTTCAATTTTGGGCTGTTTCAGTGACGGGCTTCTTAAACAGAAAGC CAACTGGGTGAATGAATAAGTATTGAAAAAATTAAGATCTTATTCAATCTATG CATATTGATGCTACTTTATATACGGAAGTGATGTTCACCCCAGTTGCAAGTAACAG CAATGAAGTGCTTTCTCTTGAGTTACAAGTTATTCACTTGAGTCCGGAGATGCAAG TATTCAATGATACAGTAGAAAACTGATCATCTAGCAAAACAGTTTGTCTTCTAAT GGGAATTGAACAGAACTGGATGCAAGAAATGTGAGGAACGAGGAAAAAATATT AAAGATTTTGCAGAGTTTTGTACATATTGCCAAATGTTCAACACACTTCTGGAA CGCGAGCTACTAATCTCAGCCTGTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCT GGACCTGGACCGGCTCTGCAACCATGGATTGGACGTGGATCTGTTTCTCGTGGC AGCTGCCACAAGAGTTCAAGATACAGTGCCTTCCCCCATGTCCGTGGAAACAG CAGACATCTGGGTCAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTACATTTGTAAT CTGGTTTCAAGCGTAAGCGCGCAGCTCCAGCCTGACGGAGTGCGTGTGAAACAAG GCCACGAATGTGCCCACTGGACAGCCCAAGCTCTCAATGCAATAGAGACCCCTGC CCTGGTTCAACAAAGGCCAGCGCCACCTCCACAGTAACGACGGCAGGGGTGACC CCACAGCCAGAGAGCTCTCCCTTCTGGA AAAGAGCCCGCAGCTTCACTCCAG CTCAACAAACACAGCGGCCACAACAGCAGCTATTGTCGGGGCTCCAGCTGATGC CTTCAAAATCACCTTCCACAGGAACCCAGAGATAAGCAGTCAATGAGTCTCCACG GCACCCCTCTCAGACAACAGCCAAGAACTGGGAACTACAGCATCCGCTCCAC CAGCCGCCAGGTGTATCCACAGGGCCACAGCGACACCACTGAGGGCAGAGGCA GCCTGTGACCTGCGGGCAGCTCGAGGAGAAACCCCGGGCCATGGGGGCAGGTG CCACCGGCCCGGCCATGGACGGGCCGCGCTGCTGCTGTTGCTGCTTGGGGGT GTCCCTTGGAGGTGCCAAGGAGGCATGCCCCACAGGCCTGTACACACACAGCGGT GAGTGTGTCAAAGCCTGCAACCTGGCGGAGGGTGTGGCCACGCTTGTGGAGCCA ACCAGACCGTGTGTGAGCCCTGCCTGGACAGCGTGACGTTCTCCGACGTGGTGAG CGCGACCGAGCCGTGCAAGCCGTGACCGAGTGCGTGGGGCTCCAGAGCATGTGCG GCGCGCTGCGTGGAGGCCGATGACGCGGTGTGCCGTGCGCTACGGCTACTACC AGGATGAGACGACTGGCGCTGCGAGGCGTGCCGCTGTCGAGGGCGGGCTCGG GCCTCTGTGTTCTCTGCGCAGGACAAGCAGAAACCCGTGTGCGAGGAGTGCCCGA CGGCAGCTATTCCGACGAGGCCAACACGTGACCCGTGCTGCCGAGGAGTGCCCGA TGCGAGGACACCGAGCGCCAGCTCCGCGAGTGACACGCTGGGCCGACGCCGAGT GCGAGGAGATCCCTGGCCGTTGGATTACAGGTCACACCCCGAGAGGGCTCGGA CAGCACAGCCCCCAGCACCCAGGAGCCTGAGGCACCTCCAGAAACAAGACCTCATAG CCAGCACGGTGGCAGGTGTGGTAGCCACAGTGATGGGCAGCTCCAGCCCGTGGT GACCCGAGGCACCCACCAACCTCATCCCTGTCTATTGCTCATCTGGCTGCTG TGTTGTGGGCTTGTGGCTACATAGCCTTCAAGAGGTGATCTAGAGGGCCCGTTT AAACCCGCTGATCAGCCTGAGCTGTGCCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTGCC CTCCCCCGTGGCTTCCCTTGACCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCTTTCTTAAT AAAAATGAGGAAATTGATCGCATTTGTCTGAGTAGGTGTCTTCTATTCTGGGGGGTG GGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGG GGATGCGGTGGGCTCTATGACTAGTGGCGAATTCGGGCGCAGATCAAGAGAGCCTG CGGGCAGAGCTCAGGGTGACAGGTGCGGCCCTCGGAGGCCCGGGGCAGGGGTGA

[0400]

	<p> GCTGAGCCGGTCTCGGGTGGGTGTCCCTCCTGCACAGGATCAGGAGCTCCAGG GTCGTAGGGCAGGGACCCCCAGCTCCAGTCCAGGGCTCTGTCTGCACCTGGGG AATGGTGACCGGCATCTCTGTCTCTAGCTCTGGAAGCACCCAGCCCTCTAGTCT GCCCTCACCCCTGACCTGACCTCCACCTGACCCCGTCTTAACCCCTGACCTTT GGCGATCGCTCCGGTGGCCGTCAGTGGGAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCGG AGAAGTTGGGGGAGGGGTGGGCAATTGAACGGGTGCCATGAGAAGGTGGCGCGG GGTAAACTGGGAAAGTGATGCTGTACTGGCTCCGCCCTTTTCCGAGGGTGGGG GAGAACCGTATATAAGTGACAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTCGCAACGGGTTTG CCGCCAAGACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTACGCGCCCGC CGCCCTACCTGAGGGCGCCATCCACGCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCTCCCG CCTGTGGTGCCTCCTGAAGTGCCTCGCCGCTAGGTAAAGTTAAAGCTCAGGTCG AGACCGGGCTTTGTCCGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGCGCTCTC CACGCTTTGCCGTACCTGCTTGTCTCAACTCTACGCTTTTGTTCGTTTTCTGTTCTG CGCGTTTACAGATCCAAGCTGTGACCGCGCGCTACCTGAGATCAGCGCGCCACCA TGGCTTCTTACCCTGGACACAGCATGCTTCTGCCTTTGACCAAGGCTGCCAGATCCA GGGGCCACTCCAACAGGAGAACTGCCCTAAGACCCAGAAAGACAGCAGGAAGCCAG TGAGGTGAGGCTGAGCAGAAAGATGCCAACCTGCTGAGGGTGATCATTGATGGAC CTCATGGCATGGGCAAGACCACCACTCAACTGCTGTTGGCAGCTGGGCTCCAGG GATGACATTGTGTATGTGCTGAGCAATGACCTACTGGAGAGTGCTAGGAGCCTCT GAGACCATGGCCACATCTACACCCAGCAGGCTGGACAGGGAGAAATCTC TGCTGAGATGCTGCTGTGGTGATGACCTCTGCCAGATCACAATGGGAATGCCCT ATGCTGTAGCTGATGCTGTTCTGGCTCCTCACATTGGAGGAGAGGCTGGCTCTTCTC ATGCCCTCCACCTGCCTGACCTGATCTTTGACAGACACCCATTGACAGCCCTG CTGTGCTACCCAGCAGCAAGGTACCTCATGGGCTCCATGACCCACAGGCTGTGCT GGCTTTTGTGGCCCTGATCCCTCCAACCTCCCTGGCACCAACATTGTTCTGGGAG CACTGTCTGAAGACAGACACATTGACAGGCTGGCAAGAGGCGAGAGCTGGAGAG AGACTGGAGCTGGCCATGCTGGCTGCAATCAGAAAGGTTGATGGACTGCTGGCCAAA CACTGTGAGATACCTCCAGTGTGGAGGCTCTTGGAGAGGACTGGGAGACGCTCT CTGGAACAGCAGTGGCCCTCAAGGAGCTGAGCCCGAGTCCAATGCTGGTCCAAGA CCCCACATTGGGGACACCTGTTACCCCTGTTAGAGCCCTGAGCTGCTGGCTCC CAATGGAGACCTGTACAATGTGTTTGGCTGGGCTCTGGATGTTCTAGCCAAAGAGGCT GAGGTCCATGCATGTGTTATCCTGGACTATGACCACTGCCCTGCTGGATGAGAG ATGCTCTGCTGCAACTAACCTCTGGCATGTGTCAGACCCATGTGACCAACCTTGGC AGCATCCCAACCATCTGTGACCTAGCCAGAACCTTTGCCAGGGAGATGGGAGAGGC CAACTAAGCGCGCCACTCGAGCGCTAGCTGGCCAGACATGATAAGATACATTGAT GAGTTTGGACAAACCAACTAGAAATGCAAGTGAAGAAATGCTTTATTTGAAATTT GTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACATTATAAGCTGCAATAAACAGTTAAACAAAC AATTTGATTCACTTTTATGTTTCAAGTTCAAGGGGAGGTTGGGAGGTTTTTAAAGCA AGTAAACCTCTACAAATGTGGTATGGAAGGCGCGCCCAATTCGCCCTATAGTAGT CGTATTACGTCGCGCTCACTGGCGCTCGTTTTACAACTGCTGACTGGGAAACCTT GGCGTTACCAACTTAATCGCTTGCAGCAGATCCCCCTTTGCCAGCTGGCGTAAT AGCGAAGAGGCGCGCACCGAAACGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGC GAATGGGAGCGCCCTGTAGCGCGCATTAAAGCGCGCGGGGTGTGGTGGTTACGCG CAGCGTACCGCTACACTTGCAGCGCCCTAGCGCCGCTCCTTTGCGTTTCTTCC CTTCTCTTCTCGCCAGCTTCCCGGCTTCCCGCTCAAGCTCAAAATCGGGGGCTCC CTTTAGGGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCAAAAAATTGATTAGG GTGATGGTTGGCTGTAGTGGGCCATAGCCCTGTAGACAGGTTTTTCGCCCTTTGAC GTTGGAGTCCACGTTCTTTAATAGTGGAATCTTGTTCAACTGGAACAACACTCAAC CCTATCTCGGCTATTCTTTGATTATAAGGGATTTTGGCGATTTCGGCTATTGGT TAAAAAATGAGCTGATTTAAACAAAAATTAACGCGAATTTAAACAAATATAACGCTT ACAATTTAGTGGCACTTTTGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTGTTTATTTT CTAATGATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCTGATAAATGCTTCAA TAATATTGAAAAAGGAAGATAGATATTCAACATTCCGTGTCGCCCTATTCCCT TTTTTGGCGCATTTTGCCTTCTGTTTTTGTCTACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAA AGATGCTGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGTTACATCGAACTGGATCTCAACA GCGGTAAAGATCCTTGAGAGTTTTCGCCCGGAAGACGTTTTCCAATGATGAGCACTT TTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCGTTATTGACGCGGGCAAGAGCAAC TCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTACCCAGTACACAG AAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAAGTGTGCCATAACCA TGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAAACGATCGGAGGACCGAAGGAG CTAACCGCTTTTTTGCACAAATGGGGGATCATGTAACCTCGCTTGTATGCTTGGGAA CCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAACGACGAGCGTGACACACGATGCCTGTAGC AATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAAGTGGCGAACTACTTACTTAGCTTCCCG GCAACAATTAAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCT CGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGT TCTCGCGGTATCATTGACGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGT TATCTACACGACGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTG </p>
--	--

[0401]

		AGATAGGTGCCTCACTGATTAGCATTGGTAACGTGCAGACCAAGTTTACTCATATAT ACTTTAGATTGATTTAAACCTTCATTTTTAAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTT TTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGA CCCGGTAGAAAAGATCAAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTCTGCGCGTAATCTGC TGCTTGCAAAACAAAAAACACCGCTACCGAGCGTGTTGTTTGCCGGATCAAGAG CTACCAACTCTTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAACT GTTCTTTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGACACCGCCT ACATACCTCGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCG TGCTTTACCGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGG CTGAACCGGGGGTTCTGTCACACAGCCAGCTTGAGAGCGAACGACCTACACCGAA CTGAGATACTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCGAAGGGAGAAA GGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCGAGGTGCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGA GCTTCCAGGGGGAACGCGCTGTATCTTTATAGTCTGTCGGGTTTGCCACCTCTG ACTTGAAGCGTCGATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGA AAAACG CCAGCAACGCGCCTTTTTACGTTCTGGCCTTTTGCTGGCCTTTTGCTCACATGG TCTTCTGCTGCTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGC TGATACCGCTCGCCGACGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAA GCGGAGAGCGCCCAATACGCAAAACCGCCTCTCCCGCGCGTTGGCGATTTCATTAA TGCAGCTGCGCAGCAGGTTTTCCCGACTGGAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAA TTAATGGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGC TCGTATGTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGA CCATGATTACGCCAAGCGCGTCAATTAACCCCTCACTAAAGGGAAACAAAGCTGTTAA TTAA
66	베트릭스들 CD25 자리_IL12a_2 A_IL12b pCLS30520 원래 서열	GTTTATTATTCCTGTTCACAGCTATTGTCTGCCATATAAAAACTTAGGCCAGGCACA GTGGCTCACACCTGTAATCCAGCACTTTGGAAGGCCGAGGCAGGCAGATCACAAG GTGACGAGTTGAGACCAAGCTGGCCCAACATAGCAAAACCCCATCTCTACTAAAAAT ACAAAATTAGCCAGGCATGGTGGCGTGTGCACTGGTTTAGAGTGAGGACCACTTT TTTTGGTCCCTGTTACACATATGACCGTGACTTTGTTACACCACTACAGGAGGAA AGTAGAAGAACAAATCGGTTCTGGCGTGAACAGACTTTGAATTTGACCTTCTCAAGT TGCGCGGAGAGCTGGAGTCAACCCAGGGCCCATGTGCCCCCTGGGTCAAGCTC CCAGCCAGCCCTCACTGCGCGGCCACAGGTCTGCATCCAGCGGCTCGCCCT GTGTCCTGCACTGCCGCTCAGCATGTGTCCAGCGCGCAGCCTCCTCTGTGGC TACCCTGGTCTCTCTGGACCACTCAGTTTGCCAGAAACCTCCCGTGGCCACTC CAGACCCAGGAATGTTCCCATGCCTTCAACCACTCCCAAACTGCTGAGGGCCGTC AGCAACATGCTCCAGAAAGGCCAGACAACCTAGAAATTTTACCTTGCACTTCTGAA GAGATTGATCATGAAGATATCACAAGATAAAAACAGCAGTGGAGCCCTGTTTA CCATTGGAATTAACCAAGAAATGAGAGTTGCCATAATCCAGAGAGACCTCTTTCTAA CTAATGGGAGTTGCCCTGGCCTCCAGAAAGACCTCTTTTATGATGGCCCTGTGCCCTTA GTAGTATTATGAAGACTTGAAAGATGTACCAGGTGGAGTTCAGAGCCATGAATGCAA AGCTTCTGATGGATCCTAAGAGGCAGATCTTTCTAGATCAAAACATGCTGGCAGTTA TTGATGAGCTGATGCAGGCCCTGAATTTCAACAGTGAGACTGTGCCACAAAAATCCT CCCTTGAAAGAACCGGATTTTTATAAACTAAAAACAAGCTCTGCATACCTTCTCATGC TTTCAGAATTCGGGAGTGACTATTGATAGAGTGATGAGCTATCTGAATGCTTCCGG AAGCGAGCTACTAATTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAAAC CTGGACCTATGTGTACCAAGCAGTTGGTCACTCTTGTTTTCCCTGGTTTTCTGCG CATCTCCCTCGTGGCCATATGGGAACCTGAAGAAAGATGTTTATGTCGTAGAATTGG ATTGGTATCCGGATGCCCTTGAGAAATGGTGGTCTCACCTGTGACACCCCTGAA GAAGATGGTATCACCTGGACCTTGACCAGAGCAGTGAGGTCTTAGGCTCTGGCAA AACCTGACCATCCAAGTCAAAGAGTTTGAGAGTGTGGCCAGTACACCTGTACAA AGGAGGCGAGGTTCTAAGCCATTGCTCTCTGCTGCTTCAAAAAAGGAAGATGGA TTTTGTCCACTGATATTTAAAGGACCAAGAAACCCAAAAATAAGACCTTTCTAAG ATGCGAGGCCAAGAAATTATCTGGACGTTTCACTGCTGGTGGCTGACGACAATCAG TACTGATTGACATTCAAGTGTCAAAAGCAGCAGAGGCTCTTCTGACCCCAAGGGGT GACGTGCGGAGCTGCTACACTCTCTGCAGAGAGTCAAGAGGGGACAAACAGGAG TATGAGTACTCAGTGGAGTGCCAGGAGGACAGTGCCTGCCAGCTGCTGAGGAGA GTCTGCCATTGAGGTCTAGTGGATGCCGTTCAAGCTCAAGTATGAAAACTACA CCAGAGCTTCTCATCAGGACATCATAAACCTGACCCACCCAGAACTTGACAGC TGAAAGCATTAAAGAAATCTCGCAGGTGGAAGTCAAGTGGGAGTACCCTGACACC TGAGTACTCCACATTCCTACTTCTCCCTGACATTTCTGCGTTCAGGTCCAGGGCAAG AGCAAGAGAGAAAAAGAAAGATAGAGTCTTACCGACAAGACCTCAGCCACGGTCAT CTGCCGCAAAATGCCAGCATTAGCGTGCAGGGCCAGGACCGCTACTATAGCTCAT CTTGAGAGCGAATGGGCATCTGTGCCCTGCACTGAGGGCAGAGGCAGCCTGCTGAC CTGCCGGCGACGTCAGGAGAAACCCGGGCCCATGGGGGCAAGGTGCCACCGGCCG CGCCATGGACGGGCCGCGCTGCTGCTGTGTGCTGCTTCTGGGGGTGTCCTTGGA GGTGCCAAGGAGGCATGCCCCACAGGCCCTGTACACACACAGCGGTGAGTGTGCA

[0402]

	<p>AAGCCTGCAACCTGGGCGAGGGTGTGGCCAGCCTTGTGGAGCCAACCAGACCGT GTGTGAGCCCTGCCTGGACAGCGTGACGTTCTCCGACGTGGTGAGCGCAGCCGAG CCGTGCAAGCCGTGCACCGAGTGCCTGGGGCTCCAGAGCATGTCCGCGCCGTGCG TGGAGGCCGATGACGCCGTGTGGCCGTGCGCCTACGGCTACTACCAAGGATGAGAC GACTGGGCGCTGCGAGGCGTGCCTGTGTGCGAGGCGGGCTCGGGCCTCGTGTT CTCCTGCCAGGACAAGCAGAACCCGTGTGCGAGGAGTGCCCGCAGCGGCACGTAT TCCGACGAGGCCAACACAGTGGACCCGTGCCTGGCCTGCACCGTGTGCGAGGACA CCGAGCGCCAGCTCCCGAGTGCACACGCTGGGCCGACGCCGAGTGCAGGAGGA TCCCTGGCCGTTGGATTACACGGTCCACACCCCAAGGGCTCGGACAGCACAGC CCCAGCACCCAGGAGCCTGAGGCACCTCCAGAACAGACCTCATAGCCAGCACG GTGGCAGGTGTGGTGACACAGTGTGGGCAGCTCCAGCCCGTGGTGACCCGAG GCACCACCGACAACCTCATCCCTGTCTATTGTCTCCATCCTGGCTGTGTGGTTGTGG GTCTTGTGGCTTACATAGCCTTCAAGAGGTGAAAAACCAAAAGAACAAAGATTCTT GGTAAGAAGCCGGGAACAGACAAGATCATGAAGCCCAAGTAAATCAAAGGT GCTAAATGGTCGCCAGGAGACATCCGTTGTGCTTGCCTGCCGTTTGGAAAGCTCG AAGTCACATCAGAGGACACGGGGCAGTGGCAACCTTGTCTCTATGCCAGCTCAGTC CCATCAGAGAGCGAGCGCTACCCACTTCTAAATAGCAATTTCCGCGTTGAAGAGGAA GGGCAAAACCACTAGAACTCTCCATCTTATTTTCATGATATGTGTTTCATCGCATCGC TCCAGTGCCCGTCACTGGGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCGAGAAAGTTGG GGGGAGGGGTGCGCAATTGAACGGGTGCCTAGAGAAAGTGGCGCGGGGTAACCTG GGAAAGTGATGTCTGTACTGGCTCCGCTTTTCCGAGGGTGGGGGAGAACCGT ATATAAGTGACAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTCCGCAACGGGTTTCCCGCCAGAA CACAGCTGAAGCTTCCAGGGGCTCGCATCTCTCTTCCAGCGCCCGCCGCTTACC TGAGGCCGCCATCCAGCCGGTTGAGTCGCGTTCTGCCGCTCCCGCTGTGGTG CCTCCTGAACTGCGTCCGCGCTAGGTAAAGTTAAAGCTCAGTCCGAGACCGGGC CTTTGTCCGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGCTCTCCAGCCTTTG CCTGACCCCTGCTTGTCTCAACTACGCTTGTGTTTCTGTTCTGCGCCGTTAC AGATCAAGCTGTGACCGGCGCTTACCTGAGATCACCAGCGCCACCATGGCTTCTT ACCCCTGGACACGAGTGTCTTGTGCTTGTGACCGGCTGCCAGATCAGGGGCCAC TCCAAAGAGAGAACTGCCCTAAGACCCAGAAAGACAGCAGGAAGCCACTGAGGTGAG GCCTGAGCAGAAAGTGCACCCCTGCTGAGGGTGTACATTGATGACCTCATGGCA TGGGCAAGACCCACCCACTCAACTGCTGGTGGCACTGGGCTCCAGGGATGACATT GTGTATGTGCTGAGCCAATGACCTACTGGAGAGTGTAGGAGCCTCTGAGACCAT TGCCACACATCTACACCCAGCAGCAGGCTGGACAGGGAGAAATCTCTGCTGGAG ATGCTGCTGTGGTGATGACCTCTGCCAGATCAAAATGGGAATGCCATGTGCTGTGA CTGATGCTGTTCTGGCTCCTCACATTGGAGGAGAGGCTGGCTTCTCTAGCCCTC CACCTGCCCTGACCTGATCTTTGACAGACACCCCATTTGACGCTCTGCTGTCTACC CAGCAGCAAGGTACCTCATGGGCTCCATGACCCACAGGCTGTGCTGGCTTTTGTG GCCCTGATCCCTCCAAACCTCCCTGGCACCAACATTGTTCTGGGAGCACTGCCTGA AGACAGACACATTGACAGGCTGGCAAAGAGGCAGAGACCTGGAGAGAGACTGGAC CTGGCCATGCTGGCTGCAATCAGAAAGGTGTATGGACTGCTGGCAACACTGTGAG ATACCTCCAGTGTGGAGGCTCTTGGAGAGAGGACTGGGGACAGCTCTCTGGAACAG CAGTGCCCCCTCAAGGAGCTGAGCCCCAGTCCAATGCTGCTCAGAACCCACATT GGGGACACCCCTGTTACCCCTGTTACAGAGCCCTGAGCTGCTGGCTCCCAATGGAGA CCTGTACAATGTGTTGCCCTGGGCTGTGGATGTTCTAGCCAAAGAGGCTGAGGTCCAT GCATGTGTTTATCTGGACTATGACCACTCCCTGCTGGATGACAGATGCTCTGCT GCAACTAACTCTGGCATGTTGCGAGACCCATGTGACCAACCTGGCAGCATCCCCA CCATCTGTGACCTAGCCAGAACCTTTGCCAGGGAGATGGGAGAGGCCAACTAAGGC GCGCCACTCGAGCGCTAGCTGGCCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTGGAC AAACCACAACTAGAATGAGTGAGTGAATAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTATGCTAT TGCTTTATTTGTAACCATTAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAACAACAAATTGCATTC ATTTATGTTTACAGTTTCAAGGGGAGGTGTGGGAGGTTTTTAAAGCAAGTAAACCC TCTACAAATGTGGTATGGAAGCGCGCCCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGATTACG TCGCGCTCACTGGCCGCTGTTTTACAACGCTGACTGGGAAAAACCTGGCGTTAC CCAACTTAATCGCTTGCAGCACATCCCCCTTTGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGA GGCCCCGACCGAAACGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGGA CGCGCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGCGGGGTGTGGTGTACGCGCAGCGTGA CCGCTACACTTGGCAGCGCCCTAGCGCCGCTCCTTTCCCTTTCTCCCTTCTTTC TCGCCACGTTCCGCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGCTCCCTTAGGG TTCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTGCAGCCCAAAAACTTGATTAGGGGTATGGT TGGCTGTAGTGGGCCATAGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGAGGTTGGAGT CCAGCTTCTTTAATAGTGGACTTGTTCACAACTGGAAACACACTCAACCTATCTC GGCTATTCTTTGATTATAAGGGATTTTCCGATTTCCGGCTATTGGTTAAAAAT GAGCTGATTAAACAAAAATTAACGCCAATTTAAACAAATATTAACGCTTACAATTA GGTGGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTGTTTATTTTCTAAATAC ATTCAAAATGATCCGCTCATGAGACAATAACCTGATAAATGCTTCAATTAATATTGA AAAAGGAAGAGTATGAGTATCAACATTTCCGCTGTCGCCCTTATCCCTTTTTTGCGG</p>
--	---

[0403]

		<p>CATTTTGCCCTTCTGTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAGATGCTGA AGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGA TCCTTGAGAGTTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGACACTTTTAAAGTTCT GCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTGCGC GCATACACTATTCTCAGAAATGACTTGGTTGAGTACTACCACTCACAGAAAAGCATCT TACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCACTGCTGCCATAACCATGAGTGATAA CACTGCGGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTT TTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTGCCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGA ATGAAGCATACCAACGACGAGCGTGACACCAAGATGCTGTAGCAATGGCAACA ACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTGTAGCTTCCCGGCAACAATTA TAGACTGGATGGAGCGGATAAAGTTGACGAGCACTTCTGCGCTCGGCCCTCCG CCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGCTGAGCGTGGTTCTCGCGGTAT CATTCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTACACGA CGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCC TCATGATTAAGCATTGGTAAGTGTACAGCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGA TTTAAACCTTCATTTTTTAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTGATAATCTCAT GACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAA GATCCAAAGGATCTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAACA AAAAAACCCCGCTACCGCGGTGGTTTTGTTGCCGGATCAAGAGCTACCAACTCTT TTTCGGAAGGTAACCTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAATACTGTTCTTCTAGTG TAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCTACATACCTCGCT CTGCTTAATCCGTGTTACAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGCTTACCCG GTTGGAATCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGG GGTTCTGTCACACAGCCAGCTTGAGCGCAACGACCTACACCGAACTGAGATACCT ACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCGGAAGGGAGAAAGCGCGGACAG TATCCGGTAAGCGCGCAGGTCGGAACAGGAGAGCGCAGAGGGAGCTTCCAGGGG GAAACGCCCTGGTATCTTTATAGTCTCTCGGGTTTCCGCCCTCTGACTTGAGCGTC GATTTTTGTGATGCTGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGAACCAACGCGCAACGCG GCCTTTTTACGGTTCTCGGCCCTTTGCTGGCCCTTTGCTCACAATGGCTTTCTGCGT TATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTC GCCGAGCGCAACGACCGAGCGCAGCTGAGTGAGCGAGGAAGCGGAGAGCG CCCAATACGCAAAACCGCTCTCCCGCGCGTTGGCGATTCTTAATGCAAGCTGCG ACGACAGGTTTCCCGACTGGAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGTGAGT TGCTCACTCATTAGGCAACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGT GTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACG CAAAGCGCTCAATTAACCTCACTAAAGGGAACAAAGCTGTTAATTA</p>
67	<p>배트릭스들 PD1 자리_IL12a_2 A_IL12b pCLS30511 전체 서열</p>	<p>TCGCGCGTTTCGGTGATGACGGTGAAACCTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGACG GTCACAGCTTGTCTGTAAGCGGATGCCGGGAGCAGACAAGCCGTCAGGGCGCGT CAGCGGGTGTGGCGGGTGTGGGGCTGGCTTAACATGCGGCGATCAGAGCAGAT TGACTGAGAGTGACCATATGCGGTGTGAAATACCGCACAGATGCGTAAGGAGAA AATACCGCATCAGCGCCATTGCGCAATTCAGGCTGCGCAACTGTTGGGAAGGGCGA TCGGTCCGGGCTCTTTCGCTATTACGCCAGCTGGCGAAAGGGGGATGTGCTGCAA GGCGATTAAATTGGGTAAACGCCAGGGTTTTCCCAAGTCACGACGTTGTAACAGCAG GCCAGTGAATTGAGCTCGGTACCTCGCGAATGCATCTAGATGACTCCCCAGACAG GCCCTGGAACCCCGCCACCTTCTCCCGAGCCCTGCTCTGTTGACCGAAGGGGAC AACGCCACCTTCACTGACGCTTCTCCAACACATCGGAGAGCTTCTGCTAAACTGG TACCGCATGAGCCCCAGCAACCGAGCGGCAAGCTGGCGCCCTTCCCGAGGACC GCAGCCAGCCCGGCCAGGACTGCCGCTTCCGTGTCACACAAGTGCACCAACGGGCG TGACTTCCACATGAGCGTGGTCAGGGCCCGCGCAATGACAGCGGCACCTACCTCT GTGGGGCCGGTTCTGGCGTGAACAGACTTTGAATTTTGACCTTCTCAAGTTGGCG GGAGACGTGGAGTCAACCCAGGGCCCATGTGGCCCCCTGGGTGAGCTTCCAGC CACCGCCCTCACTGCCGCGGCCACAGGTCTGCATCCAGCGGCTCGCCCTGTGTC CCTGCACTGCCGGCTCAGCATGTGTCAGCGCGCAGCCCTCCTCTGTGGCTACCC TGGTCTCCTGGACCACTCAGTTTGGCCAGAAACCTCCCGTGGCCCACTCCAGAC CCAGGAATGTTCCCATGCCCTCACCACCTCCCAAACTCTGCTGAGGGCCGTCAGCAA CATGCTCCAGAAAGGCCAGACAAACTCTAGAATTTTACCTTTCGACTTCTGAAGAGAT TGATCATGAAGATATCAAAAAGATAAAACAGCAGTGGAGGCCCTGTTTACCAAT GGAAATTAACCAAGATGAGAGTTGCCTAAATTCAGAGAGACCTTTTCATACTAAT GGGAGTTGCTTGGCTCCAGAAAGACCTCTTTATGATGGCCCTGTGCTTAGTAGT ATTTATGAAGACTTGAAGATGACAGGTGGAGTTCAAGACCATGAATGCAAGGCTT CTGATGGATCCTAAGAGGCGAGATCTTTCTAGATCAAAACATGCTGGCAGTTATTGAT GAGCTGATGACAGGCCCTGAATTTCAACAGTGAGACTGTGCCACAAAAATCCTCCCTT GAAGAACCAGGATTTTATAAACTAAATCAAGCTCTGCATACCTTCTCATGCTTTCA GAATTCGGGCGAGTACTATTGATAGAGTGTAGGCTATCTGAATGCTCCCGGAAGCG GAGCTACTAATTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGA</p>

[0404]

	<p>CCTATGTGTACCAGCAGTTGGTCATCTCTTGGTTTTCCCTGGTTTTTCTGGCATCTC CCCTCGTGGCCATATGGGAAGTGAAGAAAGATGTTTATGTCGTAGAATTGGATTGGT ATCCCGATGCCCTGGAGAAATGGTGGTCTCACCTGTGACACCCCTGAAGAAAGAT GGTATACCTGGACCTTGGACCAGAGCAGTGAGGTCTTAGGCTCTGGCAAAACCT GACCATCCAAGTCAAAGAGTTTGGAGATGCTGGCCAGTACACCTGTCAAAAGGAG GCGAGGTTCTAAGCCATTGCTCTGCTGCTTACAAAAAGGAAGATGGAAATTTGGT CCACTGATATTTTAAAGGACCAGAAAGAACCCAAAAATAAGACCTTTCTAAGATGCGA GGCCAAAGAAATATTCTGGACGTTTACCTGCTGGTGGCTGACGACAAATCAGTACTGA TTTGACATTTCAGTGTCAAAGCAGCAGAGGCTCTTCTGACCCCAAGGGGTGACGT GCGGAGCTGTACACTCTCTGACAGAGAGTCAAGGGGACAAAGAGATGATGAG TACTCAGTGGAGTGCCAGGAGGACAGTGCCTGCCAGCTGCTGAGGAGAGTCTGC CCATTGAGGTCAATGGTGGATGCCGTTTCAAGCTCAAGTATGAAAACTACACAGCA GCTTCTTATCAGGGACATCATCAAACCTGACCCACCAAGAACTTGACGCTGAAGC CATTAAGAAATTTCTGGCAGGTGGAGGTGAGTGGGAGTACCTGACACCTGGAGT ACTCCATTCTACTTTCTCCTGACATTTCTGCTTCAAGTCCAGGGCAAGAGCAAG AGAGAAAAAGAAAGATAGAGTCTTACGGGACAAAGACCTGACCCAGGTGATCTGCCG CAAAATGCCAGCATTAGCGTGGGGGCCAGGACCGCTACTATAGCTCATCTTGA GCGAATGGGCATCTGTGCCCTGCAAGTGGGGCAGAGGCGAGCTGCTGACCTGCCG CGAGCTCAGGAGAGAACCCGGGCCCATGGGGCAGGTGCCACCGGCCGCGCAT GGACGGGCCGCGCTGCTGCTGTTGCTGCTTCTGGGGGTGCTCCTTGGAGGTGCC AAGGAGCATGCCCCACAGGCTGTACACACACAGCGGTGAGTGTGCAAAAGCT GCAACCTGGGGAGGGGTGTGCCAGCTTTGTGGAGCCAACAGACCGTGTGTGA GCCCTGCCCTGGACAGCGTGACGTTTCTCCAGCTGGTGAGCGCAGCCGAGCCGTGC AAGCCGTGGACCGAGTGGGTGGGGCTCCAGAGCATGTCCGGCGCCGTGCTGGAGG CCGATGACGCCGTGTGCCGCTGCCCTACGGCTACTACAGGATGAGACGACTGG GCGTGGAGGGCTGCCGCGTGTGCGAGGGGGCTCGGGCTCGTGTCTCTCCTGC CAGGACAGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCCCGCAGCGCAGTATTCCGAGC AGGCCAACACAGTGGACCGTGCCTGCCCTGACCGTGTGCGAGGACACCGAGCG CCAGCTCCGCGAGTGACACAGCTGGGCGCAGCCGAGTGCGAGGAGATCCCTGGC CGTTGAGATTACAGGTCCACACCCAGAGGGCTCGGACAGCACAGCCCCAGCA CCAGGAGCTGAGGCACCTCCAGAACAGACCTATAGCCAGCAGCGTGGCAGG TGTGGTGACACAGTGATGGGAGCTCCAGCCGCTGGTGACCCGAGGACACAC GACAACCTCATCCCTGTCTATTGCTCCATCCTGGCTGCTGTGTTGTGGGTCTTGTG GCCTCATAGCCTTCAAGAGGTGATCTAGAGGGCCGTTTAAACCCGCTGATCAGC CTCGACTGTGCCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTCCCTCCCGCTGCCCTTC CTTGACCTGGAAGGTGCCACTCCACTGTCTTTCTTAATAAATGAGGAAATTCG ATCGCATGTCTGAGTAGGTGTCTATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACA GCAAGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGATGCGGTGGGCTC TATGACTAGTGGCAATTCGGCGCAGATCAAAGAGAGCTGCGGGCAGAGCTCAGG GTGACAGGTGCCGCTCGGAGGCCCGGGGCGAGGGTGAGCTGAGCCGCTCTG GGGTGGGTGTCCCTCTGACAGGATCAGGAGCTCCAGGGTCTGAGGGCAGGGA CCCCCAGCTCCAGTCCAGGGCTCTGTCTGACCTGGGGAATGGTGACCGCAT CTCTGTCTCTAGCTCTGGAAGCAGCCAGCCCTCTAGTCTGCCCTACCCCTGA CCCTGACCTCCAGCTGACCCGCTCTTAACCCCTGACCTTTGATCGGATCCGGG CCGCTGACCTGACAGGGCTGATGCAAGCTTGGCGTAATCATGTATAGCTGTT TCCTGTGGAATTTATCTCGCTCACAATTCACACAACATACGAGCCGGAAGCAT AAAGTGTAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAGCTAACTACATTAAATTCGTTGCC CTCACTGCCGCTTTCCAGTGGGAAACCTGTGCTGCCAGCTGCATTAAATGAATC GCCAACGCGCGGGAGAGGCGGTTTGGTATTGGGCGCTCTTCCGCTTCTCGCT CACTGACTCGCTCGCTCGGTCTTCCGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCA AGGCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAGAATGTGA GCAAAAGGGCAGCAAAAGGGCAGGAACCGTAAAGGGCCGCTTGTGCGCTTTT CCATAGGCTCCGCCCTCCATCCAGTCAAAAAATCAGCTCAAGTCAGAGT GGCGAAACCCGACAGGACTATAAGATACAGGGCTTTCCCGCTGGAAGCTCCCTC GTGCGCTCTCTGTTCCGACCTGCGCTTACCGGATACCTGTCCGCTTTCTCCCT TCGGGAAGCGTGGCGCTTCTCATAGCTCAGCGTGTAGGTATCTCAGTTCGGTGA GGTGGTTCTGCTCCAGCTGGGCTGTGTGACGAAACCCCGTTACGCCGACCGCT GCGCTTATCCGGTAATATCTGCTTGTAGTCCAAACCGGTAAAGACAGCTTATCGC CACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGT ACAGAGTCTTGAAGTGGTGGCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTGGT ATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAGAAAGATTGGTAGCTCTTGATCC GGCAAAACAAACCCGCTGTTAGCGGTGTTTTTTGTTTGAAGCAGCAGATTACG CGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAGATCTTTGATCTTTTACGGGGTCTGACGCT CAGTGAAGCAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAGGATC TTCACCTAGATCCTTTAAATTAATAAGTATTAATCAATCTAAAGTATATATGA GTAACCTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGAT CTGTCTATTTCGTTTCATCCATAGTTGCTGACTCCCGCTGCTGTAGATAACTACGATA</p>
--	--

	<p>CGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTC ACCGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAACAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGAGAA GTGGTCTCGCAACTTTATCCGCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTA GAGTAAGTAGTTCCGCAAGTAAATAGTTTGGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCA TCGTGGTGTACGCTCGTCTTTGGTATGGCTTATTGAGCTCCGGTCCCAACGAT CAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTAGCTCCTTCGGTC CTCCGATCGTTGTGAGAAAGTAAGTTGGCCGAGTGTATCACTCATGGTTATGGCAG CACTGCATAATTTCTTACTGTATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGA GTACTCAACCAAGTCACTTCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCC GGCGCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAGCAGAACTTTAAAGTGTCTCATCAT TGGAACAGCTTCTTGGGGCGAAAACTCTCAAGGATCTTACCCTGTTGAGATCCAG TTCGATGTAACCCACTCGTGACCCCACTGATCTTCAAGCTCTTTACTTTCAACGAGC GTTTCTGGGTGAGCAAAAAAGGAAAGGCAAAATGCCGCAAAAAAGGGAATAAGGGC GACACGGAATGTTGAATCTCATCTCTCTCTTTTCAATATTATTGAAGCATTTATC AGGGTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGATTTTGAAGAAATAACCAAT AGGGGTTCCGCGCACATTTCCCGAAAAAGTGCCACCTGACGCTCAAGAAACCATAT TATCATGACATTAACCTATAAAAAATAGCGTATACAGAGGCCCTTTCGTC</p>
--	---

표 5: 실시예 2에 언급된 서열들

표 6

기호	설명	유도 비율 12 시간	T.8Nve.Sp.OT1	T.8Eff.Sp.OT1. 12hr.LisOva	T.8Eff.Sp.OT1. 48hr.LisOva	T.8Eff.Sp.OT1. d6.LisOva
Il3	인터루킨 21	16,4	12,8	208,9	18,4	13,6
Il2	인터루킨 3	97,0	16,0	1554,4	17,7	18,1
Ccl4	isopentenyl-diphosphate delta isomerase 2	2,1	16,8	35,6	17,6	19,7
Il21	granzyme C	9,2	17,4	160,5	20,4	24,9
Gp49a	케모카인 (C-C 모티프) 수용체 8	5,9	18,5	108,4	31,5	20,9
Cxcl10	인터루킨 2	58,4	21,1	1229,6	32,7	17,9
Nr4a3	인터루킨 1 수용체, 타입 I	2,6	21,2	54,6	35,5	21,7
Lilrb4	종양 괴사 인자 (리간드)	4,1	21,8	88,8	29,3	20,0
Cd200	상과(super 패밀리), 멤버 4	4,5	24,1	109,6	46,3	23,2
Cdkn1a	뉴런 칼슘 센서 1	3,1	26,2	80,9	49,1	32,8
Gzmc	CDK5 및 Abl 효소 기질 1					
Nr4a2	막관통 및 테트라트리아코펩타이드 만복 포함(포함) 2	2,0	26,8	53,9	26,2	29,4
Cish	LON 펩티다제 N-말단 도메인 및 링 펩터 1	3,2	28,4	90,4	50,4	28,3
Nr4a1	당단백질 49 A	15,0	31,6	472,4	30,6	212,5
Tnf	폴로(polo)-유사 키나제 2	3,6	31,7	114,3	39,0	32,5
Ccr8	리파제, 내피	2,1	32,4	66,7	35,9	33,3
Lad1	사이클린-의존적 키나제 억제제 1A (P21)	9,7	34,6	335,4	54,4	71,0
Slamf1	그레인니헤드(grainyhead)-유사 1 (조파리)	2,1	35,1	73,4	52,0	44,1
Crabp2	세포 헤티노산 결합 단백질 II	5,3	35,4	187,2	43,3	36,3
Furin	아데닐레이트 키나제 4	2,2	35,9	80,4	58,5	39,8
Gadd45g	미소관-관련 단백질 1B	2,1	36,2	77,7	36,4	38,4
Bcl2l1	아신-CoA 합성효소 장쇄 패밀리 멤버 6	2,0	37,2	76,0	45,2	41,3
	장크 펩터 E-박스 결합 호메오박스 2	2,1	38,6	80,7	44,9	455,4

[0409]

Ncs1	CD200 항원		9.8	41.2	404.3	70.4	36.8
Ciart	카르복시펩티다제 D		3.1	41.6	127.7	71.4	71.6
Ahr	티오레독신 리덕타제 3		3.6	43.4	157.8	61.7	28.8
Spry1	마이오신 IE		2.3	43.6	100.2	61.3	77.0
Tnfrsf4	멜티플 스플라이싱 2 를 갖는 RNA 결합 단백질		2.1	43.6	91.5	49.8	36.5
Myo10	미토겐-활성화된 단백질 키나제 키나제 3, 반대 가닥		2.9	44.8	127.9	66.4	43.1
Dusp5	PERP, TP53 세포멸사 효과기		2.8	44.9	127.2	78.4	72.4
Myc	마이오신 X		4.1	45.5	184.9	81.6	57.5
Psrc1	측지 초기 반응 3		2.7	45.6	121.6	63.9	66.2
St6galnac4	폴리콜린(folliculin) 상호작용 단백질 2		2.6	47.5	124.2	87.4	96.6
Nfkbid	백혈구 면역글로불린-유사 수용체, 서브패밀리 B, 멤버 4		9.9	48.9	483.3	64.5	179.1
Bst2	진사의 생물학적 주기(circadian) 관련 억제자(repressor)		4.5	50.6	225.5	100.3	33.8
Txnrd3	RAR-관련된 orphan 수용체 감마		2.1	51.7	106.7	47.5	52.8
Plk2	프롤린/세린-풍부 코일된 코일 1		3.9	52.9	205.9	92.3	79.6
Gfi1	시스테인 풍부 단백질 2		2.4	54.2	127.7	90.3	182.9
Pim1	cAMP 반응성 요소 조절자(modulator)		2.0	55.7	112.6	54.4	57.3
Pvt1	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 4		20.2	55.8	1125.8	103.1	89.0
Nfkbib	핵 수용체 서브패밀리 4, 그룹 A, 멤버 2		7.8	58.5	457.6	78.7	72.0
Gnl2	트랜글루타미나제(transglutaminase) 2, C 폴리펩타이드		2.3	58.7	132.1	69.8	64.7
Cd69	시냅스 결함(defective) 1, Rho GTPase, 상동체 2 (C, elegans)		2.1	62.5	132.7	111.3	31.0
Dgat2	스프라우티(sprouty) 상동체 1 (초파리)		4.2	63.8	268.5	76.8	61.4
Atf3	활성화된 진사 인자 3		3.2	65.8	210.3	88.3	75.8
Tnfrsf21	KRAB 도메인과 포고(pogo) 수용가-유한(transposable) 요소		2.9	68.6	196.9	91.1	293.2

[0410]

Lonrf1	종양 괴사 인자 수용체 상과, 멤버 21	3,2	70,6	224,5	126,5	72,9
Cables1	사이토키인 유도가능한 SH2-포함 단백질	7,5	74,3	558,7	82,5	133,9
Cpd	림포톡신 A	2,6	74,6	197,2	93,4	58,6
Qtrtd1	FB1 글육종 종양유전자	3,0	74,9	224,1	89,0	61,1
Polr3d	신호전달 림프구성 활성화 분자 패밀리 멤버 1	5,4	75,6	412,0	108,4	190,4
Kcnq5	신데칸(syndecan) 3	2,4	76,0	180,0	77,2	85,3
Fos	미토콘드리아 리보솜 단백질 L47	2,1	77,2	161,7	152,0	72,3
Sic19a2	라디닌	5,5	77,3	423,2	152,5	70,4
Hif1a	E2F 전사 인자 5	2,5	77,7	198,0	92,0	65,2
Ii15ra	ISG15 유비퀴틴-유사 변형자	2,8	77,9	221,0	88,9	45,1
Nfkb1	아릴 탄화수소 수용체	4,2	78,7	333,2	145,7	91,4
Phlda3	디아실글리세롤 O-아실트랜스페라제 2	3,2	81,0	259,2	150,0	84,4
Mtrr	FB1 글육종 종양유전자 B	2,0	81,3	163,7	139,3	98,5
Pogk	플렉스트린(pleckstrin) 상동성-유사 도메인, 패밀리 A, 멤버 3	2,9	84,8	244,5	126,9	83,8
Map2k3os	칼슘 전위 의존성 통로, 서브패밀리 Q, 멤버 5	3,0	86,3	261,0	118,1	63,4
Egr2	종양 괴사 인자 수용체 상과, 멤버 10b	2,5	88,6	219,0	106,1	51,0
Isg15	Mir17 숙주유전자 1 (비-단백질 코딩)	2,1	90,4	190,1	120,0	51,2
Perp	글루코스-프럭토스 옥시도 리덕타제 도메인 포함 1	2,2	92,9	208,5	168,7	237,4
Ipo4	플렉신 A1	2,1	94,8	200,7	118,0	90,3
Mphosph10	숙주 쇼크 인자 2	2,4	96,8	233,2	191,0	104,8
Plk3	탄수화물 설포트랜스페라제 11	2,4	96,8	235,1	180,8	385,7
Ifitm3	성장 중지 및 DNA-손상-유도가능한 45 감마	4,8	104,6	504,8	109,3	95,0
Polr1b	용질 담체 패밀리 5 (나트륨-의존적 비타민 수송자), 멤버 6	2,1	107,0	227,3	192,8	75,8
Usp18	인터페론 유도된 막관통 단백질 3	2,8	109,2	302,6	43,9	106,4
Top1mt	DENN/MADD 도메인 포함 5A	2,6	109,5	279,9	102,0	517,4

[0411]

Dkc1	플라스미드-노진 활성제, 우로키나제 수용체 융질 담체 페밀리 19 (티아민 수용자), 멤버 2	2,1	112,4	234,8	55,7	57,3
Polr1c	유비쿼틴 도메인 포함 2	3,0	115,4	343,1	221,7	138,4
Cdk6	핵 수용체 서브페밀리 4, 그룹 A, 멤버 3	2,2	117,4	255,7	198,9	122,2
Ier3	정크 펌프 단백질 52	11,8	118,0	1394,1	114,2	69,6
Lta	SH3 도메인 포함 링 펌프 1	2,5	118,8	295,6	160,9	167,4
Ptprs	디하이드로유리딘(dihydrouridine) 신타제 2	2,4	119,3	280,9	116,5	156,5
Fnip2	사이클린-의존적 키나제 5, 조절 서브유닛 1 (p35)	2,1	122,7	260,3	237,7	202,8
Asna1	전구체 7 의 가공, 리보뉴클레아제 P 페밀리, (S, 세레비지에)	2,1	122,7	259,3	168,4	124,0
Mybbp1a	성장 인자 독립적 1	2,1	125,9	264,9	235,7	150,6
Ilir1	인터루킨 15 수용체, 알파 체인	3,5	126,8	437,7	212,0	156,6
Dennd5a	BC12-유사 1	2,9	130,9	380,1	144,3	167,8
E2f5	단백질 티로신포스파타제, 수용체 타입, S	4,7	133,7	627,4	257,4	231,2
Rcl1	형질세포종 변종 자라이동 1	2,6	136,6	358,8	157,5	125,0
Fosl2	포스(fos)-유사 항원 2	3,4	136,7	465,5	179,8	140,7
Atad3a	BC12-관련 X 단백질	2,5	137,0	347,5	107,2	177,8
Bax	용질 담체 페밀리 4, 나트륨 중탄산염 공동 수용자, 멤버 7	2,5	138,0	347,3	260,1	150,2
Phf6	종양 괴사 인자 수용체 상과, 멤버 4	2,3	140,3	328,2	258,7	397,5
Zfp52	케모카인 (C-X-C 모티프) 리간드 10	2,2	141,7	311,1	161,7	111,6
Crtam	폴로(polo)-유사 키나제 3	12,7	141,7	1798,3	242,1	59,4
Nop14	CD3E 항원, 캡실론 폴리펩타이드 관련 단백질	2,8	144,8	406,3	200,1	119,9
Rel	종양 괴사 인자 (리간드) 상과, 멤버 11	2,2	158,7	350,2	260,9	111,4
Gramd1b	폴리메라제 (RNA) III (DNA 항하는) 폴리펩타이드 D	2,1	162,4	342,1	242,1	169,7
Ifi272a	조기 성장 반응 2	3,0	166,3	503,7	296,1	121,6
Tnfrsf10b		2,8	173,5	494,0	136,3	68,2

[0412]

Rpl711	DnaJ (Hsp40) 상동체, 서브페밀리 C, 멤버 2	2,1	173,6	369,4	346,2	254,3
Eif1a	DNA 토포이소메라제 1, 미토콘드리아	2,7	182,2	498,2	338,6	114,4
Nfkб2	세 부분(tripartite) 모티프-포함 30D	2,3	182,6	423,4	65,8	90,6
Heatr1	DnaJ (Hsp40) 상동체, 서브페밀리 C, 멤버 21	2,0	190,1	389,4	285,5	228,2
Utp20	SAM 도메인, SH3 도메인 및 핵 국지화 신호, 1	2,2	191,5	422,1	222,8	304,1
Chst11	용질 담체 페밀리 5 (이노시톨 수송자들), 멤버 3	2,1	191,6	400,2	210,0	123,4
Ddx21	미토콘드리아 리보솜 단백질 L15	2,1	191,6	396,3	329,8	137,7
Hsf2	이중 특이성 포스포타제 5	4,0	203,5	818,1	307,5	560,7
Bccip	세포자멸사 향상시키는 뉴클레아제	2,3	211,1	478,5	288,2	137,9
Tagap	ets 변종 6	2,3	218,3	508,1	220,5	297,3
Sdc3	DIM1 디메틸아데노신 트랜스페라제 1- 유사 (S, 세레비지예)	2,2	218,4	486,0	356,0	129,7
Syt13	2'-5'-올리고아데닐레이트 합성효소-유사 1	2,1	229,0	473,3	130,7	124,3
Gtpbp4	UTP18, 작은 서브유닛 (SSU) 프로세솜 요소, 상동체 (효모)	2,1	232,0	494,3	384,9	189,5
Crip2	BRCA2 및 CDKN1A 상호작용하는 단백질	2,4	234,6	563,3	437,5	269,8
Sh3rf1	시나프토타스민-유사 3	2,4	242,4	572,9	316,7	700,7
Nsfl1c	5-메틸테트라하이드로플레이트-호모시스테인 메틸트랜스페라제 리티타제	2,9	245,7	706,5	334,6	150,6
Gtf2f1	URB2 리보솜 생물발생 2 상동체 (S, 세레비지예)	2,0	245,7	500,2	489,8	184,6
Slc4a7	유비퀴틴-콘주게이트 효소 E2C 결합 단백질	2,1	251,2	530,5	288,2	85,2
Etv6	라이신 (K)-특이적 디메틸라제 2B	2,2	251,8	547,1	332,7	262,1
Trim30d	퀴린(queuine) tRNA-리보솜트랜스페라제 도메인 포함 1	3,0	260,3	788,7	358,0	75,5
Ddx27	유비퀴틴 특이적 펩티다제 31	2,0	265,2	533,2	277,1	176,2
Pwp2	진핵생물 번역 개시 인자 2-알파 키나제 2	2,0	267,7	540,5	260,8	244,8

[0413]

Chchd2	ATPase 펌핑, AAA 도메인 포함 3A	2,5	268,8	679,7	523,1	147,1
Myo1e	무작 분자, CXADR 항원 1 과 상호작용	2,3	269,5	610,9	272,9	182,8
Eif5b	SUMO/세트린 특이적 펩티다제 3	2,0	272,5	548,7	544,5	298,4
Stat5a	ESF1, 인의(nucleolar) 프리(pre)-rRNA 가공 단백질, 상동체 (S, 세레비지에)	2,2	276,3	610,4	482,2	266,5
Cops6	단독시뉴클레오티드 트랜스페라제, 말단, 상호작용하는 단백질 2	2,1	282,9	600,4	359,9	326,1
Di19Bvg1357e	TGFB-유도된 인자 호메오박스 1	2,1	300,5	618,9	217,5	210,6
Aatf	진핵생물 번역 개시 인자 1A	2,5	300,8	738,7	597,7	262,8
Aen	인티페론-자극된 단백질	2,1	305,7	651,2	144,3	138,4
Amica1	플레이오모र्फ(pleiomorphic) 선종 유전자-유사 2	2,1	311,5	651,9	376,2	405,9
Wdr43	PWP2 주기적인 트립토판 단백질 상동체 (호모)	2,3	321,8	743,3	586,5	189,3
Cct4	푸린(furin) (핵진 염기성 아미노산 절단 효소)	5,2	329,7	1728,3	271,7	421,5
Nifk	종양 괴사 인자	6,6	330,7	2188,4	489,9	213,3
Tgm2	세포자멸사 길항작용하는(antagonizing) 진사 인자	2,3	331,4	754,8	523,1	221,5
Ero1l	인티페론, 알파-유도가능한 단백질 27 유사 2A	2,5	334,0	828,1	296,0	221,4
Gfod1	ST6 (알파-N-아세틸-뉴라미닐-2,3-베타- 갈락토실-1,3)-N-아세틸갈락토스아미니다스	3,9	338,4	1311,3	636,0	298,2
Ak4	알파-2,6-시알릴트랜스페라제 4 베틸트랜스페라제 유사 1	2,2	339,4	744,7	662,8	94,5
Sdad1	노치없는(notchless) 상동체 1 (초파리)	2,0	339,4	690,3	610,3	158,1
Dlmt1	미토콘드리아 리보솜 단백질 L3	2,1	340,0	725,5	651,4	359,8
Esf1	UBX 도메인 단백질 2A	2,1	343,8	732,9	532,1	428,5
Cd3eap	구아닌 뉴클레오타이드 결합 단백질-유사 2 (인의)	3,2	347,6	1124,7	647,4	227,5

[illegible]

	27						
Naa25	폴리메라제 (RNA) I 폴리펩타이드 B		2,8	556,2	1536,0	1070,4	201,3
Plaur	종양 괴사 인자, 알파-유도된 단백질 3		2,2	560,6	1212,2	255,5	446,0
Metap1	절 조절자(nodal modulator) 1		2,1	563,0	1161,0	988,9	439,8
Alg3	NOP14 인의(nucleolar) 단백질		2,5	570,9	1418,9	925,3	398,0
Mrp115	리보솜 단백질 L7-유사 1		2,5	586,7	1448,7	1030,2	687,2
Oas1	메티오닐 아미노펩티다제 1		2,1	597,5	1244,1	1139,3	433,4
	저산소증 유도가능한 인자 1, 알파						
Rorc	서브유닛		3,0	624,2	1854,6	809,4	838,4
Nomo1	Janus 키나제 2		2,1	624,5	1328,7	390,6	917,8
	B 세포들 1 에서 카파 가변운 폴리펩타이드						
Tgfr1	유전자 인헨서의 핵 인자, p105		2,9	661,5	1913,3	713,9	720,5
Lipg	망상내피증 종양유전자		2,5	678,9	1686,4	409,8	580,5
Rrn3	셈틴 2		2,1	687,3	1436,0	1354,1	1181,3
	MKI67 의 FHA 도메인과 상호작용하는 인						
Dnajc21	단백질		2,3	733,4	1658,2	1280,0	407,2
Yrdc	신장 인자 Tu GTP 결합 도메인 포함 2		2,0	739,3	1483,5	1439,0	904,3
Acsi6	골수세포증 종양유전자		4,0	761,0	3022,8	1064,0	211,5
Spata5	각하이상증 선천성 1, dyskerin		2,7	778,2	2112,0	1549,5	484,2
	뇌실 3 에서 발현되는 카르니틴 결핍-관련						
Urb2	유전자		2,1	801,6	1718,2	1274,7	1010,3
Nle1	GTP 결합 단백질 4		2,4	824,2	1942,6	1578,7	567,3
Wars	HEAT 반복 포함 1		2,4	830,3	2020,6	1235,5	495,4
	프로테오솜 (프로솜,						
	마크로페인(macropain)) 활성제 서브유닛 3						
Crem	(PA28 감마, Ki)		2,1	838,4	1763,5	1471,1	936,1
	La 리 보뉴클레오단백질 도메인 패밀리,						
Larp1	멤버 1		2,0	861,7	1742,1	1250,9	854,3
	DNA 부분, Chr 19, 발현되는 Brigham &						
Eif2ak2	Women's Genetics 1357		2,3	868,6	1978,4	1218,0	653,4

Hyu1	진핵생물 번역 개시 인자 3, 서브유닛 D		2,2	909,1	1971,6	1641,9	920,6
Serp3	TSR1 20S rRNA 촉적		2,1	913,9	1915,9	1474,6	477,2
Tmtc2	MYB 결합 단백질 (P160) 1a		2,6	1140,0	2962,9	2200,7	459,8
Fosb	T 세포 활성화 Rho GTPase 활성화하는 단백질		2,4	1176,7	2794,4	489,3	704,2
Pdcd11	RAB8B, 펩타이드 RAS 종양유전자 페밀리		2,1	1189,5	2492,2	1671,3	2512,5
Usp31	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) 박스 폴리펩타이드 21		2,4	1210,2	2928,0	2221,1	1098,2
Cdk8	사페로닌 포함 Tcp1, 서브유닛 4 (delta)		2,3	1321,4	2989,7	2462,5	1294,8
Eftud2	코일된-코일-헬릭스-코일된-코일-헬릭스 도메인 포함 2		2,3	1374,2	3171,2	2636,9	1008,9
Fam60a	WD 반복 도메인 43		2,3	1727,6	3912,6	2927,5	1014,9

표 6; T-세포 활성화에 반응성인 선호되는 인간 내생 유전자 자리들

표 7

기호	유전자 설명
CD3G	CD3 감마
Rn28s1	28S 리보솜 RNA
Rn18s	18S 리보솜 RNA
Rn7sk	RNA, 7SK, 핵
Actg1	액틴, 감마, 세포질 1
B2m	베타-2 마이크로글로불린
Rpl18a	리보솜 단백질 L18A
Pabpc1	폴리(A) 결합 단백질, 세포질 1
Gapdh	글리세르알데하이드-3-포스페이트 디하이드로게나제
Rpl19	리보솜 단백질 L19
Rpl17	리보솜 단백질 L17
Rplp0	리보솜 단백질, 큰, P0
Cfl1	코릴린 1, 비-근육
Pfn1	프로필린 1

[0419]

[0420] 표 7: (T-세포 활성화에 독립적이거나 또는 의존적인) 면역 세포 활성화 동안 끊임없이 활성화인 선호되는 내생 유전자들의 선택

표 8

기호	유전자 설명
Il3	인터루킨 3
Il2	인터루킨 2
Ccl4	케모카인 (C-C 모티프) 리간드 4
Il21	인터루킨 21
Gp49a	당단백질 49 A
Nr4a3	핵 수용체 서브패밀리 4, 그룹 A, 멤버 3
Lilrb4	백혈구 면역글로불린-유사 수용체, 서브패밀리 B, 멤버 4
Cd200	CD200 항원
Cdkn1a	사이클린-의존적 키나제 억제제 1A (P21)
Gzmc	그랜자임 C
Nr4a2	핵 수용체 서브패밀리 4, 그룹 A, 멤버 2
Cish	사이토카인 유도가능한 SH2-포함 단백질
Ccr8	케모카인 (C-C 모티프) 수용체 8
Lad1	라디닌
Crabp2	세포 레티노산 결합 단백질 II

[0421]

[0422]

[0423] 표 8: T-세포 활성화 되면 일시적으로 상향조절되는 유전자들의 선택

표 9

기호	설명
Gzmb	그랜자임 B
Tbx21	T-박스 21
Pdcd1	프로그래밍된 세포사 1
Plek	플렉스트린
Chek1	체크포인트 키나제 1
Slamf7	SLAM 패밀리 멤버 7
Zbtb32	징크 핑거 및 BTB 도메인 포함 32
Tigit	Ig 및 ITIM 도메인들을 가진 T 세포 면역수용체
Lag3	림프구-활성화 유전자 3
Gzma	그랜자임 A
Wee1	WEE 1 상동체 1 (S. pombe)
Il12rb2	인터루킨 12 수용체, 베타 2
Ccr5	케모카인 (C-C 모티프) 수용체 5
Eea1	조기 엔도솜항원 1
Dtl	덴디클(denticle) 없는 상동체 (초파리)

[0424]

[0425] 표 9: T-세포 활성화 되면 24 시간 초과 넘게 상향조절되는 유전자들의 선택

표 10

기호	유전자 설명
Spata6	정자생성 관련 6
Itga6	인테그린 알파 6
Rcbtb2	염색체 응축 조절자(regulator of chromosome condensation) (RCC1) 및 BTB (POZ) 도메인 포함 단백질 2
Cd1d1	CD1d1 항원
St8sia4	ST8 알파-N-아세틸-뉴라미드 알파-2,8-시알릴트랜스페라제 4
Itgae	인테그린 알파 E, 상피-관련
Fam214a	서열 유사도 214, 멤버 A 를 가진 패밀리
Slc6a19	용질 담체 패밀리 6 (뉴로트랜스미터 수송자), 멤버 19
Cd55	CD55 항원
Xkrx	X Kell 혈액 그룹 전구체 관련된 X 연결된
Mturn	마투린(maturin), 신경 전구세포 분화 조절자 상동체 (Xenopus)
H2-Ob	조직접합성 2, O 영역 베타 자리
Cnr2	카나비노이드 수용체 2 (macrophage)
Itgae	인테그린 알파 E, epithelial-관련
Raver2	리보뉴클레오단백질, PTB-결합 2
Zbtb20	징크 핑거 및 BTB 도메인 포함 20
Arrb1	아레스틴, 베타 1
Abca1	ATP-결합 카세트, 서브-패밀리 A (ABC1), 멤버 1
Tet1	tet 메틸사이토신 디옥시게나제 1
Slc16a5	용질 담체 패밀리 16 (모노카르복실산 수송자들), 멤버 5
Trav14-1	T 세포 수용체 알파 가변 14-1
Ampd3	아데노신 모노포스페이트 디아미나제 3

[0426]

[0427] 표 10: 면역 세포 활성화 되면 하향조절되는 유전자들의 선택

표 11

기호	유전자 설명
Zfp640	징크 핑거 단백질 640
LOC100038422	특성화 되지 않은 LOC100038422
Zfp600	징크 핑거 단백질 600
Serpinb3a	세린 (또는 시스테인) 펩티다제 억제제, clade B (난백 알부민), 멤버 3A
Tas2r106	taste 수용체, 타입 2, 멤버 106
Magea3	흑색종 항원, 패밀리 A, 3
Omt2a	난모세포성숙, 알파
Cpxcr1	CPX 염색체 영역, 후보 1
Hsf3	열쇼크 전사 인자 3
Pbsn	프로바신(Probasin)
Sbp	스페르민 결합 단백질
Wfdc6b	WAP 사(four)-디설파이드 코어 도메인 6B
Meiob	OB 도메인들 특이적 감수분열
Dnm3os	다이나민 3, 반대 가닥
Skint11	상피 T 세포들 11의 선택 및 유지

[0428]

[0429] 표 11: T-세포 활성화 되면 침묵하는 인간 유전자들의 선택 (더 안 전한 항구 유전자 타겟이 된 통합 자리들).

표 12

유전자 명칭들	Uniprot ID (인간)
CXCL13	O43927
TNFRSF1B	P20333
RGS2	P41220
TIGIT	Q495A1
CD27	P26842
TNFRSF9	Q12933
SLA	Q13239
INPP5F	Q01968
XCL2	Q9UBD3
HLA-DMA	P28067
FAM3C	Q92520
WARS	P23381
EIF3L	Q9Y262
KCNK5	O95279
TMBIM6	P55061
CD200	P41217
C3H7A	O60880
SH2D1A	O60880
ATP1B3	P54709
THADA	Q6YHU6
PARK7	Q99497
EGR2	P11161
FDFT1	P37268
CRTAM	O95727
IFI16	Q16666

[0430]

[0431] 표 12: 본 발명에 따라 외인성 코딩 서열들의 유전자 통합에 유용한 (다중 종양으로부터 얻어진) 종양 소모된 침윤성 림프구들에서 상향조절되는 유전자 자리들의 목록.

표 13

유전자 명칭들	전략	
<u>CTLA-4</u>	<u>KO/KI</u>	T 세포 고갈 및 전산소증 노출되면 T-세포들에서 상향조절되는 것으로 알려진 타겟
<u>LAG-3 (CD223)</u>	<u>KO/KI</u>	
<u>PD1</u>	<u>KO/KI</u>	
<u>4-1BB (CD137)</u>	<u>KI</u>	
<u>GITR</u>	<u>KI</u>	
<u>OX40</u>	<u>KI</u>	
<u>IL10</u>	<u>KO/KI</u>	
<u>ABCB1</u>	<u>KI</u>	HIF 타겟
<u>ABCG2</u>	<u>KI</u>	
<u>ADM</u>	<u>KI</u>	
<u>ADRA1B</u>	<u>KI</u>	
<u>AK3</u>	<u>KI</u>	
<u>ALDOA</u>	<u>KI</u>	
<u>BHLHB2</u>	<u>KI</u>	
<u>BHLHB3</u>	<u>KI</u>	
<u>BNIP3</u>	<u>KI</u>	
<u>BNIP3L</u>	<u>KI</u>	
<u>CA9</u>	<u>KI</u>	
<u>CCNG2</u>	<u>KI</u>	
<u>CD99</u>	<u>KI</u>	
<u>CDKN1A</u>	<u>KI</u>	
<u>CITED2</u>	<u>KI</u>	
<u>COL5A1</u>	<u>KI</u>	
<u>CP</u>	<u>KI</u>	
<u>CTGF</u>	<u>KI</u>	

[0432]

<u>CTSD</u>	<u>KI</u>	
<u>CXCL12</u>	<u>KI</u>	
<u>CXCR4</u>	<u>KI</u>	
<u>CYP2S1</u>	<u>KI</u>	
<u>DDIT4</u>	<u>KI</u>	
<u>DEC1</u>	<u>KI</u>	
<u>EDN1</u>	<u>KI</u>	
<u>EGLN1</u>	<u>KI</u>	
<u>EGLN3</u>	<u>KI</u>	
<u>ENG</u>	<u>KI</u>	
<u>ENO1</u>	<u>KI</u>	
<u>EPO</u>	<u>KI</u>	
<u>ETS1</u>	<u>KI</u>	
<u>FECH</u>	<u>KI</u>	
<u>FN1</u>	<u>KI</u>	
<u>FURIN</u>	<u>KI</u>	
<u>GAPDH</u>	<u>KI</u>	
<u>GPI</u>	<u>KI</u>	
<u>GPX3</u>	<u>KI</u>	
<u>HK1</u>	<u>KI</u>	
<u>HK2</u>	<u>KI</u>	
<u>HMOX1</u>	<u>KI</u>	
<u>HSP90B1</u>	<u>KI</u>	
<u>ID2</u>	<u>KI</u>	
<u>IGF2</u>	<u>KI</u>	
<u>IGFBP1</u>	<u>KI</u>	
<u>IGFBP2</u>	<u>KI</u>	
<u>IGFBP3</u>	<u>KI</u>	
<u>ITGB2</u>	<u>KI</u>	

[0433]

<u>KRT14</u>	<u>KI</u>	
<u>KRT18</u>	<u>KI</u>	
<u>KRT19</u>	<u>KI</u>	
<u>LDHA</u>	<u>KI</u>	
<u>LEP</u>	<u>KI</u>	
<u>LOX</u>	<u>KI</u>	
<u>LRP1</u>	<u>KI</u>	
<u>MCL1</u>	<u>KI</u>	
<u>MET</u>	<u>KI</u>	
<u>MMP14</u>	<u>KI</u>	
<u>MMP2</u>	<u>KI</u>	
<u>MXI1</u>	<u>KI</u>	
<u>NOS2A</u>	<u>KI</u>	
<u>NOS3</u>	<u>KI</u>	
<u>NPM1</u>	<u>KI</u>	
<u>NR4A1</u>	<u>KI</u>	
<u>NT5E</u>	<u>KI</u>	
<u>PDGFA</u>	<u>KI</u>	
<u>PDK1</u>	<u>KI</u>	
<u>PFKFB3</u>	<u>KI</u>	
<u>PFKL</u>	<u>KI</u>	
<u>PGK1</u>	<u>KI</u>	
<u>PH-4</u>	<u>KI</u>	
<u>PKM2</u>	<u>KI</u>	
<u>PLAUR</u>	<u>KI</u>	
<u>PMAIP1</u>	<u>KI</u>	
<u>PPP5C</u>	<u>KI</u>	
<u>PROK1</u>	<u>KI</u>	
<u>SERPINE1</u>	<u>KI</u>	

[0434]

<u>SLC2A1</u>	<u>KI</u>	
<u>TERT</u>	<u>KI</u>	
<u>TF</u>	<u>KI</u>	
<u>TFF3</u>	<u>KI</u>	
<u>TFRC</u>	<u>KI</u>	
<u>TGFA</u>	<u>KI</u>	
<u>TGFB3</u>	<u>KI</u>	
<u>TGM2</u>	<u>KI</u>	
<u>TPI1</u>	<u>KI</u>	
<u>VEGFA</u>	<u>KI</u>	
<u>VIM</u>	<u>KI</u>	
<u>TMEM45A</u>	<u>KI</u>	
<u>AKAP12</u>	<u>KI</u>	
<u>SEC24A</u>	<u>KI</u>	
<u>ANKRD37</u>	<u>KI</u>	
<u>RSBN1</u>	<u>KI</u>	
<u>GOPC</u>	<u>KI</u>	
<u>SAMD12</u>	<u>KI</u>	
<u>CRKL</u>	<u>KI</u>	
<u>EDEM3</u>	<u>KI</u>	
<u>TRIM9</u>	<u>KI</u>	
<u>GOSR2</u>	<u>KI</u>	
<u>MIF</u>	<u>KI</u>	
<u>ASPH</u>	<u>KI</u>	
<u>WDR33</u>	<u>KI</u>	
<u>DHX40</u>	<u>KI</u>	
<u>KLF10</u>	<u>KI</u>	
<u>R3HDM1</u>	<u>KI</u>	
<u>RARA</u>	<u>KI</u>	

[0435]

<u>LOC162073</u>	<u>KI</u>	
<u>PGRMC2</u>	<u>KI</u>	
<u>ZWILCH</u>	<u>KI</u>	
<u>TPCN1</u>	<u>KI</u>	
<u>WSB1</u>	<u>KI</u>	
<u>SPAG4</u>	<u>KI</u>	
<u>GYS1</u>	<u>KI</u>	
<u>RRP9</u>	<u>KI</u>	
<u>SLC25A28</u>	<u>KI</u>	
<u>NTRK2</u>	<u>KI</u>	
<u>NARF</u>	<u>KI</u>	
<u>ASCC1</u>	<u>KI</u>	
<u>UFM1</u>	<u>KI</u>	
<u>TXNIP</u>	<u>KI</u>	
<u>MGAT2</u>	<u>KI</u>	
<u>VDAC1</u>	<u>KI</u>	
<u>SEC61G</u>	<u>KI</u>	
<u>SRP19</u>	<u>KI</u>	
<u>JMJD2C</u>	<u>KI</u>	
<u>SNRPD1</u>	<u>KI</u>	
<u>RASSF4</u>	<u>KI</u>	

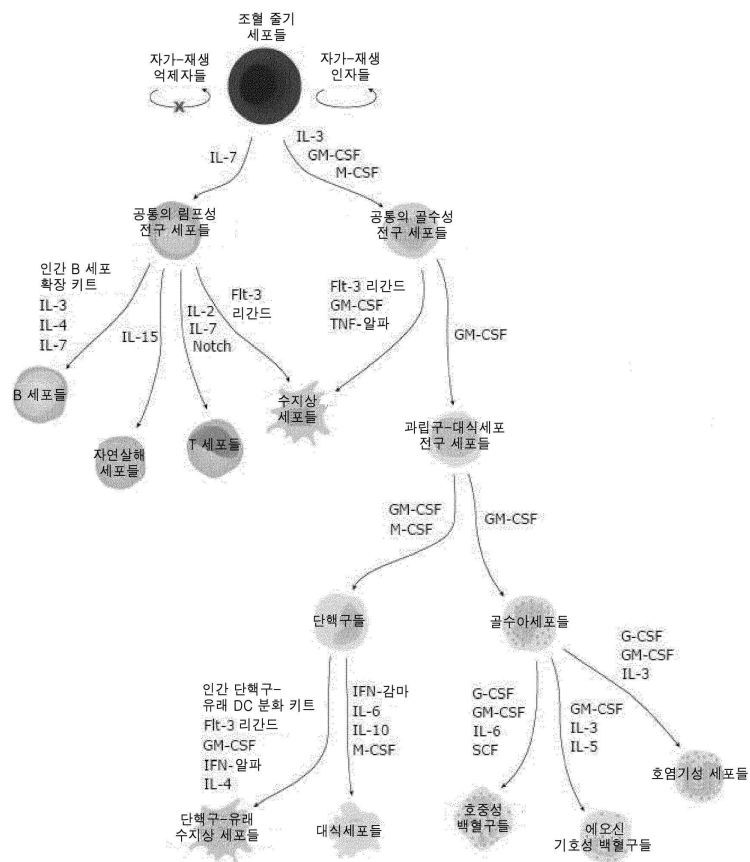
[0436]

[0437]

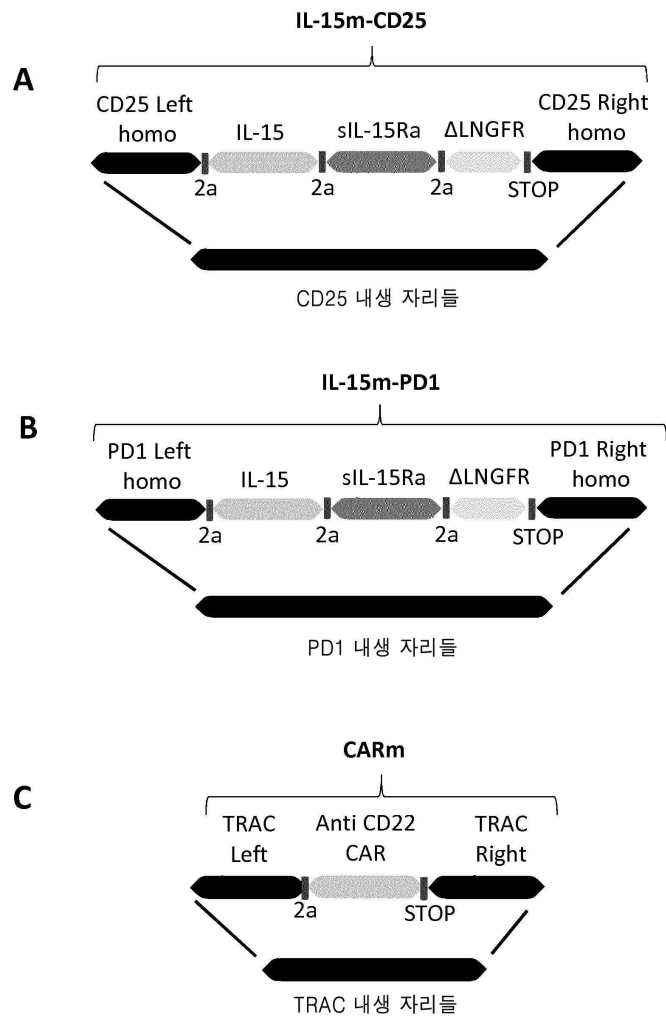
표 13: 본 발명에 따라 외인성 코딩 서열들의 유전자 통합에 유용한 저산소(hypoxic) 종양 조건들에서 상향조절된 유전자 자리들의 목록.

도면

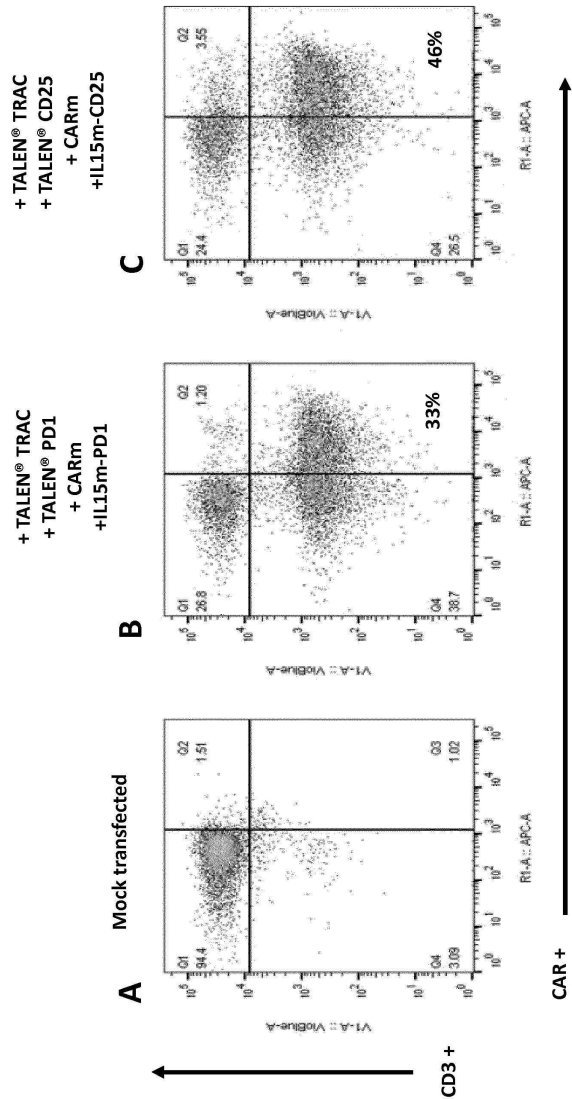
도면1



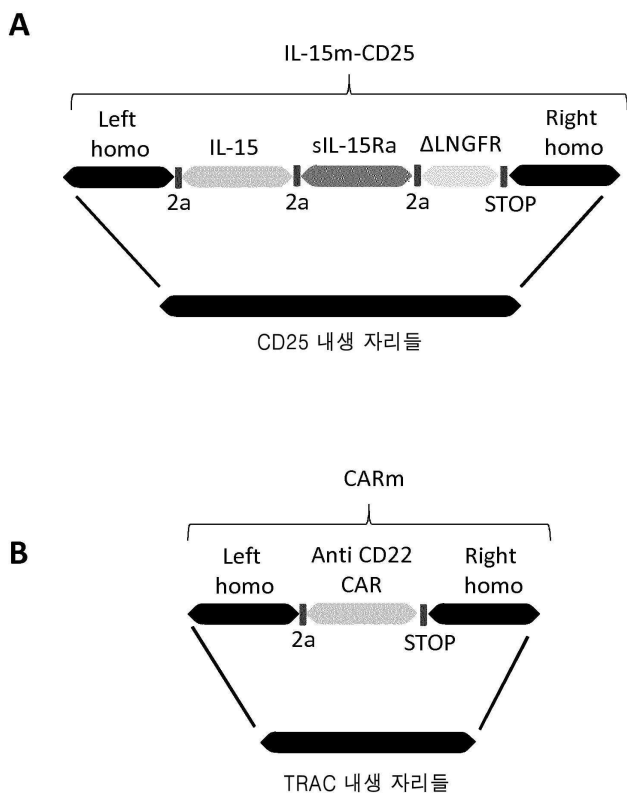
도면2



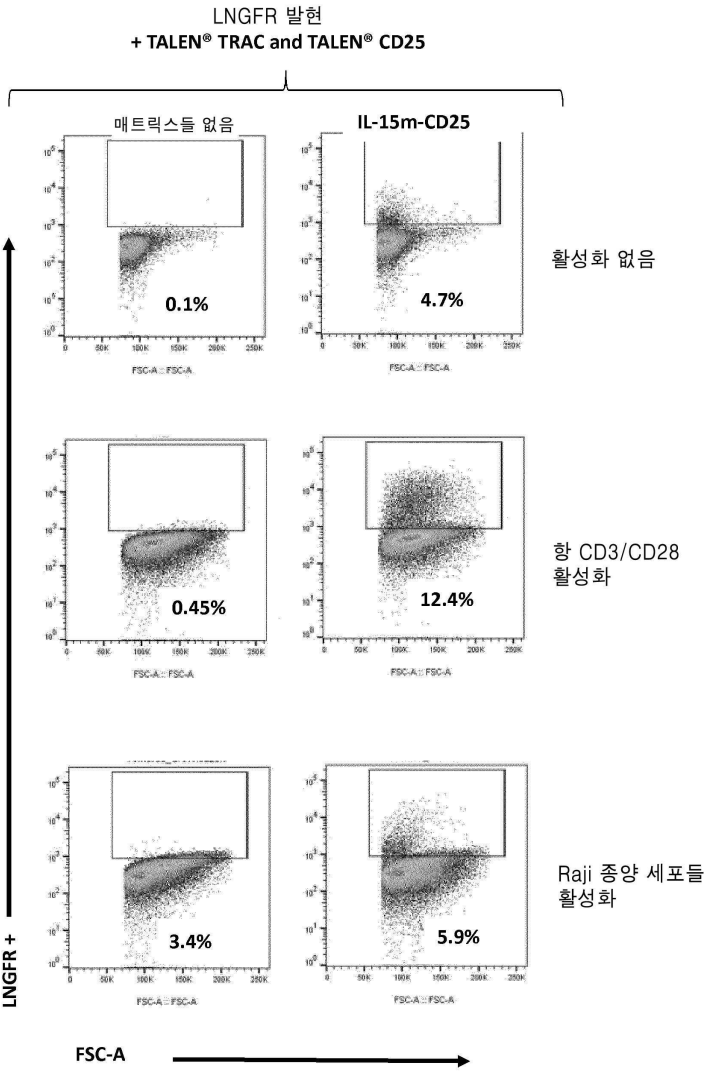
도면3



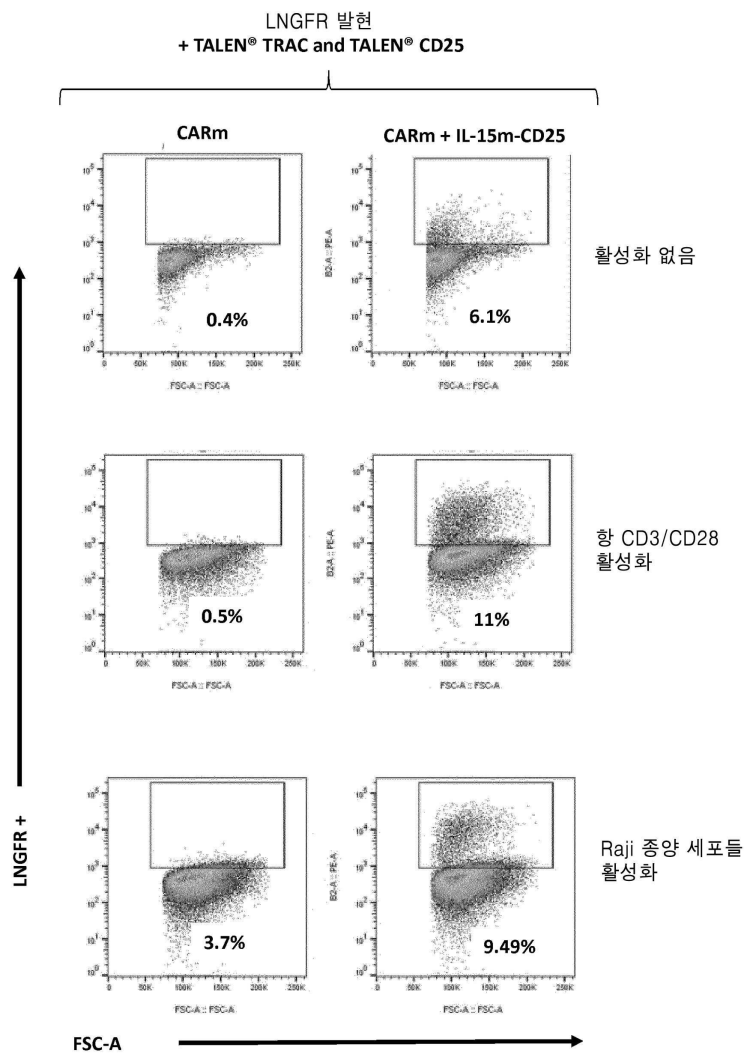
도면4



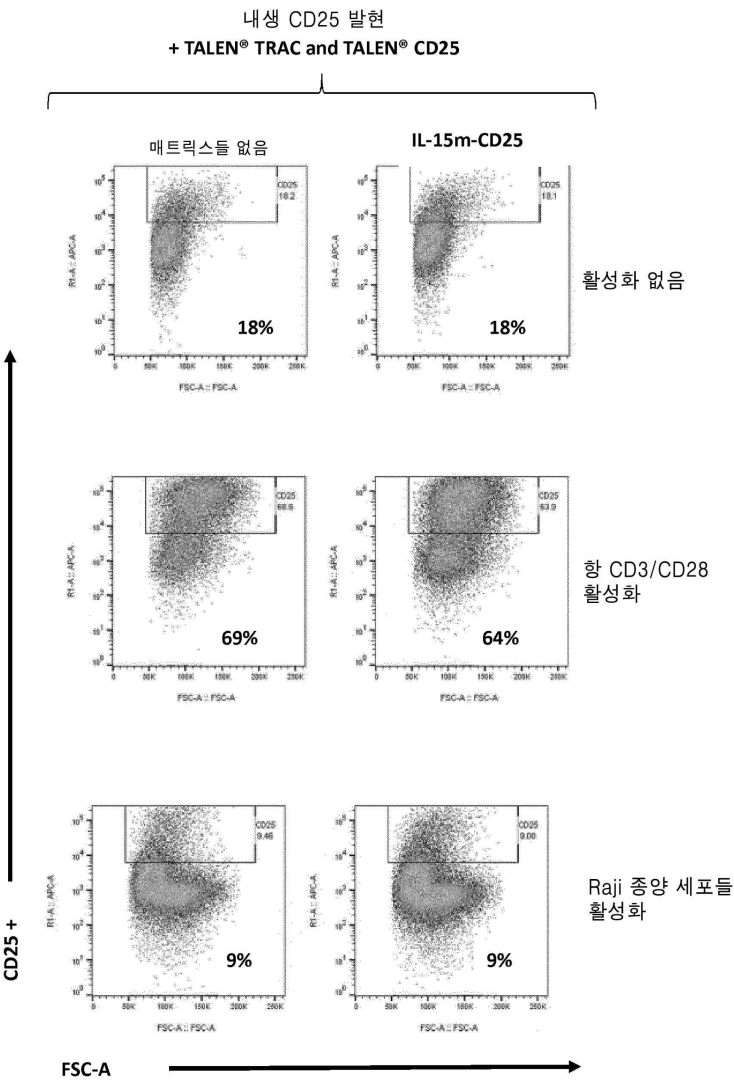
도면5



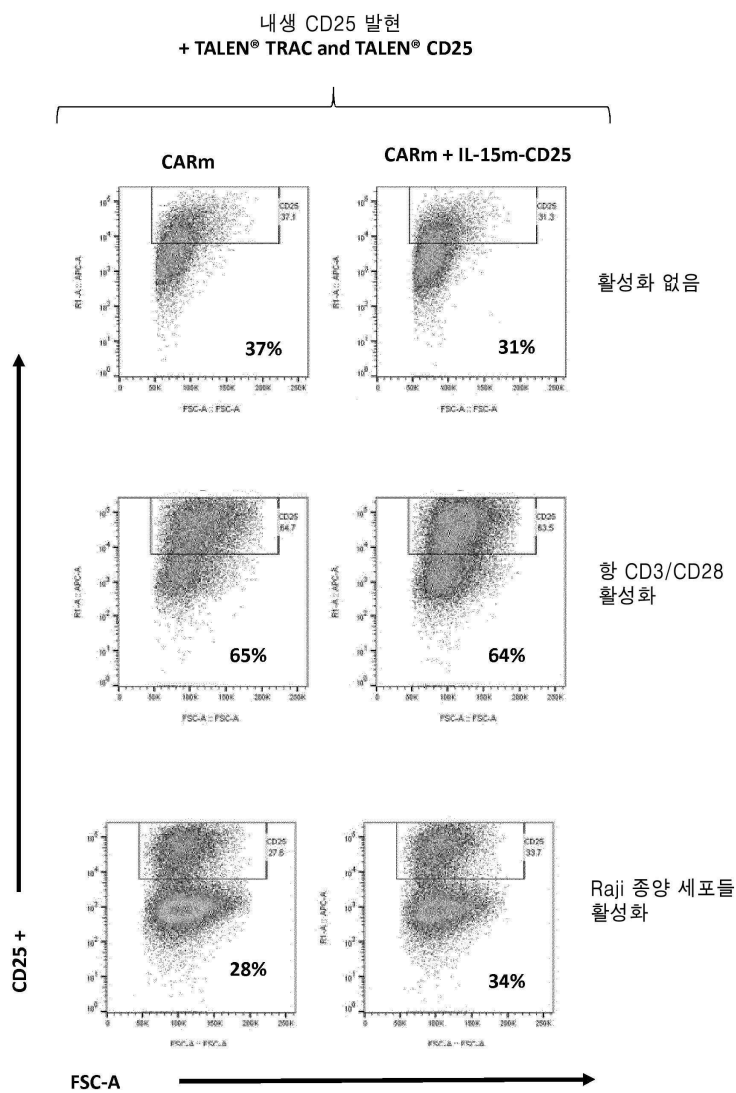
도면6



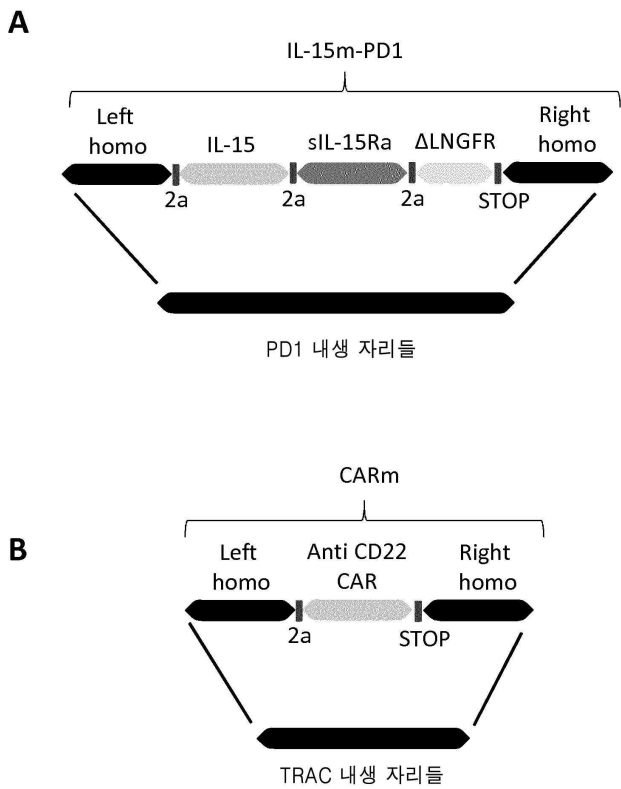
도면7



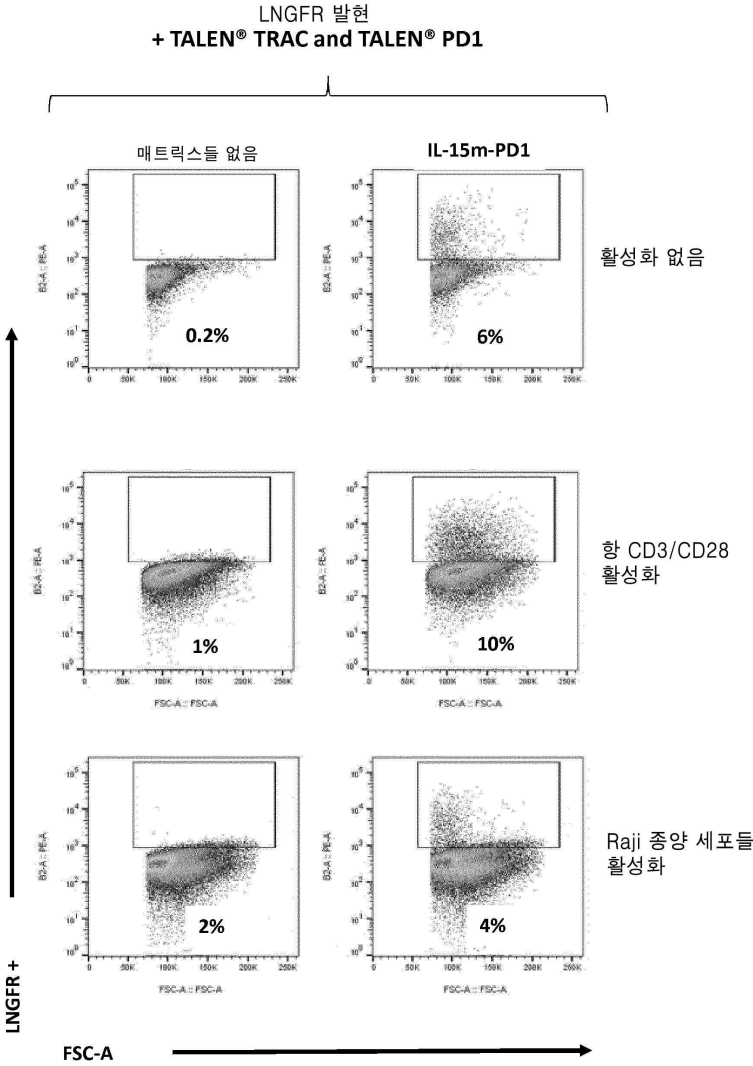
도면8



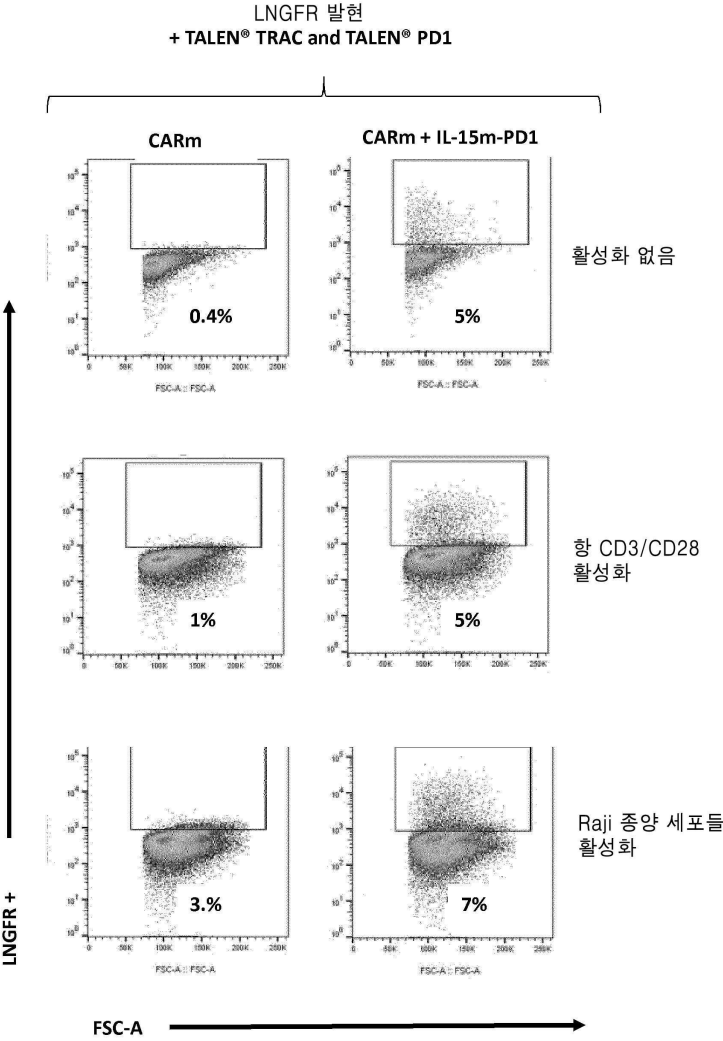
도면9



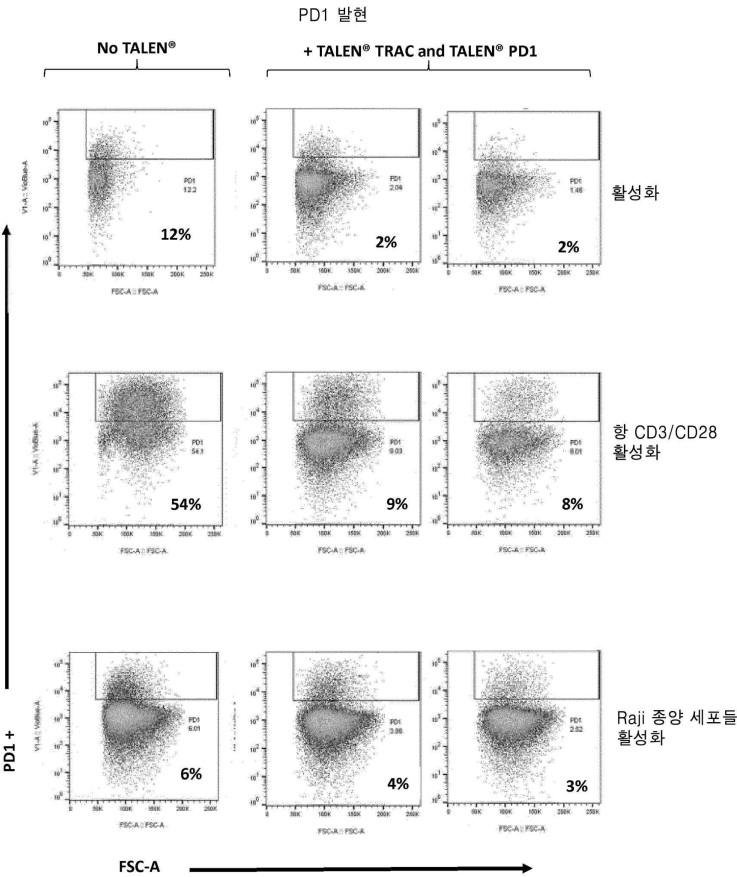
도면10



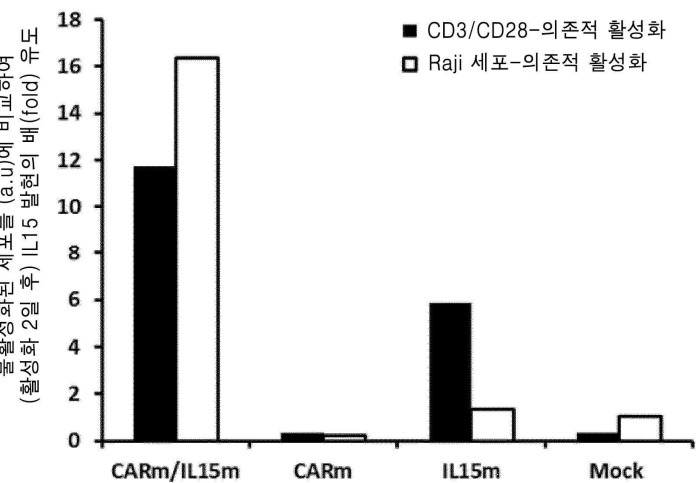
도면11



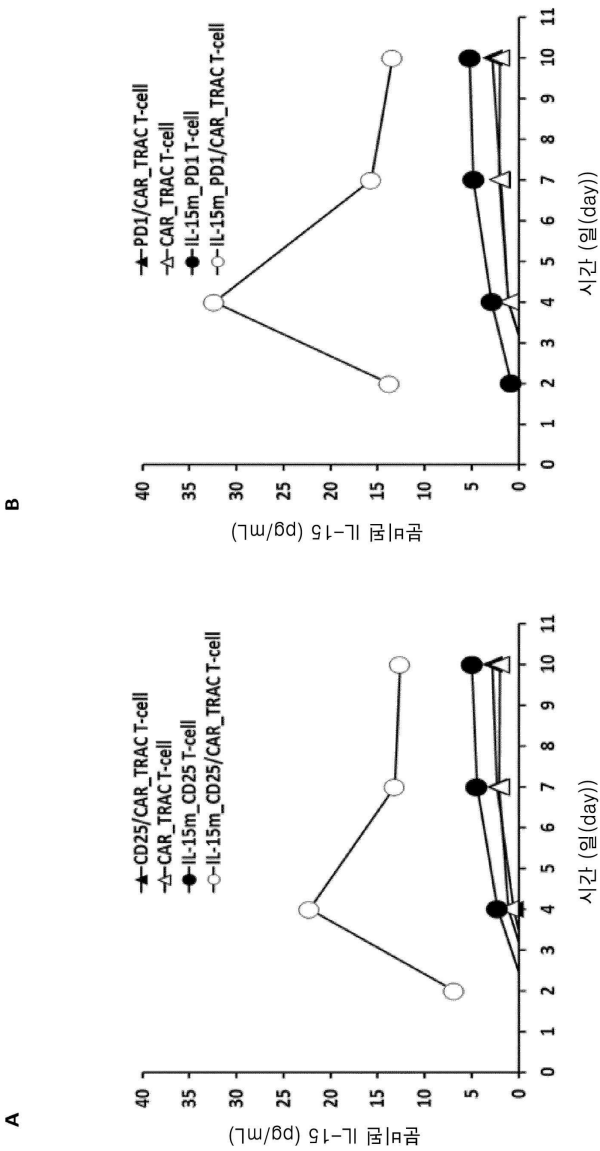
도면12



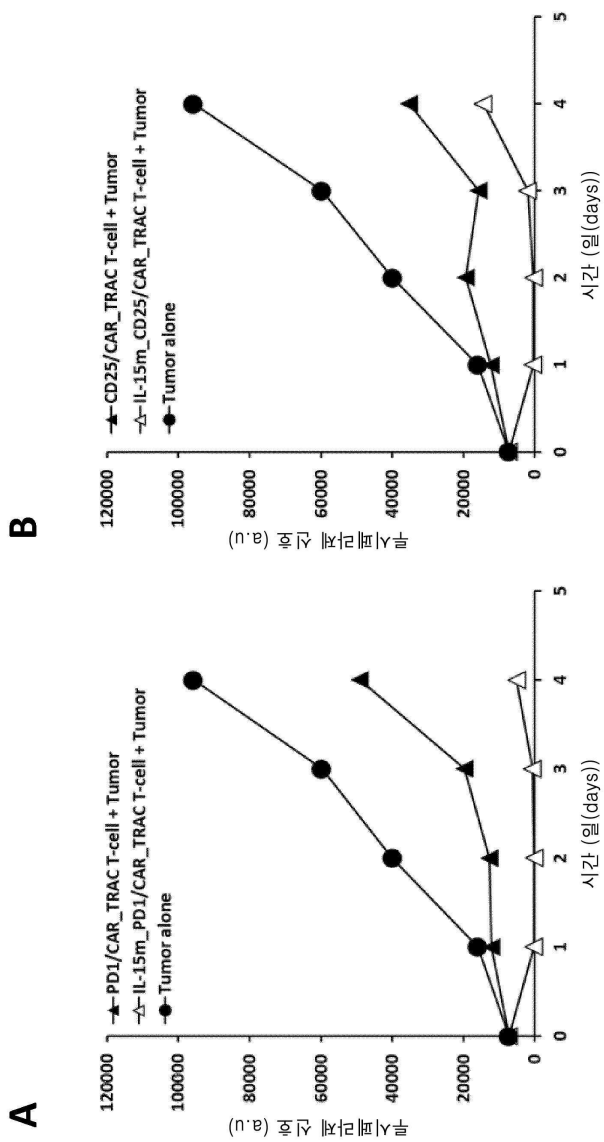
도면13



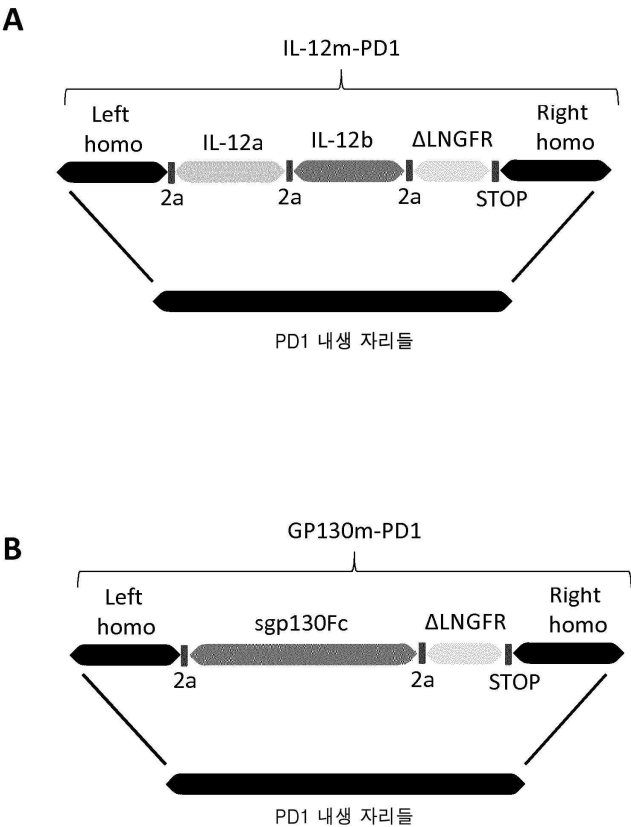
도면14



도면15



도면16



서열 목록

<110>	Cellectis	
<120>	TARGETED GENE INSERTION FOR IMPROVED IMMUNE CELLS THERAPY	
<130>	P81604915PCT00	
<150>	US62/410,187	
<151>	2016-10-19	
<150>	PA201670840	
<151>	2016-10-27	
<160>	67	
<170>	PatentIn version 3.5	
<210>	1	
<211>	1000	
<212>	DNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><223>	PD1 left homology	
<400>	1	
	ccaagccctg accctggcag gcatatgttt caggaggtcc ttgtcttggg agcccagggt	60
	cgggggcccc gtgtctgtcc acatccgagt caatggccca tctcgtctct gaagcatctt	120

tgctgtgagc tctagtcccc actgtcttgc tggaaaatgt ggaggcccca ctgccactg 180
cccagggcag caatgcccat accacgtggt cccagctccg agcttgtcct gaaaaggggg 240
caaagactgg accctgagcc tgccaagggg ccacactcct cccagggtg gggcttccat 300
gggcagcccc ccacccacc agaccagtta cactccctg tgccagagca gtgcagacag 360
gaccaggcca ggatgccaa gggtcagggg ctggggatgg gtagcccca aacagccctt 420
tctgggggaa ctggcctcaa cggggaaggg ggtgaaggct cttagtagga aatcaggag 480
acccaagtca gagccagggt ctgtgcagaa gctgcagcct cacgtagaag gaagaggctc 540

tgcagtggag gccagtcccc atccccgggt ggcagaggcc ccagcagaga cttctcaatg 600
acattccagc tggggtggcc cttccagagc ccttgcctg cgagggatgt gagcagggtg 660
ccggggaggc tttgtggggc caccagccc ctctctcacc tctctccatc tctcagactc 720
cccagacagg ccttgaacc cccccactt ctccccagcc ctgctcgtgg tgaccgaagg 780
ggacaacgcc accttcacct gcagcttctc caacacatcg gagagcttcg tgctaaactg 840
gtaccgatg agccccagca accagacgga caagctggcc gccttccccg aggaccgcag 900
ccagcccggc caggactgcc gcttccgtgt cacacaactg cccaacgggc gtgacttcca 960

catgagcgtg gtcaggcccc ggcgcaatga cagcggcacc 1000

<210> 2

<211> 1000

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PD1 right homology

<400> 2

gcctgcgggc agagctcagg gtgacagggt cggcctcgga ggccccgggg caggggtgag 60
ctgagccggt cctgggttgg gtgtccctc ctgcacagga tcaggagctc cagggctcgt 120
gggcagggac cccccagctc cagtccaggg ctctgtcctg cacttgggga atggtgaccg 180
gcatctctgt cctctagctc tggaagcacc ccagccctc tagtctgccc tcaccctga 240

ccctgacct ccacctgac cccgtcctaa cccctgacct ttgtgccctt ccagagagaa 300
gggcagaagt gccacagcc caccacagc cctcaccag gccagccggc cagttccaaa 360
ccctggttgt ttgtgtcgtg ggcggcctgc tgggcagcct ggtgctgcta gtctgggtcc 420
tggccgtcat ctgtcccg ggcgcagag gtaacgtcat cccagccct cggcctgccc 480
tgccctaacc ctgttggcgg ccctcactcc cgcctccct tctccacc ttcctcacc 540
ccacccacc tcccccatc tccccccag gctaagtc tgatgaaggc ccttgacta 600

agacccccca cctaggagca cggctcaggg tcggcctggg gacccaagt gtgtttctct 660

gcagggacaa taggagccag gcgcaccggc cagcccctgg tgagtctcac tcttttctg 720

catgatccac tgtgccttcc ttcttgggtg ggcagagggt gaaggacagg ctgggaccac 780

acggcctgca ggactacat tctattatag ccaggacccc acctccccag cccccaggca 840

gcaacctcaa tcctaaagc catgatctgg ggccccagcc cacctgcggt ctccgggggt 900

gcccggccca tgtgtgtgcc tgcctgcggt ctccagggtt gcctggccca cgcgtgtgcc 960

cgcctgcggt ctctgggggt gcccggccca catatgtgcc 1000

<210> 3

<211> 2781

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PD1_T3C-L2

<400> 3

atgggcgatc ctaaaaagaa acgtaaggtc atcgatatcg ccgatctacg cacgctcggc 60

tacagccagc agcaacagga gaagatcaaa ccgaagggtc gttcgacagt ggccgagcac 120

cacgaggcac tggtcggcca cgggtttaca cacgcgcaca tcgttgcgtt aagccaacac 180

ccggcagcgt tagggaccgt cgctgtcaag tatcaggaca tgatcgacgc gttgccagag 240

gcgacacacg aagcgatcgt tggcgtcggc aaacagtggg ccggcgacgc cgctctggag 300

gccttgctca cggtgccggg agagttgaga ggtccaccgt tacagttgga cacaggccaa 360

cttctcaaga ttgcaaaacg tggcggcgtg accgcagtgg aggcagtgca tgcattggcg 420

aatgcactga cgggtgcccc gctcaacttg acccccgagc aagtgggtggc tatcgcttcc 480

aagctggggg gaaagcaggc cctggagacc gtccaggccc ttctcccagt gctttgccag 540

gtcacaggac tgaccctga acaggtgggt gcaattgcct cacacgacgg gggcaagcag 600

gcactggaga ctgtccagcg gctgtgcct gtctctgcc agggccacgg actcactcct 660

gagcaggtcg tggccattgc cagccacgat gggggcaaac aggtcttgga gaccgtgcag 720

cgcctcctcc cagtgtgtg ccaggctcat gggctgacct cacagcaggt cgtcgccatt 780

gccagtaacg gcgggggggaa gcaggccctc gaaacagtgc agaggctgct gccggtcttg 840

tgccaagcac acggcctgac acccgagcag gtggtggcca tcgcctctca tgacggcggc 900

aagcaggccc ttgagacagt gcagagactg ttccccgtgt tgtgtcaggc ccacgggttg 960

acacccagc aggtggctgc catcgccagc aatggcgggg gaaagcaggc ccttgagacc 1020

gtgcagcggg tgcctccagt gttgtgccag gcacacggac tgaccctca acaggtggtc 1080

gcaatcgcca gctacaaggg cggaagcag gctctggaga cagtgcagcg cctcctgccc 1140
 gtgctgtgtc aggctcacgg actgacacca cagcaggtgg tcgccatcgc cagtaacggg 1200

ggcggcaagc aggctttgga gaccgtccag agactcctcc ccgtcctttg ccaggccccc 1260
 ggggttgacac ctacagcaggt cgtcgccatt gcctccaaca acgggggcaa gcaggccctc 1320
 gaaactgtgc agaggtgtgt gctgtgtgtg tgccaggttc atgggctgac accccagcag 1380
 gtggtggcca ttgcctctaa caacggcggc aaacaggcac tggagaccgt gcaaaggctg 1440
 ctgcccgctc tctgccaagc ccacgggctc actccacagc aggtcgtggc catcgctca 1500
 aacaatggcg ggaagcaggc cctggagact gtgcaaaggc tgcctcctgt gctctgccag 1560
 gcacacggac tgacccctca gcaggtggtg gcaatcgctt ccaacaacgg gggaaagcag 1620

gccctcgaaa ccgtgcagcg cctcctccca gtgctgtgcc aggcacatgg cctcacaccc 1680
 gagcaagtgg tggtatcgc cagccacgac ggagggaagc aggtcttga gaccgtgcag 1740
 aggtgtgtgc ctgtcctgtg ccaggccccc gggcttactc cagagcaggt cgtcgccatc 1800
 gccagtcatg atggggggaa gcaggccctt gagacagtcc agcggctgtg gccagtcctt 1860
 tgccaggttc acggcttgac tcccgagcag gtctgtggcca ttgcctcaaa cattgggggc 1920
 aaacaggccc tggagacagt gcaggccctg ctgccctgtg tgtgtcaggc ccacggcttg 1980
 acacccagc aggtggtcgc cattgcctct aatggcggcg ggagaccgc cttggagagc 2040

attgttgccc agttatctcg cctgatccg gcgttggccg cgttgaccaa cgaccacctc 2100
 gtgccttg cctgcctcgg gggcgctcct gcgttgatg cagtgaataa gggattgggg 2160
 gatcctatca gccgttccca gctggtgaag tccgagctgg aggagaagaa atccgagttg 2220
 aggcacaagc tgaagtacgt gccccacgag tacatcgagc tgatcgagat cggccggaac 2280
 agcaccagc accgtatcct ggagatgaag gtgatggagt tcttcatgaa ggtgtacggc 2340
 tacaggggca agcacctggg cggctccagg aagcccgacg gcgcatcta caccgtgggc 2400
 tccccatcg actacggcgt gatcgtggac accaaggcct actccggcgg ctacaacctg 2460

cccatcgcc aggcgcacga aatgcagagg tacgtggagg agaaccagac caggaacaag 2520
 cacatcaacc ccaacgagtg gtggaagggtg taccctcca gcgtgaccga gttcaagttc 2580
 ctgttcgtgt ccggccactt caagggaac tacaagccc agctgaccag gctgaaccac 2640
 atcaccaact gcaacggcgc cgtgtgttcc gtggaggagc tctgatcgg cggcgagatg 2700
 atcaaggccg gcacctgac cctggaggag gtgaggagga agttcaaca cggcgagatc 2760
 aacttcgcgg ccgactgata a 2781

<210> 4

<211> 2778

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> PD1T3R

<400> 4

atgggcgatc ctaaaaagaa acgtaaggtc atcgatatcg cccgatctacg cacgctcggc	60
tacagccagc agcaacagga gaagatcaaa ccgaaggttc gttcgacagt ggcgcagcac	120
cacgaggcac tggcggcca cgggtttaca cacgcgcaca tcgttgcgtt aagccaacac	180
ccggcagcgt tagggaccgt cgctgtcaag tatcaggaca tgatcgacg gttgccagag	240
gcgacacacg aagcgatcgt tggcgtcggc aaacagtggc ccggcgcacg cgctctggag	300
gccttgcctc cggcggcggg agagttgaga ggtccaccgt tacagttgga cacaggccaa	360
cttctcaaga ttgcaaaacg tggcggcgtg accgcagtgg aggcaagtga tgcattggcg	420
aatgcactga cgggtgcccc gctcaacttg acccccgagc aagtcgtcgc aatcgccagc	480
catgatggag ggaagcaagc cctcgaaacc gtgcagcggg tgcttctctg gctctgccag	540
gcccacggcc ttacctctca gcaggtggtg gccatcgcaa gtaacggagg aggaaagcaa	600
gccttggaga cagtgcagcg cctgttgccc gtgctgtgcc aggcacacgg cctcacacca	660
gagcaggtcg tggccattgc ctccatgac ggggggaaac aggcctctga gaccgtccag	720
aggctgctgc ccgtctctg tcaagctcac ggcctgactc cccaacaagt ggtcgccatc	780
gcctctaattg gcggcgggaa gcaggcactg gaaacagtgc agagactgct ccctgtgctt	840
tgccaagctc atgggttgac ccccaacag gtctgtccta ttgcctcaaa cggggggggc	900
aagcaggccc ttgagactgt gcagaggctg ttgccagtgc tgtgtcaggc tcacgggctc	960
actccacaac aggttgctgc aattgccagc aacggcggcg gaaagcaagc tcttgaacc	1020
gtgcaacgcc tctgcccgt gctctgtcag gctcatggcc tgacaccaca acaagtcgtg	1080
gccatcgcca gtaataatgg cgggaaacag gctcttgaga ccgtccagag gctgctccca	1140
gtgctctgcc aggcacacgg gctgaccccc gagcaggtgg tggctatcgc cagcaatatt	1200
gggggcaagc aggccctgga aacagtccag gcctgtctgc cagtgtttg ccaggctcac	1260
gggctcactc cccagcaggt cgtggcaatc gcctccaacg gcggagggaa gcaggctctg	1320
gagaccgtgc agagactgct gccctctttg tgccaggccc acggactcac acctgaacag	1380
gtcgtcgcca ttgcctctca cgatgggggc aaacaagccc tggagacagt gcagcggctg	1440
ttgcctgtgt tgtgccaagc ccacggcttg actctcaac aagtggctgc catcgctca	1500
aatggcggcg gaaaacaagc tctggagaca gtgcagaggt tgcgtcccgt cctctgcca	1560

gcccacggcc tgactcccca acaggtcgtc gccattgcc gcaacaacgg aggaaagcag	1620
gctctcgaaa ctgtgcagcg gctgtttcct gtgtgtgtc aggtctatgg gctgaccccc	1680
gagcaagtgg tggctattgc ctctaattga ggcaagcaag cccttgagac agtccagagg	1740
ctgttgccag tgctgtgcc ggcccacggg ctacaccccc agcaggtggt cgccatcgcc	1800
agtaacaacg ggggcaaaca ggcatatggaa accgtccagc gcctgtcttc agtgtcttgc	1860
caggcacacg gactgacacc cgaacagggt gtggccattg catcccatga tgggggcaag	1920
caggccctgg agaccgtgca gagactcctg ccagtgttgt gccaagctca cggcctcacc	1980
cctcagcaag tcgtggccat cgcctcaaac gggggggggc ggctgcact ggagagcatt	2040
gttgcccagt taictcgccc tgatccggcg ttggcccggt tgaccaacga ccacctcgtc	2100
gccttggcct gcctcggcgg gcgtcctgcg ctggatgcag tgaaaaagg attgggggat	2160
cctatcagcc gttcccagct ggtgaagtcc gagctggagg agaagaaatc cgagttgagg	2220
cacaagctga agtacctgcc ccacgagtac atcgagctga tcgagatcgc ccggaacagc	2280
accagaggacc gtatcctgga gatgaagggt atggagtctt tcatgaaggt gtacggctac	2340
aggggcaagc acctgggcgg ctccaggaag ccgacggcg ccatctacac cgtgggctcc	2400
cccatcgact acggcgatgat cgtggacacc aaggcctact ccggcggcta caacctgccc	2460
atcgccagg ccgacgaaat gcagaggtag gtggaggaga accagaccag gaacaagcac	2520
atcaacccca acgagtgttg gaagggtgac cctccagcg tgaccgagtt caagttcctg	2580
ttcgtgtccg gccattcaa gggcaactac aaggcccagc tgaccaggct gaaccacatc	2640
accaactgca acggcgccgt gctgtccgtg gaggagctcc tgatcggcgg cgagatgac	2700
aaggccggca cctgacctt ggaggagggt aggaggaagt tcaacaacgg cgagatcaac	2760
ttcgcgcccg actgataa	2778
<210> 5	
<211> 49	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> PD1-T3	
<400> 5	
tacctctgtg gggccatctc cctggccccc aaggcgaga tcaagaga	49
<210> 6	
<211> 60	
<212> DNA	

<213> Artificial Sequence

<220><223> 2A-element

<400> 6

tccggtgagg gcagaggaag tcttctaaca tgcggtgacg tggaggagaa tccgggcccc 60
60

<210> 7

<211> 1989

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> apoptosis CAR

<400> 7

gctttgcctg tcaactgcctt gctgcttcca cttgctctgt tgttgacgc cgcaagaccc 60
gaggtcaagc tccaggaaag cggaccaggg ctggtggccc ctatgcagtc attgagcgtc 120
acttgaccgc tcagcggcgt gtctctgccc gattacggcg tgagctggat cagacagccc 180
ccaaggaagg gactggagtg gctgggcgtc atctggggga gcgagactac ctactacaac 240
agcgccctga agagcaggct gaccatcatt aaggacaact ccaagtccca ggtctttctg 300
aaaatgaaca gcctgcagac tgatgacact gccatctact actgcgcaa gcattactac 360
tacgggggca gctacgctat ggactactgg gggcagggga cctctgtcac agtgtcaagt 420

ggcggaggag gcagtggcgg agggggaagt gggggcggcg gcagcgacat ccagatgacc 480
cagacaacat ccagcctctc cgcctctctg ggcgacagag tgacaatcag ctgccgggcc 540
agtcaggaca tcagcaagta tctcaattgg taccagcaga aaccagacgg gacagtgaag 600
ttgctgatct accacacatc caggtctcac tcaggagtcc ccagcaggtt ttccggtcc 660
ggctccggga cagattacag tctgaccatt tccaacctgg agcaggagga tattgccaca 720
tacttttgcc agcaaggcaa cactctgccc tataccttcg gcggaggcac aaaactggag 780
attactcggc cggatccga gcccgaatct cctgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc 840

ccagcacctc ccgtggccgg cccgtcagtg ttctcttcc cccaaaacc caaggacacc 900
ctcatgatcg cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacaggac 960
cctgaggta agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 1020
ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 1080
caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggtgt ccaacaaagc cctcccagcc 1140
cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc 1200

ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag aaccaggtca gcctgacctg cctgggtcaaa 1260

ggctttctatc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcaacc ggagaacaac 1320

tacaagacca cgcctcccggt gctggactcc gacggctcct tcttccteta cagcaagctc 1380

accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtgttct catgctccgt gatgcatgag 1440

gccctgcaca atcactatac ccagaaatct ctgagtctga gcccaggcaa gaaggatatt 1500

ttgggtggc tttgccttct tcttttgcca attccactaa ttgtttgggt gaagagaaag 1560

gaagtacaga aaacatgcag aaagcacaga aaggaaaacc aaggttctca tgaatctcca 1620

accttaaate ctgaaacagt ggcaataaat ttatctgatg ttgacttgag taaatatatc 1680

accactattg ctggagtcac gacactaagt caagttaaag gctttgttcg aaagaatggt 1740

gtcaatgaag ccaaaataga tgagatcaag aatgacaatg tccaagacac agcagaacag 1800

aaagttaac tgcttcgtaa ttggcatcaa ctcatggaa agaaagaagc gtatgacaca 1860

ttgattgcag atctcaaaaa agccaatctt tgtactcttg cagagaaaat tcagactatc 1920

atcctcaagg acattactag tgactcagaa aattcaaact tcagaaatga aatccagagc 1980

ttggtcgaa 1989

<210> 8

<211> 276

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> BGH polyA

<400> 8

tctagagggc ccgtttaaac ccgctgatca gcctcgactg tgccttctag ttgccagcca 60

tctgttgttt gccctcccc cgtgccttcc ttgacctgg aaggtgccac tccactgtc 120

ctttcctaataaaatgagga aattgcatcg cattgtctga gtaggtgtca ttctattctg 180

gggggtgggg tggggcagga cagcaagggg gaggattggg aagacaatag caggcatgct 240

ggggatgcgg tgggctctat gactagtggc gaattc 276

<210> 9

<211> 1000

<212> DNA

<213>

> Artificial Sequence

<220><223> Lck left homology

<400> 9

gggatagggg gtgcctctgt gtgtgtgtgt gagagtgtgt gtgtgtaggg tgtgtatatg 60
tatagggtgt gtgtgagtgt gtgtgtgtga gagagtgtgt gtgtggcaga atagactgcg 120
gaggtggatt tcactctgat atgaaaggtc tggaatgcat ggtacattaa actttgagga 180
cagcgctttc caagcactct gaggagcagc cctagagaag gaggagctgc agggactccg 240
ggggcttcaa agtgagggcc ccactctgct tcaggcaaaa caggcacaca tttatcactt 300
tatctatgga gttctgcttg atttcatcag acaaaaaatt tccactgcta aaacaggcaa 360

ataaacaaaa aaaaagttat ggccaacaga gtcactggag ggttttctgc tggggagaag 420
caagcccgtg tttgaaggaa cctgtgaga tgactgtggg ctgtgtgagg ggaacagcgg 480
gggcttgatg gtggacttcg ggagcagaag cctctttctc agcctctca gctagacagg 540
ggaattataa taggaggtgt ggcgtgcaca cctctccagt aggggagggg ctgataagtc 600
aggtctctcc caggcttggg aaagtgtgtg tcactcttag gagtggtcc tcccaacaca 660
gggtactggc agagggagag ggagggggca gaggcaggaa gtgggtaact agactaaca 720
aggtgcctgt ggcggtttgc ccatcccagg tgggagggtg gggctagggc tcaggggccg 780

tgtgtgaatt tacttgtagc ctgagggtc agagggagca ccggtttgga gctgggaccc 840
cctatatttag cttttctgtg gctggtgaat ggggatccca ggatctcaca atctcaggta 900
cttttgaac tttccagggc aaggcccat tatatctgat gttgggggag cagatcttgg 960
gggagccctc tcagccccc cttecatctc ctcaggggacc 1000

<210> 10

<211> 219

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Interleukin-12 subunit alpha

<400> 10

Met Cys Pro Ala Arg Ser Leu Leu Leu Val Ala Thr Leu Val Leu Leu

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

65						70						75						80
Thr	Val	Glu	Ala	Cys	Leu	Pro	Leu	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn	Glu	Ser	Cys			
85					90					95								
Leu	Asn	Ser	Arg	Glu	Thr	Ser	Phe	Ile	Thr	Asn	Gly	Ser	Cys	Leu	Ala			
100					105					110								
Ser	Arg	Lys	Thr	Ser	Phe	Met	Met	Ala	Leu	Cys	Leu	Ser	Ser	Ile	Tyr			
115					120					125								
Glu	Asp	Leu	Lys	Met	Tyr	Gln	Val	Glu	Phe	Lys	Thr	Met	Asn	Ala	Lys			
130					135					140								
Leu	Leu	Met	Asp	Pro	Lys	Arg	Gln	Ile	Phe	Leu	Asp	Gln	Asn	Met	Leu			
145					150					155					160			
Ala	Val	Ile	Asp	Glu	Leu	Met	Gln	Ala	Leu	Asn	Phe	Asn	Ser	Glu	Thr			
165					170					175								
Val	Pro	Gln	Lys	Ser	Ser	Leu	Glu	Glu	Pro	Asp	Phe	Tyr	Lys	Thr	Lys			
180					185					190								
Ile	Lys	Leu	Cys	Ile	Leu	Leu	His	Ala	Phe	Arg	Ile	Arg	Ala	Val	Thr			
195					200					205								
Ile	Asp	Arg	Val	Met	Ser	Tyr	Leu	Asn	Ala	Ser								
210					215													
<210>	11																	
<211>	328																	
<212>	PRT																	
<213>	Artificial Sequence																	
<220><223>	Interleukin-12 subunit beta																	
<400>	11																	
Met	Cys	His	Gln	Gln	Leu	Val	Ile	Ser	Trp	Phe	Ser	Leu	Val	Phe	Leu			
1	5				10				15									
Ala	Ser	Pro	Leu	Val	Ala	Ile	Trp	Glu	Leu	Lys	Lys	Asp	Val	Tyr	Val			
20					25					30								
Val	Glu	Leu	Asp	Trp	Tyr	Pro	Asp	Ala	Pro	Gly	Glu	Met	Val	Val	Leu			
35					40					45								

Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Gly Ile Thr Trp Thr Leu Asp Gln

50

55

60

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

65

70

75

80

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

85

90

95

Leu Ser His Ser Leu Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp

100

105

110

Ser Thr Asp Ile Leu Lys Asp Gln Lys Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe

115

120

125

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

130

135

140

Leu Thr Thr Ile Ser Thr Asp Leu Thr Phe Ser Val Lys Ser Ser Arg

145

150

155

160

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

165

170

175

Ala Glu Arg Val Arg Gly Asp Asn Lys Glu Tyr Glu Tyr Ser Val Glu

180

185

190

Cys Gln Glu Asp Ser Ala Cys Pro Ala Ala Glu Glu Ser Leu Pro Ile

195

200

205

Glu Val Met Val Asp Ala Val His Lys Leu Lys Tyr Glu Asn Tyr Thr

210

215

220

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

225

230

235

240

Leu Gln Leu Lys Pro Leu Lys Asn Ser Arg Gln Val Glu Val Ser Trp

245

250

255

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

260

265

270

Phe Cys Val Gln Val Gln Gly Lys Ser Lys Arg Glu Lys Lys Asp Arg

275

280

285

Val Phe Thr Asp Lys Thr Ser Ala Thr Val Ile Cys Arg Lys Asn Ala

290 295 300

Ser Ile Ser Val Arg Ala Gln Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Ser Trp Ser

305 310 315 320

Glu Trp Ala Ser Val Pro Cys Ser

325

<210> 12

<211> 1000

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<

220><223> lck right homology

<400> 12

ggctgtggct gcagctcaca cccggaagat gactggatgg aaaacatcga tgtgtgtgag 60

aactgccatt atcccatagt cccactggat ggcaaggcca cggtaagagg cgagacaggg 120

gccttggtga gggagttggg tagagaatgc aaccaggag aaagaaatga ccagcactac 180

aggcccttga aagaatagag tggccctctc cctgaaata cagaaaggaa aagaggccca 240

gagaggggaa gggaatctcc taagatcaca cagaaagtag ttggtaaact cagggataac 300

atctaaccag gctggagagg ctgagagcag agcagggggg aagggggcca gggcttgacc 360

caatcttctg ctttctgacc ccacctcat cccccactcc acagctgctc atccgaaatg 420

gctctgaggt gcgggaccca ctggttacct acgaagctc caatccgccg gcttccccac 480

tgcaaggatga cccaggcag cagggcctga aagacaaggc ctgcggatcc ctggctgttg 540

gcttccacct ctccccacc tactttctcc cgggtcttgc cttccttgtc cccaccctg 600

taactccagg cttcctgccg atcccagctc ggttctccct gatgcccctt gtctttacag 660

acaacctggt tatcgctctg cacagctatg agccctctca cgacggagat ctgggctttg 720

agaaggggga acagctccgc atcctggagc agtgagtccc tctccacctt gctctggcgg 780

agtccgtgag ggagcggcga tctccgcgac ccgcagccct cctgcggccc ttgaccagct 840

cggggtggcc gcccttgga caaaattcga ggctcagtat tgctgagcca gggttggggg 900

aggctggctt aaggggtgga ggggtctttg agggagggtc tcaggctgac ggctgagcga 960

gccacactga cccacctccg tggcgcagga gcggcgagtg 1000

<210> 13

<211> 1992

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> apoptosis CAR

<400> 13

atggctttgc ctgtcactgc cttgtctgctt ccacttgcctc tgttgttgca cgccgcaaga	60
cccgaggtca agctccagga aagcggacca gggctgggtgg ccctagtca gtcattgagc	120
gtcacttgca ccgtcagcgg cgtgtctctg ccgattacg gcgtgagctg gatcagacag	180
cccccaagga agggactgga gtggctgggc gtcactctggg ggagcagagac tacctactac	240
aacagcgccc tgaagagcag gctgaccatc attaaggaca actccaagtc ccaggctcttt	300
ctgaaaaatga acagcctgca gactgatgac actgccatct actactgcgc caagcattac	360
tactacgggg gcagctacgc tatggactac tgggggcagg ggacctctgt cacagtgtca	420
agtggcggag gaggcagtgg cggaggggga agtgggggcg gcggcagcga catccagatg	480
accagacaa catccagcct ctccgcctct ctgggcgaca gagtgacaat cagctgccgg	540
gccagtcagg acatcagcaa gtatctcaat tggtagcagc agaaaccaga cgggacagtg	600
aaattgctga tctaccacac atccaggctg cactcaggag tccccagcag gttttccggc	660
tccggctccg ggacagatta cagtctgacc atttccaacc tggagcagga ggatattgcc	720
acatactttt gccagcaagg caacactctg ccctatacct tcggcggagg cacaaaactg	780
gagattactc ggtcggatcc cgagcccaaa tctcctgaca aaactcacac atgccaccg	840
tgccagcac ctcccggtgc cggcccgctca gtgttctct tcccccaaa acccaaggac	900
accctcatga tcgcccggac ccctgaggct acatgcgtgg tggtagcgt gagccacgag	960
gacctgagg tcaagttcaa ctggtagctg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca	1020
aagccgctgg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg	1080
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcagg tgtccaaca agccctccca	1140
gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac	1200
accctgcccc catcccgga tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc	1260
aaaggtctct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca accggagaac	1320
aactacaaga ccacgcctcc cgtgtggac tccgacggct ctttcttct ctacagcaag	1380
ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtgt tctcatgctc cgtgatgcat	1440
gaggccctgc acaatcacta taccagaaa tctctgagtc tgagcccagg caagaaggat	1500
atgttgggtt ggctttgctt tcttcttttg ccaattccac taattgtttg ggtgaagaga	1560
aaggaagtac agaaaacatg cagaaagcac agaaaggaaa accaaggttc tcatgaatct	1620
ccaaccttaa atcctgaaac agtggcaata aatttatctg atgttgactt gagtaaatat	1680

atcaccacta ttgctggagt catgacacta agtcaagtta aaggctttgt tcgaaagaat 1740

gggtgtcaatg aagccaaaat agatgagatc aagaatgaca atgtccaaga cacagcagaa 1800

cagaaagtgc aactgcttcg taattggcat caacttcattg gaaagaaaga agcgtatgac 1860

acattgattg cagatctcaa aaaagccaat ctttgtactc ttgcagagaa aattcagact 1920

atcatcctca aggacattac tagtgactca gaaaattcaa acttcagaaa tgaaatccag 1980

agcttgggtcg aa 1992

<210> 14

<211> 1000

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Lck left homology

<400> 14

ctcataacaa ttctatgagg taggaacagt tatttactct attttccaaa taaggaaact 60

gggctcgccc aaggttccac aactaacatg tgtgtattat tgagcattta atttacacca 120

gggaagcagg ttgtgggtgt gtgcacctgt tgtccagcta tttaggaggc tgaggtgaaa 180

ggatcacttg aacggaggag ttcaaatattg caatgtgcta tgattgtgcc tgtgaacagc 240

tgctgcactc cagcctgggc aacatagtga gatcccttat ctaaaacatt ttttttaagt 300

aaataatcag gtgggcacgg tggctcacgc ctgtaatcca gcactttggg aggctgaggc 360

gggcggatca cctgagggtc ggagttcaag accagcctga ccaacatgga gaaaccgctc 420

tctactaaaa atacaaaatt agcttggcgt ggtgggtgcat gccgtgaatc ccagctactc 480

gagaagctga ggcaggagaa ttgtttgaac ctgggagggtg gaggttgcgg tgagccgaga 540

tcgcaccatt gcactccagc ctgggcaaca agagtgaat tgcatctcaa aaaaaaagaa 600

aaggaaataa tctataccag gcactccaag tgggtgtgact gatattcaac aagtacctct 660

agtgtgacct taccattgat gaagaccaag attcttttgg attggtgctc aactgtgcc 720

agttaaatat tccgaacatt acccttgccct gtgggcttcc agtgcctgac cttgatgtcc 780

tttaccat caaccgtag ggatgaccaa cccggagggtg attcagaacc tggagcgagg 840

ctaccgatg gtgcgccctg acaactgtcc agaggagctg taccaactca tgaggctgtg 900

ctggaaggag cgcccagagg accggccac ctttgactac ctgcgcagtg tgctggagga 960

cttcttcacg gccacagagg gccagtacca gcctcagcct 1000

<210> 15

<211> 1000

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> lck right homology

<400> 15

gaggccttga gaggccctgg ggttctcccc ctttctctcc agcctgactt ggggagatgg 60

agttcttgtg ccatagtcac atggcctatg cacatatgga ctctgcacat gaatcccacc 120

cacatgtgac acatatgcac cttgtgtctg tacacgtgtc ctgtagttgc gtggactctg 180

cacatgtctt gtacatgtgt agcctgtgca tgtatgtctt ggacactgta caaggtaccc 240

ctttctggct ctcccatttc ctgagaccac agagagaggg gagaagcctg ggattgacag 300

aagcttctgc ccacctactt ttctttcttc agatcatcca gaagttcctc aagggccagg 360

actttatcta atacctctgt gtgctcctcc ttggtgcctg gcctggcaca catcaggagt 420

tcaataaatg tcgtttgatg actgttgtac atctctttgc tgtccactct ttgtgggtgg 480

gcagtggggg ttaagaaaat ggtaattagg tcaccctgag ttggggtgaa agatgggatg 540

agtggatgtc tggaggtctt gcagaccctt tcaaattggga cagtgtctct caccctccc 600

caaaggattc agggtgactc ctacctggaa tcccttaggg aatgggtgcg tcaaaggacc 660

ttctcccca ttataaaagg gcaacagcat tttttactga ttcaagggt atatttgacc 720

tcagattttg tttttttaag gctagtcaaa tgaagcggcg ggaatggagg aggaacaaat 780

aaatctgtaa ctatcctcag attttttttt ttttttgaga ctgggtctca ctttttcac 840

caggctggag tgcagtcgca tgatcacggc tctactgtagc ctcaacctct ccagctcaaa 900

tgctcctcct gtctcagcct cccgagtacc tgggactact ttcttgaggc caggaattca 960

agaacagagt aagatcctgg tctccaaaaa aagttttaaa 1000

<210> 16

<211> 936

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> TALEN TRAC

<400> 16

Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Tyr Pro Tyr Asp

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val

35 40 45

Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr His Ala His

50 55 60

Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val

65 70 75 80

Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Ala

85 90 95

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

100 105 110

Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp

115 120 125

Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Val

130 135 140

Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala

180 185 190

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

195 200 205

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

210 215 220

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

225 230 235 240

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

245 250 255

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala

260 265 270

Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu

275 280 285
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
 290 295 300
 Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 305 310 315 320
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val

 325 330 335
 Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 340 345 350
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
 355 360 365
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 370 375 380
 Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 385 390 395 400

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

 465 470 475 480
 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 485 490 495
 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 500 505 510
 Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val
 515 520 525
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala

530 535 540
 Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 545 550 555 560
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
 565 570 575
 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala
 580 585 590
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
 595 600 605
 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val

 610 615 620
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
 625 630 635 640
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 645 650 655
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 660 665 670
 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala
 675 680 685

 Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala
 690 695 700
 Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg
 705 710 715 720
 Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Gly Asp Pro Ile Ser Arg
 725 730 735
 Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg
 740 745 750
 His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile

 755 760 765
 Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu
 770 775 780

Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser
 785 790 795 800
 Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr
 805 810 815
 Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro
 820 825 830

 Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr
 835 840 845
 Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser
 850 855 860
 Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly
 865 870 875 880
 Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn
 885 890 895
 Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile

 900 905 910
 Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn
 915 920 925
 Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp
 930 935

 <210> 17
 <211> 942
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> TALEN TRAC
 <400> 17

 Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Lys Glu Thr Ala
 1 5 10 15
 Ala Ala Lys Phe Glu Arg Gln His Met Asp Ser Ile Asp Ile Ala Asp

 20 25 30
 Leu Arg Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro
 35 40 45

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

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

 165 170 175
 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 180 185 190
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala
 195 200 205
 Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 210 215 220
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
 225 230 235 240

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

Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala

305 310 315 320

Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly

325 330 335

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

340 345 350

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala

355 360 365

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

370 375 380

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

385 390 395 400

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

405 410 415

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

420 425 430

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala

435 440 445

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

450 455 460

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala

465 470 475 480

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

485 490 495

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val

500 505 510

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

515 520 525

Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu

530 535 540

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu

545 550 555 560
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 565 570 575
 Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala
 580 585 590
 Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly

 595 600 605
 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys
 610 615 620
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 625 630 635 640
 His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
 645 650 655
 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 660 665 670

 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 675 680 685
 Gly Gly Gly Arg Pro Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg
 690 695 700
 Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu
 705 710 715 720
 Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu
 725 730 735
 Gly Asp Pro Ile Ser Arg Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu

 740 745 750
 Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr
 755 760 765
 Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu
 770 775 780
 Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly
 785 790 795 800
 Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val

805 810 815

Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser
820 825 830

Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr
835 840 845

Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp
850 855 860

Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val
865 870 875 880

Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn

885 890 895

His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu
900 905 910

Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val
915 920 925

Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp
930 935 940

<210> 18

<211> 913

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> TALEN CD25

<400> 18

Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Tyr Pro Tyr Asp
1 5 10 15

Val Pro Asp Tyr Ala Ile Asp Ile Ala Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr
20 25 30

Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val
35 40 45

Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr His Ala His
50 55 60

Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val

65 70 75 80
Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Ala
85 90 95
Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala
100 105 110
Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp
115 120 125
Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Val
130 135 140

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

210 215 220
Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
225 230 235 240
Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
245 250 255
Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
260 265 270
Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
275 280 285

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala
290 295 300
Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg

305 310 315 320
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
 325 330 335
 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 340 345 350
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln

 355 360 365
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 370 375 380
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 385 390 395 400
 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala
 405 410 415
 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 420 425 430

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

 500 505 510
 Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 515 520 525
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala
 530 535 540
 Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 545 550 555 560
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala

565	570	575	
Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg			
580	585	590	
Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val			
595	600	605	
Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val			
610	615	620	
Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu			
625	630	635	640
Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu			
645	650	655	
Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr			
660	665	670	
Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala			
675	680	685	
Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ser Gly Ser			
690	695	700	
Gly Ser Gly Gly Asp Pro Ile Ser Arg Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu			
705	710	715	720
Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro			
725	730	735	
His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp			
740	745	750	
Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly			
755	760	765	
Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile			
770	775	780	
Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys			
785	790	795	800
Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met			
805	810	815	

Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro
820 825 830
Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe
835 840 845
Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr
850 855 860

Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu
865 870 875 880
Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu
885 890 895
Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala
900 905 910

Asp

<210> 19
<211> 913
<212> PRT
<213> Artificial Sequence
<220><223> TALEN CD25
<400> 19

Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Tyr Pro Tyr Asp

1 5 10 15
Val Pro Asp Tyr Ala Ile Asp Ile Ala Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr
20 25 30
Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val
35 40 45
Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr His Ala His
50 55 60
Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val
65 70 75 80

Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Ala
85 90 95

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

 145 150 155 160
 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys
 165 170 175
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 180 185 190
 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
 195 200 205
 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 210 215 220

 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 225 230 235 240
 Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val
 245 250 255
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala
 260 265 270
 Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 275 280 285
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala

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

Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln
355 360 365

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
370 375 380

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
385 390 395 400

Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
405 410 415

Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
420 425 430

Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys

435 440 445

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
450 455 460

His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly
465 470 475 480

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys
485 490 495

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
500 505 510

Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
515 520 525

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
530 535 540

Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu
545 550 555 560

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala
565 570 575

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

580 585 590

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val

595 600 605
 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 610 615 620
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
 625 630 635 640
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 645 650 655

 Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 660 665 670
 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala
 675 680 685
 Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ser Gly Ser
 690 695 700
 Gly Ser Gly Gly Asp Pro Ile Ser Arg Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu
 705 710 715 720
 Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro

 725 730 735
 His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp
 740 745 750
 Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly
 755 760 765
 Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile
 770 775 780
 Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys
 785 790 795 800

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

850 855 860
Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu

865 870 875 880
Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu

885 890 895
Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala

900 905 910
Asp

<210> 20

<211> 936

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> TALEN PD1

<400> 20

Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Tyr Pro Tyr Asp

1 5 10 15

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

20 25 30

Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val

35 40 45

Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr His Ala His

50 55 60

Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val

65 70 75 80

Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Ala

85 90 95

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

100 105 110

Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp

115 120 125

Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Val

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

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

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

 515 520 525
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala
 530 535 540
 Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 545 550 555 560
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
 565 570 575
 Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 580 585 590

 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
 595 600 605
 Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 610 615 620
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
 625 630 635 640

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
645 650 655

Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
660 665 670

Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala
675 680 685

Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala
690 695 700

Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg
705 710 715 720

Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Gly Asp Pro Ile Ser Arg
725 730 735

Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg
740 745 750

His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile
755 760 765

Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu
770 775 780

Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser
785 790 795 800

Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr
805 810 815

Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro
820 825 830

Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr
835 840 845

Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser
850 855 860

Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly
865 870 875 880

Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn

885 890 895
 Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile
 900 905 910
 Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn
 915 920 925
 Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp
 930 935
 <210> 21
 <211> 941
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence

 <220><223> TALEN PD1
 <400> 21
 Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Lys Glu Thr Ala
 1 5 10 15
 Ala Ala Lys Phe Glu Arg Gln His Met Asp Ser Ile Asp Ile Ala Asp
 20 25 30
 Leu Arg Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro
 35 40 45
 Lys Val Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His
 50 55 60

 Gly Phe Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala
 65 70 75 80
 Leu Gly Thr Val Ala Val Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro
 85 90 95
 Glu Ala Thr His Glu Ala Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly
 100 105 110
 Ala Arg Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly
 115 120 125
 Pro Pro Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg

 130 135 140
 Gly Gly Val Thr Ala Val Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu

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

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

 275 280 285
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 290 295 300
 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala
 305 310 315 320
 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 325 330 335
 Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
 340 345 350

 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 355 360 365
 His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
 370 375 380
 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 385 390 395 400
 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn

405 410 415
Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val

420 425 430
Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala

435 440 445
Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu

450 455 460
Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala

465 470 475 480
Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg

485 490 495

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val

500 505 510

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

515 520 525

Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln

530 535 540

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu

545 550 555 560

Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr

565 570 575

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

580 585 590

Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu

595 600 605

Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln

610 615 620

Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His

625 630 635 640

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

645 650 655

Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln
 660 665 670
 Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly
 675 680 685
 Gly Gly Arg Pro Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro
 690 695 700
 Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala

 705 710 715 720
 Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Gly
 725 730 735
 Asp Pro Ile Ser Arg Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys
 740 745 750
 Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile
 755 760 765
 Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu
 770 775 780

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

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

Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg

915

920

925

Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp

930

935

940

<210> 22

<211> 2814

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TALEN TRAC pCLS11370

<400> 22

atgggcgcatc ctaaaaagaa acgtaaggtc atcgattacc catacgatgt tccagattac 60

gctatcgata tcgccgatct acgcacgctc ggctacagcc agcagcaaca ggagaagatc 120

aaaccgaagg ttctgtcgac agtggcgag caccacgagg cactggctcg ccacgggttt 180

acacacgcgc acatcgttgc gttaagccaa caccgcgag cgtagggac cgtcgtctgc 240

aagtatcagg acatgatcgc agcgttgcca gaggcgacac acgaagcga cgttggcgtc 300

ggcaaacagt ggtccggcgc acgcgtcttg gaggccttgc tcacggtggc gggagagttg 360

agagggtcac cgttacagtt ggacacaggc caactttca agattgcaaa acgtggcggc 420

gtgaccgcag tggaggcagt gcatgcatgg cgcaatgcac tgacgggtgc cccgctcaac 480

ttgaccccc agcaggttgt ggccatgcc agcaatggcg gtggcaagca ggcgctggag 540

acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ccagcaggtg 600

gtggccatcg ccagcaataa tggtaggcaag caggcgttg agacggtcca gcggtgttg 660

ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc cccagcagg tggtaggcat cgccagcaat 720

ggcgttgcca agcaggcgtt ggagacggtc cagcggctgt tgccggtgct gtgccaggcc 780

cacggcttga ccccgagca ggtgttggtc atcgccagcc acgatggcgg caagcaggcg 840

ctggagacgg tccagcggct gttgccgttg ctgtgccagg cccacggctt gaccccgag 900

caggtggttg ccatgccag ccacgatggc ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg 960

ctgttgccgg tctgttgcca ggcccaggc ttgacccgg agcaggttgt ggccatgcc 1020

agccacgatg gcggaagca ggcgtggag acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc 1080

caggcccacg gcttgacccc ggagcaggtg gtggccatcg ccagcaatat tggtaggcaag 1140

caggcgttg agacggtgca ggcgtgttg ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc 1200

ccggagcagg tggtaggcat cgccagccac gatggcggca agcaggcgtt ggagacggtc 1260

cagcggctgt tgccggtgct gtgccaggcc cacggcttga ccccgagca ggtggtggcc 1320
atcgccagca atattggttg caagcaggcg ctggagacgg tgcaggcgct gttgccggtg 1380
ctgtgccagg cccacggctt gacccccag caggtggtgg ccatcgccag caataatggt 1440
ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg ctgttgccgg tgcgtgccca ggcccacggc 1500

ttgaccccg agcaggtggt ggccatcgcc agcaatattg gtggcaagca ggcgctggag 1560
acggtgcagg cgctgttgcc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ccagcaggtg 1620
gtggccatcg ccagcaatgg cgggtggcaag caggcgctgg agacggtcca gcggctgttg 1680
ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc ccggagcagg tgggtggccat cgccagcaat 1740
attggtggca agcaggcgct ggagacggtg caggcgctgt tgccggtgct gtgccaggcc 1800
cacggcttga cccccagca ggtggtggcc atcgccagca atggcgggtg caagcaggcg 1860
ctggagacgg tccagcggtt gttgccggtg ctgtgccagg cccacggctt gaccccgag 1920

caggtggtgg ccatcgccag ccacgatggc ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg 1980
ctgttgccgg tgcgtgccca ggcccacggc ttgacccctc agcaggtggt ggccatcgcc 2040
agcaatggcg gcggcaggcc ggcgctggag agcattgttg ccagttatc tcgccctgat 2100
ccggcggttg ccgcttgac caacgaccac ctgctgcct tggcctgcct cggcgggcgt 2160
cctgcgttg atgcagtga aaagggttg ggggatccta tcagccgtt ccagctggtg 2220
aagtcgagc tggaggagaa gaaatccgag ttgaggcaca agctgaagta cgtgcccac 2280
gagtacatcg agctgatcga gatgccccg aacagcacc aggaccgtat cctggagatg 2340

aagtgatgg agttcttcat gaagtgtag ggtacaggg gcaagcacct gggcggtcc 2400
aggaagccc acggcgccat ctacaccgtg ggtccccca tcgactacgg cgtgatcgtg 2460
gacaccaagg cctactcgg cggctacaac ctgcccacg gccaggccga cgaaatgcag 2520
aggtacgtgg aggagaacca gaccaggaac aagcacatca accccaacga gtggtggaag 2580
gtgtacccct ccagcgtgac cgagttcaag ttctgttcg tgtccggcca cttcaagggc 2640
aactacaagg ccagctgac caggtgaac cacatcacca actgcaacgg cgccgtgctg 2700
tccgtggagg agctcctgat cggcggcgag atgatcaagg ccggcacct gaccctggag 2760

gaggtgagga ggaagttcaa caacggcgag atcaacttcg cgcccgactg ataa 2814

<210> 23
<211> 2832
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> TALEN TRAC pCLS11369

<400> 23

atgggcgatc ctaaaaagaa acgtaaggtc atcgataagg agaccgccgc tgccaagttc	60
gagagacagc acatggacag catcgataac gccgatctac gcacgctcgg ctacagccag	120
cagcaacagg agaagatcaa accgaagggt cgttcgacag tggcgagcga ccacaggga	180
ctggtcggcc acgggtttac acacgcgcac atcgttgcgt taagccaaca cccggcagcg	240
ttagggaccg tcgtgtcaa gtatcaggac atgatcgag cgttgccaga ggcgacacac	300
gaagcgatcg ttggcgctcg caaacagtgg tccggcgac gcgctctgga ggccttgctc	360
acggtggcgg gagagttgag aggtccaccg ttacagtgg acacaggcca acttctcaag	420
attgcaaac gtggcggtcg gaccgcagtg gaggcagtg atgatggcg caatgcactg	480
acgggtgccc cgctcaactt gaccccgag caggtggtgg ccatcgccag ccacgatggc	540
ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc	600
ttgaccccc agcaggtggt ggccatcgcc agcaatggcg gtggcaagca ggcgctggag	660
acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ggagcaggtg	720
gtggccatcg ccagccagca tggcggaag caggcgctgg agacgggtca gcgctgttg	780
ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc ccggagcagg ttgtggccat cgccagcaat	840
attggtggca agcaggcgct ggagacggtg caggcgctgt tgccggtgct gtgccaggcc	900
cacggcttga cccccagca ggtggtggcc atcgccagca ataagtgtgg caagcaggcg	960
ctggagacgg tccagcgctt gttgccgtg ctgtgccagg cccacggctt gacccggag	1020
caggtggtgg ccatcgccag ccacgatggc ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg	1080
ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc ttgaccccc agcaggtggt ggccatcgcc	1140
agcaatggcg gtggcaagca ggcgtggag acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc	1200
caggcccacg gcttgacccc ccagcaggtg gtggccatcg ccagcaataa ttgtggcaag	1260
caggcgctgg agacgggtca gcggtgttg ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc	1320
ccccagcagg ttgtggccat cgccagcaat aatggtggca agcaggcgct ggagacggtc	1380
cagcggtgtg tgccggtgct gtgccaggcc cagggcttga cccccagca ggtggtggcc	1440
atcgccagca atggcggtgg caagcaggcg ctggagacgg tccagcgctt gttgccggtg	1500
ctgtgccagg cccacggctt gacccggag caggtggtgg ccatcgccag caatatggt	1560
ggcaagcagg cgctggagac ggtgcaggcg ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc	1620
ttgaccccg agcaggtggt ggccatcgcc agccacgatg gcggcaagca ggcgctggag	1680
acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ggagcaggtg	1740
gtggccatcg ccagcaatat ttgtggcaag caggcgctgg agacggtgca ggcgctgttg	1800

ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc ccggagcagg tggaggccat cgccagccac	1860
gatggcggca agcaggcgct ggagacggtc cagcggctgt tgccggtgct gtgccaggcc	1920
cacggttga cccccagca ggtggtggcc atcgccagca ataatggtgg caagcaggcg	1980
ctggagacgg tccagcggtt gttgccggtg ctgtgccagg ccacaggctt gaccctcag	2040
caggtggtgg ccatcgccca caatggcggc ggcaggccgg cgctggagag cattgttgc	2100
cagttatctc gccctgatcc ggcgttggcc gcgttgacca acgaccacct cgtcgcttg	2160
gcctgcctcg gcggcgctcc tgcgtggat gcagtaaaa agggattggg ggatcctatc	2220
agccgttccc agctggtgaa gtccgagctg gaggagaaga aatccgagtt gaggcacaag	2280
ctgaagtacg tgccccacga gtacatcgag ctgatcgaga tcgcccggaa cagcaccag	2340
gaccgtatcc tggagatgaa ggtgatggag ttcttcatga aggtgtacgg ctacaggggc	2400
aagcacctgg gcggctccag gaagcccgcac ggcgccatct acaccgtggg ctccccatc	2460
gactacggcg tgatcgtgga caccaaggcc tactccggcg gctacaacct gccatcggc	2520
caggccgacg aaatgcagag gtacgtggag gagaaccaga ccaggaacaa gcacatcaac	2580
cccaacgagt ggtggaaggt gtaccctcc agcgtgaccg agttcaagtt cctgttcgtg	2640
tccggccact tcaagggcaa ctacaaggcc cagctgacca ggctgaacca catcaccaac	2700
tgcaacggcg ccgtgctgtc cgtggaggag ctctgatcg gcggcgagat gatcaaggcc	2760
ggcacctga ccctggagga ggtgaggagg aagttcaaca acggcgagat caacttcgcg	2820
gccgactgat aa	2832
<210> 24	
<211> 2745	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> TALEN CD25 pCLS30480	
<400> 24	
atgggcgatc ctaaaaagaa acgtaaggtc atcgattacc catacgtatg tccagattac	60
gctatcgata tcgccgatct acgcacgctc ggctacagcc agcagcaaca ggagaagatc	120
aaaccgaagg ttctgtcgac agtggcgcag caccacgagg cactggtcgg ccacgggttt	180
acacacgcgc acatcgttgc gttaagccaa caccggcag cgttiaggac cgtcgctgtc	240
aagtatcagg acatgatcgc agcgttgcca gaggcgacac acgaagcgat cgttggcgtc	300
ggcaaacagt ggtccggcgc acgcgtctctg gaggccttgc tcacggtggc gggagagttg	360
agaggtccac cgttacagtt ggacacaggc caacttctca agattgcaaa acgtggcggc	420

gtgaccgcag tggaggcagt gcatgcatgg cgcaatgcac tgacgggtgc cccgctcaac	480
ttgaccccc agcagggtgt ggccatcgcc agcaataatg gtggcaagca ggcgctggag	540
acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ccagcaggtg	600
gtggccatcg ccagcaatgg cgggtggcaag caggcgctgg agacgggtcca gcggctgttg	660
ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc cccagcagg tgggtggcat cgccagcaat	720
ggcgggtggca agcaggcgct ggagacggtc cagcggtgtg tgccggtgct gtgccaggcc	780
cacggcttga ccccgagca ggtggtggcc atcgccagcc acgatggcgg caagcaggcg	840
ctggagacgg tccagcggt gttgccggtg ctgtgccagg cccacggctt gacccccag	900
caggtggtgg ccatcgccag caatggcggg ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg	960
ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc ttgaccccc agcagggtgt ggccatcgcc	1020
agcaatggcg gtggcaagca ggcgctggag acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc	1080
caggcccacg gcttgacccc ccagcaggtg gtggccatcg ccagcaatgg cgggtggcaag	1140
caggcgctgg agacgggtcca gcggctgttg ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc	1200
ccccagcagg tgggtggcat cgccagcaat ggcggtggca agcaggcgct ggagacggtc	1260
cagcggtgtg tgccggtgct gtgccaggcc cacggcttga ccccccagca ggtggtggcc	1320
atcgccagca ataattgtgg caagcaggcg ctggagacgg tccagcggt gttgccggtg	1380
ctgtgccagg cccacggctt gacccccag caggtggtgg ccatcgccag caataatggt	1440
ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc	1500
ttgaccccc agcagggtgt ggccatcgcc agcaatggcg gtggcaagca ggcgctggag	1560
acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ccagcaggtg	1620
gtggccatcg ccagcaatgg cgggtggcaag caggcgctgg agacgggtcca gcggctgttg	1680
ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc cccagcagg tgggtggcat cgccagcaat	1740
ggcgggtggca agcaggcgct ggagacggtc cagcggtgtg tgccggtgct gtgccaggcc	1800
cacggcttga ccccccagca ggtggtggcc atcgccagca atggcggtgg caagcaggcg	1860
ctggagacgg tccagcggt gttgccggtg ctgtgccagg cccacggctt gacccccgag	1920
caggtggtgg ccatcgccag ccacgatggc ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg	1980
ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc ttgacccctc agcagggtgt ggccatcgcc	2040
agcaatggcg gcggcaggcc ggcgctggag agcattgttg cccagttatc tcgccctgat	2100
ccgagtggca gcggaagtgg cggggatcct atcagccgtt cccagctggt gaagtccgag	2160
ctggaggaga agaaatccga gttgaggcac aagctgaagt acgtgcccc cgagtacatc	2220

gagctgatcg agatcgcccc gaacagcacc caggaccgta tcctggagat gaaggtgatg 2280

gagtttctca tgaaggtgta cggctacagg ggcaagcacc tgggcggctc caggaagccc 2340

gacggcgcca tctacacgt gggctcccc atcgactacg gcgtgatcgt ggacaccaag 2400

gcctactccg gcggctacaa cctgccccatc ggccaggccg acgaaatgca gaggtacgtg 2460

gaggagaacc agaccaggaa caagcacatc aaccccaacg agtggtggaa ggtgtacccc 2520

tccagcgtga ccgagttcaa gttctgttc gtgtccggcc acttcaaggg caactacaag 2580

gcccagctga ccaggctgaa ccacatcacc aactgcaacg gcgccgtgct gtccgtggag 2640

gagctcctga tcggcggcga gatgatcaag gccggcacc tgaccctgga ggaggtgagg 2700

aggaagttca acaacggcga gatcaacttc gcggccgact gataa 2745

<210> 25

<211> 2745

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TALEN CD25 pCLS30479

<400> 25

atgggcgatc ctaaaaagaa acgtaaggtc atcgattacc catacgatgt tccagattac 60

gtatcagata tcgccgatct acgcacgtc ggctacagcc agcagcaaca ggagaagatc 120

aaaccgaagg ttcgttcgac agtggcgcag caccacaggg cactggctcg ccacgggttt 180

acacacgcgc acatcgttgc gttaagccaa caccgcgcag cgttagggac cgtcgtctgc 240

aagtatcagg acatgatcgc agcgttgcca gaggcgacac acgaagcgat cgttggcgtc 300

ggcaaacagt ggtccggcgc acgcgtctctg gaggccttgc tcacggtggc gggagagttg 360

agaggttcac cgttacagtt ggacacaggc caacttctca agattgcaaa acgtggcggc 420

gtgaccgcag tggaggcagt gcatgcatgg cgcaatgcac tgacgggtgc cccgctcaac 480

ttgaccccgg agcaggtggt ggccatcgcc agcaatatgt gtggcaagca ggcgctggag 540

acggtgcagg cgtgtgttgc ggtgtgtgtc caggcccacg gcttgacccc ggagcaggtg 600

gtggccatcg ccagccacga tggcggcaag caggcgctgg agacggtcca gcggctgttg 660

ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc ccggagcagg tggtagccat cgccagcaat 720

attggtggca agcaggcgct ggagacgggtg caggcgctgt tgccggtgct gtgccaggcc 780

cacggcttga cccccagca ggtggtggcc atcgccagca ataagtgtgg caagcaggcg 840

ctggagacgg tccagggct gttgccggtg ctgtgccagg cccacggctt gacccccag 900

caggtggtgg ccatcgccag caataatggt ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg 960

ctgttgccgg tgctgtgcc ggcccacggc ttgaccccg agcaggtggt ggccatcgcc	1020
agcaatattg gtggcaagca ggcgctggag acggtgcagg cgctgttgcc ggtgctgtgc	1080
caggcccacg gcttgacccc ccagcaggtg gtggccatcg ccagcaataa tgggtggcaag	1140
caggcgctgg agacggtcca gcggctgttg ccggtgctgt gccaggccca cggttgacc	1200
ccccagcagg tgggtggccat cgccagcaat aatggtggca agcaggcgct ggagacggtc	1260
cagcggtgtg tgccggtgct gtgccaggcc cagcgcttga ccccgagca ggtggtggcc	1320
atcgccagca atatgtgtgg caagcaggcg ctggagacgg tgcaggcgct gttgccggtg	1380
ctgtgccagg cccacggctt gaccccgag caggtggtgg ccatcgccag caatattggt	1440
ggcaagcagg cgctggagac ggtgcaggcg ctgttgccgg tgctgtgcc ggcccacggc	1500
ttgaccccc agcaggtggt ggccatcgcc agcaataatg gtggcaagca ggcgctggag	1560
acgttcacg ggtgtgtgc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ggagcaggtg	1620
gtggccatcg ccagcaatat tgggtggcaag caggcgctgg agacggtgca ggcgctgttg	1680
ccggtgctgt gccaggccca cggttgacc cccagcagg tgggtggccat cgccagcaat	1740
aatggtggca agcaggcgct ggagacggtc cagcggtgtg tgccggtgct gtgccaggcc	1800
cacggcttga cccccagca ggtggtggcc atcgccagca atggcggtgg caagcaggcg	1860
ctggagacgg tccagcggt gttgccggtg ctgtgccagg cccacggctt gaccccgag	1920
caggtggtgg ccatcgccag caatattggt ggcaagcagg cgctggagac ggtgcaggcg	1980
ctgttgccgg tgctgtgcc ggcccacggc ttgacccctc agcaggtggt ggccatcgcc	2040
agcaatggcg gcggcaggcc ggcgctggag agcattgttg ccagttatc tcgacctgat	2100
ccgagtggca gcggaagtgg cggggatcct atcagccgtt cccagctggt gaagtccgag	2160
ctggaggaga agaatccga gttgaggcac aagctgaagt acgtgcccc cgagtacatc	2220
gagctgatcg agatgcccc gaacagcacc caggaccgta tctggagat gaaggtgatg	2280
gagttcttca tgaagggtga cggctacagg ggcaagcacc tgggcggctc caggaagccc	2340
gacggcgcca tctacaccgt gggctcccc atcgactacg gcgtgatcgt ggacaccaag	2400
gcctactccg gcggctacaa cctgcccac gccaggccg acgaaatgca gaggtacgtg	2460
gaggagaacc agaccaggaa caagcacatc aacccaacg agtgggtgaa ggtgtacccc	2520
tccagctga ccgagttcaa gttctgttc gtgtccggcc acttcaaggg caactacaag	2580
gcccagctga ccaggctgaa ccacatcacc aactgcaac gcgccgtgct gtccgtggag	2640
gagctcctga tcggcggcga gatgatcaag gccggcacc tgaccctgga ggaggtgagg	2700

aggaagtcca acaacggcga gatcaacttc gcggccgact gataa 2745

<210> 26

<211> 2814

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TALEN PD1 pCLS28959

<400> 26

atgggcgac	ctaaaaagaa	acgtaaggtc	atcgattacc	catacgatgt	tccagattac	60
gctatcgata	tcgccgatct	acgcacgctc	ggctacagcc	agcagcaaca	ggagaagatc	120
aaaccgaagg	ttcgttcgac	agtggcgag	caccacgagg	cactggtcgg	ccacgggttt	180
acacacgcgc	acatcgttgc	gttaagccaa	cacccggcag	cgtagggac	cgtcgctgtc	240
aagtatcagg	acatgatcgc	agcgttgcca	gaggcgacac	acgaagcgat	cgttggcgtc	300
ggcaaacagt	ggtccggcgc	acgcgctctg	gaggccttgc	tcacggtggc	gggagagttg	360
agaggttcac	cgttacagtt	ggacacaggc	caacttctca	agattgcaaa	acgtggcggc	420
gtgaccgcag	tggaggcagt	gcatgcatgg	cgcaatgcac	tgacgggtgc	cccgctcaac	480
ttgacccccg	agcaagtgg	ggctatcgct	tccaagctgg	ggggaaagca	ggccctggag	540
accgtccagg	cccttctccc	agtgttttgc	caggctcacg	gactgacccc	tgaacagggtg	600
gtggcaattg	ctcacacga	cgggggcaag	caggcactgg	agactgtcca	gaggctgctg	660
cctgtcctct	gccaggccca	cggactcact	cctgagcagg	tcgtggccat	tgccagccac	720
gatgggggca	aacaggctct	ggagaccgtg	cagcgcctcc	tcccagtgct	gtgccaggct	780
catgggctga	ccccacagca	ggtcgtcgcc	attgccagta	acggcggggg	gaagcaggcc	840
ctcgaacag	tgcagaggct	gctgcccgtc	ttgtgccaag	cacacggcct	gacacccgag	900
cagggtggtg	ccatgcctc	tcatgacggc	ggcaagcagg	cccttgagac	agtgcagaga	960
ctgttgcccc	tggtgtgtca	ggcccacggg	ttgacacccc	agcagggtgt	cgccatcgcc	1020
agcaatggcg	ggggaaagca	ggcccttgag	accgtgcagc	ggttgcttcc	agtgttgtgc	1080
caggcacacg	gactgacccc	tcaacagggt	gtcgcaatcg	ccagctacaa	gggcggaaag	1140
caggctctgg	agacagtgtc	gcgcctctctg	cccgtgtgtg	gtcagggtca	cggactgaca	1200
ccacagcagg	tggtcgccat	cgccagtaac	gggggcggca	agcaggcttt	ggagaccgtc	1260
cagagactcc	tccccgtcct	ttgccaggcc	cacgggttga	cacctcagca	ggtcgtcgcc	1320
attgcctcca	acaacggggg	caagcaggcc	ctcgaaactg	tgcagaggct	gtgcctgtg	1380
ctgtgccagg	ctcatgggct	gacaccccag	cagggtgggtg	ccattgcctc	taacaacggc	1440

ggcaaacagg cactggagac cgtgcaaagg ctgctgcccc tcctctgcca agcccacggg	1500
ctcactccac agcaggctgt ggccatcgcc tcaaacaatg gcgggaagca ggccctggag	1560
actgtgcaaa ggetgtctcc tgtgtctctgc caggcacacg gactgacccc tcagcaggtg	1620
gtggcaatcg cticcaacaa cgggggaaag caggccctcg aaaccgtgca gcgcctcctc	1680
ccagtgtgtg gccaggcaca tggcctcaca cccgagcaag tgggtggtat cgccagccac	1740
gacggaggga agcaggctct ggagaccgtg cagaggctgc tgctgtcct gtgccaggcc	1800
cacgggctta ctccagagca ggtcgtcgcc atcgccagtc atgatggggg gaagcaggcc	1860
cttgagacag tccagcggt gctgccagtc ctttgccagg ctacaggctt gactcccag	1920
caggtcgtgg ccattgcctc aaacattggg ggcaaacagg ccctggagac agtgcaggcc	1980
ctgctgcccc tgttgtgca gggccacggc ttgacacccc agcagggtgt cgccattgcc	2040
tctaattggc gcgggagacc cgccttggag agcattgttg ccagttatc tcgccctgat	2100
ccggcgttgg ccgcgttgac caacgaccac ctgctgcct tggcctgcct cggcgggcgt	2160
cctgcgttg atgcagtga aaagggttg ggggatccta tcagccgttc ccagctggtg	2220
aagtccgagc tggaggagaa gaaatccgag ttgaggcaca agctgaagta cgtgccccac	2280
gagtacatcg agctgatcga gatcggcgg aacagcacc aggaccgtat cctggagatg	2340
aaggtgatgg agttcttcat gaaggtgtac ggctacaggg gcaagcacct gggcggctcc	2400
aggaagcccc acggcgccat ctacaccgtg ggctcccca tcgactacgg cgtgatcgtg	2460
gacaccaagg cctactccg gcgctacaac ctgcccacg gccaggccga cgaaatgcag	2520
aggtacgtgg aggagaacca gaccaggaac aagcacatca accccaacga gtggtggaag	2580
gtgtaccct ccagcgtgac cgagtcaag ttctgttcg tgtccggcca cttcaagggc	2640
aactacaagg ccagctgac caggtgaac cacatcacca actgcaacgg cgccgtgctg	2700
tccgtggagg agctcctgat cggcggcgag atgatcaagg ccggcaccct gaccctggag	2760
gaggtgagga ggaagttaa caacggcgag atcaacttcg cggccgactg ataa	2814
<210> 27	
<211> 2829	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> TALEN PD1 pCLS18792	
<400> 27	
atgggcgac ctaaaaagaa acgtaaggtc atcgataagg agaccgccgc tgccaagtgc	60
gagagacagc acatggacag catcgatatc gccgatctac gcacgctcgg ctacagccag	120

cagcaacagg agaagatcaa accgaaggtt cgttcgacag tggcgagca ccacaggca	180
ctggtcggcc acgggtttac acacgcgcac atcgttgcgt taagccaaca cccggcagcg	240
ttagggaccg tcgctgtcaa gtatcaggac atgatcgag cgttgccaga ggcgacacac	300
gaagcgatcg ttggcgctcg caaacagtgg tccggcgac gcgctctgga ggccttgctc	360
acggtggcgg gagagtttag aggtccaccg ttacagtgg acacaggcca acttctcaag	420
attgcaaac gtggcggtcg gaccgcagtg gaggcagtgc atgatggcg caatgcactg	480
acgggtgccc cgctcaactt gacccccgag caagtctcg caatcgccag ccatgatgga	540
gggaagcaag cctcgaac cgtgcagcgg ttgcttctg tgctctgcca ggcacagcg	600
cttaccctc agcaggtggt ggccatcgca agtaacggag gaggaagca agccttgag	660
acagtgcagc gcctgttgc cgtgctgtgc caggcacacg gcctcacacc agagcaggtc	720
gtggccattg cctcccatga cgggggaaa caggtctgga agaccgtcca gaggtgctg	780
ccgctcctt gtcaagctca cggcctgact cccaacaag tggctgcat cgcctctaat	840
ggcggcgga agcaggcact ggaaacagtg cagagactgc tccctgtgct ttgccaagct	900
catgggttga ccccccaac ggtcgtcgt attgcctca acggggggg caagcagcc	960
cttgagactg tgcagaggt gtggcagtg ctgtgtcagg ctacgggct cactccaca	1020
caggtggtcg caattgccag caacggcggc ggaaagcaag ctcttgaaac cgtgcaacgc	1080
ctctgcccg tgctctgca ggctcatggc ctgacaccac aacaagtcgt ggccatgcc	1140
agtaataatg gcgggaaaca ggctcttgag accgtccaga ggctgctccc agtgctctgc	1200
caggcacacg ggctgacccc cgagcaggtg gtggctatcg ccagcaatat tggggcaag	1260
caggccctgg aaacagtcca ggccctgctg ccagtgttt gccaggctca cgggtcact	1320
ccccagcagg tcgtggcaat cgcctccaac ggcgaggga agcaggctct ggagaccgtg	1380
cagagactgc tgccgtctt gtgccaggcc caggactca cactgaaca ggtcgtcgcc	1440
attgcctctc acgatggggg caaacaagcc ctggagacag tgcagcggct gttgcctgtg	1500
ttgtgccaag cccacggctt gactctcaa caagtgtcg ccatgcctc aatggcggc	1560
ggaaaacaag ctctggagac agtgagagg ttgctgccc tcctctgcca agcccacggc	1620
ctgactccc aacaggtcgt cgccattgcc agcaacaac gaggaagca ggctctcgaa	1680
actgtgcagc ggctgcttc tgtgtgtgt caggctcatg ggctgacccc cgagcaagtg	1740
gtggctattg cctctaatgg aggcaagca gcccttgaga cagtcagag gctgttgcca	1800
gtgtgtgcc agggccacgg gctcacacc cagcaggtgg tcgcatcgc cagtaacaac	1860
gggggcaaac aggcattgga aaccgtccag cgcctgttc cagtgtctg ccaggcacac	1920

ggactgacac ccgaacaggt ggtggccatt gcatcccatg atgggggcaa gcaggccctg 1980

gagaccgtgc agagactcct gccagtgttg tgccaagctc acggcctcac ccctcagcaa 2040

gtcgtggcca tcgcctcaaa cggggggggc cggcctgcac tggagagcat tgttgcccag 2100

ttatctcgcc ctgatccggc gttggccgct ttgaccaacg accacctcgt cgccttggcc 2160

tgctcggcg ggcgtctcgc gctggatgca gtgaaaaagg gattggggga tcctatcagc 2220

cgttcccagc tggatgaagc cgagctggag gagaagaaat ccgagttgag gcacaagctg 2280

aagtacgtgc cccacgagta catcgagctg atcgagatcg cccggaacag caccaggac 2340

cgtatcctgg agatgaaggt gatggagtgc ttcatgaagg tgtacggcta caggggcaag 2400

cacctgggcg gctccaggaa gcccgcggc gccatctaca ccgtgggctc ccccatcgac 2460

tacggcgtga tcgtggacac caaggcctac tccggcggct acaacctgcc catcgccag 2520

gccgacgaaa tgcagaggta cgtggaggag aaccagacca ggaacaagca catcaacccc 2580

aacgagtggg ggaagggtga cccctccagc gtgaccgagt tcaagttcct gttcgtgtcc 2640

ggccacttca agggcaacta caagcccag ctgaccaggc tgaaccacat caccaactgc 2700

aacggcgccg tgcgtgccgt ggaggagctc ctgatccgcg gcgagatgat caagccggc 2760

accctgaccc tggaggaggt gaggaggaag ttcaacaacg gcgagatcaa ctgcgccc 2820

gactgataa 2829

<210> 28

<211> 49

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TALEN target TRAC

<400> 28

ttgtccaca gatatccaga accctgaccc tgccgtgtac cagctgaga 49

<210> 29

<211> 45

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TALEN target CD25

<400> 29

tacaggagga agagtagaag aacaatctag aaaacaaaa gaaca 45

<210> 30

<211> 49

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> TALEN target PD1

<400> 30

tacctctgtg gggccatctc cctggccccc aaggcgagaga tcaaagaga 49

<210> 31

<211> 2897

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Matrice TRAC locus_CubiCAR CD22 pCLS30056

<400> 31

ttgctgggccc tttttcccat gcctgccttt actctgccag agttatattg ctgggggtttt 60

gaagaagatc ctattaaata aaagaataag cagtattatt aagtagccct gcatttcagg 120

tttctctgag tggcaggcca ggccctggccg tgaacgttca ctgaaatcat ggccctcttg 180

ccaagattga tagcttgtgc ctgtccctga gtcccagtc atcacgagca gctggtttct 240

aagatgctat ttcccgtata aagcatgaga ccgtgacttg ccagccccac agagccccgc 300

ccttgtccat cactggcatc tggactccag cctgggttgg ggcaaagagg gaaatgagat 360

catgtcctaa cctgatcct cttgtccac agatatccag taccctacg acgtgcccga 420

ctacgcctcc ggtgagggca gaggaagtct tctaacatgc ggtgacgtgg aggagaatcc 480

gggccccgga tccgctctgc ccgtcaccgc tctgtctgtg ccaactggcac tgctgtgtga 540

cgctgtctagg cccggagggg gaggcagctg ccctacagc aaccccagcc tgtgcagcgg 600

aggcgggggc agcgggggag ggggtagcca ggtgcagctg cagcagagcg gccctggcct 660

ggtgaagcca agccagacac tgtccctgac ctgcgccatc agcgggcgatt ccgtgagctc 720

caactccgcc gcctggaatt ggatcaggca gtccccttct cggggcctgg agtggtctggg 780

aaggacatac tatcggtcta agtggtacaa cgattatgcc gtgtctgtga agagcagaat 840

cacaatcaac cctgacacct ccaagaatca gtctctcttg cagctgaata gcgtgacacc 900

agaggacacc gccgtgtact attgcgccag ggaggtgacc ggcgacctgg aggatgcctt 960

tgacatctgg ggccagggca caatggtgac cgtgagctcc ggaggcgggc gatctggcgg 1020

aggaggaagt gggggcgggc ggagtgtat ccagatgaca cagtcccat cctctctgag 1080

cgctccgtg ggcgacagag tgacaatcac ctgtagggcc tcccagacca tctggtctta 1140

cctgaactgg tatcagcaga ggccccgcaa ggcccctaata ctgctgatct acgcagcaag 1200

ctccctgcag agcggagtgc catccagatt ctctggcagg ggctccggca cagacttcac	1260
cctgaccatc tctagctgc aggccgagga ctctgccacc tactattgcc agcagtccta	1320
tagcatcccc cagacatttg gccagggcac caagctggag atcaagtcgg atcccgaag	1380
cggaggggga ggcagctgcc cctacagcaa cccagcctg tgcagcggag gcggcggcag	1440
cgagctgccc acccaggga cttctccaa cgtgtccacc aacgtgagcc cagccaagcc	1500
caccaccacc gectgtcctt attccaatcc ttccctgtgt gctcccacca caacccccgc	1560
tccaaggccc cctacccccg caccaactat tgctcccag ccactctcac tgcggcctga	1620
ggcctgtcgg cccgtgtctg gaggcgcagt gcatacaagg ggcctcgatt tcgctgcga	1680
tatttacatc tgggcacccc tcgccggcac ctgcgggtg cttctcctct ccctggtgat	1740
taccctgtat tgcagacggg gccggaagaa gctcctctac attttaagc agcctttcat	1800
gcggccagtg cagacaaccc aagaggagga tgggtgttcc tgcagattcc ctgaggaaga	1860
ggaaggcggg tgcgagctga gagtgaagtt ctccaggagc gcagatgccc cgcctatca	1920
acagggccag aaccagctct acaacgagct taacctcggg aggcgcgaag aatacgacgt	1980
gttggataag agaagggggc gggaccccga gatgggagga aagccccga ggaagaaccc	2040
tcaggagggc ctglacaacg agctgcagaa ggataagatg gccgaggcct actcagagat	2100
cgggatgaag ggggagcggc gccgcgggaa ggggcacgat gggctctacc aggggctgag	2160
cacagccaca aaggacacat acgacgcctt gcacatgcag gcccttcac cccgggaata	2220
gtctagaggg cccgtttaaa cccgtgatc agcctcgact gtgccttcta gttgccagcc	2280
atctgttgtt tgccccccc ccgtgccttc cttgacctg gaaggcgca ctcccactgt	2340
cttttctaa taaaatgagg aaattgcac gcattgtctg agtaggtgtc attctattct	2400
ggggggtggg gtggggcagg acagcaaggg ggaggattgg gaagacaata gcaggcatgc	2460
tggggatgcg gtgggtctta tgactagtgg cgaattcccg tgtaccagct gagagactct	2520
aaatccagtg acaagtctgt ctgcctattc accgattttg attctcaaac aaatgtgtca	2580
caaagtaagg attctgatgt gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg	2640
gacttcaaga gcaacagtgc tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac	2700
gccttcaaca acagcattat tccagaagac accttcttc ccagcccagg taagggcagc	2760
tttggtgctc tcgcaggctg ttctcttctc tcaggaatgg ccaggttctg cccagagctc	2820
tggatcaatga tgictaaaac tcctctgatt ggtggtctcg gccttatcca ttgccacaa	2880
aacctctttt ttactaa	2897
<210> 32	
<211> 2688	

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Matrice CD25 locus_IL15_2A_sIL15Ra pCLS30519

<400> 32

gtttattatt cctgttccac agctattgtc tgccatataa aaacttaggc caggcacagt	60
ggctcacacc tgtaatccca gcactttgga aggccgagge aggcagatca caaggtcagg	120
agttcgagac cagcctggcc aacatagcaa aaccccatct ctactaaaaa tacaaaaatt	180
agccaggcat ggtggcgtgt gcactggttt agagttagga ccacattttt ttggtgccgt	240
gttacacata tgaccgtgac tttgttacac cactacagga ggaagagtag aagaacaatc	300
ggttctggcg tgaacagac tttgaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag	360
tccaaccag ggcccgtac cgggtccgcc accatggact ggacctggat tctgttcctc	420
gtggctgctg ctacaagagt gcacagcggc attcatgtct tcattttggg ctgtttcagt	480
gcagggttc ctaaaacaga agccaactgg gtgaatgtaa taagtattt gaaaaaatt	540
gaagatctta ttcaatctat gcatattgat gctactttat atacggaaag tgatgttcac	600
cccagttgca aagtaacagc aatgaagtgc tttctcttgg agttacaagt tatttcactt	660
gagtccggag atgcaagtat tcatgataca gtagaaaatc tgatcatcct agcaaacaac	720
agtttgtctt ctaatgggaa tgtaacagaa tctggatgca aagaatgtga ggaactggag	780
gaaaaaata ttaaagaatt tttgcagagt tttgtacata ttgtccaaat gttcatcaac	840
acttctggaa gcggagctac taacttcagc ctgctgaagc aggtctggaga cgtggaggag	900
aacctggac ctgggaccgg ctctgcaacc atggattgga cgtggatcct gtttctcgtg	960
gcagctgccca caagagtcca cagtatcacg tgccctcccc ccatgtccgt ggaacacgca	1020
gacatctggg tcaagagcta cagcttgtac tccaggagc ggtacatttg taactctggt	1080
ttcaagccta aagccggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccacgaat	1140
gtcgcctact ggacaacccc cagtctcaaa tgcattagag acctgcctt ggttcaccaa	1200
aggccagcgc caccctccac agtaacgacg gcaggggtga cccacagcc agagagcctc	1260
tccccctctg gaaaagagcc cgcagcttca tctcccagct caaacaacac agcggccaca	1320
acagcagcta ttgtcccggg ctcccagctg atgccttcaa aatcaccttc cacaggaacc	1380
acagagataa gcagtcatga gtcctccac ggcacccct ctcagacaac agccaagaac	1440
tgggaactca cagcatccgc ctcccaccag ccgccagggtg tgtatccaca gggccacagc	1500
gacaccactg agggcagagg cagcctgctg acctgcggcg acgtcgagga gaaccccggt	1560
cccatggggg caggtgccac cggccgcgcc atggacgggc cgcgcctgct gctgttgctg	1620

cttctggggg tgtcccttgg aggtgccaag gaggcatgcc ccacaggcct gtacacacac	1680
agcggtagt gctgcaaagc ctgcaacctg ggcgagggtg tggcccagcc ttgtggagcc	1740
aaccagaccg tgtgtgagcc ctgcctggac agcgtgacgt tctccgacgt ggtgagcgcg	1800
accgagccgt gcaagccgtg caccgagtgc gtggggctcc agagcatgtc ggcgccgtgc	1860
gtggaggccg atgacgccgt gtgccgctgc gcctacggct actaccagga tgagacgact	1920
gggcgctgcg aggcgtgccg cgtgtgcgag ggcggctcgg gcctcgtgtt ctctgccag	1980
gacaagcaga acaccgtgtg cgaggagtgc cccgacggca cgtattccga cgaggccaac	2040
cacgtggacc cgtgcctgcc ctgcacctg tgcgaggaca ccgagcgcca gctccgcgag	2100
tgcacacgct gggccgacgc cgagtgcgag gagatccctg gccgttggat tacacggtcc	2160
acacccccag agggctcgga cagcacagcc ccagcaccc aggagcctga ggcacctcca	2220
gaacaagacc tcatagccag cacggtggca ggtgtggtga ccacagtgat gggcagctcc	2280
cagcccgtagg tgaccgagg caccaccgac aacctcatcc ctgtctattg ctccatcctg	2340
gctgctgtgg ttgtgggtct tgtggcctac atagccttca agaggtgaaa aacaaaaaga	2400
acaagaattt cttgtaaga agccgggaac agacaacaga agtcatgaag cccaagtga	2460
atcaaaggtg ctaaagtgtc gccaggaga catccgttgt gcttcctgc gttttggaag	2520
ctctgaagtc acatcacagg acacggggca gtggcaacct tgtctctatg ccagctcagt	2580
cccatcagag agcgagcgt acccacttct aaatagcaat ttcgccgttg aagaggaagg	2640
gcaaaaccac tagaactctc catcttattt tcatgtatat gtgttcat	2688
<210> 33	
<211> 2964	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Matrice PD1 locus_IL15_2A_sIL15Ra pCLS30513	
<400> 33	
gactccccag acaggecctg gaaccccccc accttctccc cagccctgct cgtggtgacc	60
gaaggggaca acgccacctt caccitgcagc ttctccaaca catcggagag cttcgtgcta	120
aactggtacc gcatgagccc cagcaaccag acggacaagc tggccgcctt ccccaggagc	180
cgagccagc ccggccagga ctgccgcttc cgtgtcacac aactgcccaa cgggcgtgac	240
ttccacatga gcgtggtcag ggcccggcgc aatgacagcg gcacctacct ctgtggggcc	300
ggttctggcg tgaaacagac ttgtaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag	360
tccaaccag ggcccgttac cgggtccgcc accatggact ggacctggat tctgttctc	420

gtggctgctg ctacaagagt gcacagcggc attcatgtct tcattttggg ctgtttcagt	480
gcagggttc ctaaacaga agccaactgg gtgaatgtaa taagtattt gaaaaaatt	540
gaagatctta ttcaatctat gcatattgat gctactttat atacggaaag tgatgttcac	600
cccagttgca aagtaacagc aatgaagtgc ttctcttgg agttacaagt tatttcactt	660
gagtcgggag atgcaagtat tcatgataca gtagaaaatc tgatcatcct agcaaacaac	720
agtttgtctt ctaatgggaa tgtaacagaa tctggatgca aagaatgtga ggaactggag	780
gaaaaaata ttaaagaatt ttgacagag tttgtacata ttgtccaaat gttcatcaac	840
acttctgtaa gcgagctac taacttcagc ctgctgaagc aggcctggaga cgtggaggag	900
aacctggac ctgggaccgg ctctgcaacc atggattgga cgtggatcct gtttctctg	960
gcagctgcca caagagtca cagtatcacg tgccctcccc ccatgtccgt ggaacacgca	1020
gacatctggg tcaagageta cagcttgtac tccagggagc ggtacatttg taactctggt	1080
ttcaagcgta aagccggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaaca ggccacgaat	1140
gtcgcctact ggacaacccc cagtctcaaa tgcattagag acctgcccct ggttcacaa	1200
aggccagcgc caccctccac agtaacgacg gcaggggtga cccacagcc agagagcctc	1260
tccccctctg gaaaagagcc cgcagcttca tctcccagct caaacaacac agcggccaca	1320
acagcageta ttgtcccggt ctcacagctg atgccttcaa aatcacctc cacaggaacc	1380
acagagataa gcagtcata gtctctccac ggccacccct ctcagacaac agccaagaac	1440
tgggaactca cagcatccgc ctcccaccag cggccagggtg tgtatccaca gggccacagc	1500
gacaccactg agggcagagg cagcctgctg acctgcggcg acgtcgagga gaaccccggtg	1560
cccatggggg caggtgccac cgcccgcgcc atggacgggc cgcgctgct gctgttgctg	1620
cttctggggg tgtcccttgg aggtgccaag gaggcattgc ccacagcct gtacacacac	1680
agcggtgagt gctgcaaagc ctgcaacctg ggcgagggtg tggcccagcc ttgtggagcc	1740
aaccagaccg tgtgtgagcc ctgcctggac agcgtgacgt tctccgacgt ggtgagcgcg	1800
accgagccgt gcaagccgtg caccgagtgc gtggggctcc agagcatgtc ggcgcccgtc	1860
gtggaggccg atgacgccgt gtgccgctgc gcctacggct actaccagga tgagacgact	1920
gggcgctgcg aggcgtgccg cgtgtgcgag gcgggctcgg gcctcgtgtt ctctgccag	1980
gacaagcaga acacctgtg cgaggagtgc cccgacggca cgtattccga cgaggccaac	2040
cacgtggacc cgtgccctgc ctgcaccgtg tgcgaggaca ccgagcgcca gctccgcgag	2100
tgcacacgct gggccgacgc cgagtgcgag gagatccctg gccgttgat tacacggtcc	2160
acaccccgag agggctcgga cagcacagcc cccagcacc aggagcctga ggcacctcca	2220

gaacaagacc tcatagccag cacggtggca ggtgtggtga ccacagtat gggcagctcc 2280

cagcccgtagg tgacccgagg caccaccgac aacctcatcc ctgtctattg ctccatcctg 2340

gctgctgtgg ttgtgggtct tgtggcctac atagccttca agaggtgatc tagagggccc 2400

gtttaaaccc gcigatcagc ctgactgtg ccttctagtt gccagccatc tgttgtttgc 2460

ccctccccg tgccttcctt gaccttgga ggtgccactc ccactgtcct ttcctaataa 2520

aatgaggaaa ttgcatcgca ttgtctgagt aggtgtcatt ctattctggg gggtaggggtg 2580

gggcaggaca gcaaggggga ggattgggaa gacaatagca ggcatgctgg ggatgcggtg 2640

ggctctatga ctagtggcga attcggcgca gatcaaagag agcctgcggg cagagctcag 2700

ggtgacaggt gcggcctcgg agggccccggg gcaggggtga gctgagccgg tcctgggggtg 2760

ggtgtccctt cctgcacagg atcaggagct ccagggtcgt agggcaggga cccccagct 2820

ccagtccagg gctctgtcct gcacctgggg aatggtgacc ggcatctctg tcctctagct 2880

ctggaagcac cccagccctt ctactctgcc ctacccctg accctgacct tccacctga 2940

ccccgtccta acccctgacc ttg 2964

<210> 34

<211> 3363

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Matrice CD25 locus_IL12a_2A_IL12b pCLS30520

<400> 34

gtttattatt ccgtttccac agctattgtc tgccatataa aaacttaggc caggcacagt 60

ggctcacacc tgtaatccca gcactttgga aggccgaggc aggcagatca caaggtcagg 120

agttcgagac cagcctggcc aacatagcaa aaccccatct ctactaaaaa tacaaaaatt 180

agccaggcat ggtggcgtgt gcactggttt agagttagga ccacattttt ttggtgccgt 240

gttacacata tgaccgtgac ttgtttacac cactacagga ggaagagtag aagaacaatc 300

ggttctggcg tgaacagac ttgtaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag 360

tccaaccag ggcccatgtg gccccctggg tcagcctccc agccaccgcc ctacactgcc 420

gcggccacag gtctgcatcc agcggctcgc cctgtgtccc tgcagtgccg gctcagcatg 480

tgtccagcgc gcagcctcct ccttgtggct accctggtcc tcctggacca cctcagtttg 540

gccagaaacc tccccgtggc cactccagac ccaggaatgt tccatgcct tcaccactcc 600

caaaacctgc tgagggccgt cagcaaatg ctccagaagg ccagacaaac tctagaattt 660

taccttgca ctctgaaga gattgatcat gaagatatca caaaagataa aaccagcaca 720

gtggaggcct gtttaccatt ggaattaacc aagaatgaga gttgcctaaa ttccagagag	780
acctctttca taactaatgg gagttgcctg gcctccagaa agacctcttt tatgatggcc	840
ctgtgcctta gtagtattta tgaagacttg aagatgtacc aggtggagtt caagaccatg	900
aatgcaaagc ttctgatgga tcctaagagg cagatctttc tagatcaaaa catgctggca	960
gttattgatg agctgatgca ggccctgaat ttcaacagtg agactgtgcc acaaaaatcc	1020
tcccttgaag aaccggattt ttataaaact aaaatcaagc tctgcatact tcttcatgct	1080
ttcagaattc gggcagtgac tattgataga gtgatgagct atctgaatgc ttccggaagc	1140
ggagctacta acttcagcct gctgaagcag gctggagacg tggaggagaa ccctggacct	1200
atgtgtcacc agcagttggt catctcttgg ttttccttgg tttttctggc atctccctc	1260
gtggccatat gggaactgaa gaaagatgtt tatgtcgtag aattggattg gtatccggat	1320
gccccggag aaatggtggt cctcacctgt gacacccctg aagaagatgg tatcacctgg	1380
accttggacc agagcagtga ggtcttaggc tctggcaaaa ccctgacct ccaagtcaaa	1440
gagtttggag atgctggcca gtacacctgt cacaaggag gcgaggttct aagccattcg	1500
ctcctgctgc ttcacaaaaa ggaagatgga atttgggtcca ctgatatttt aaaggaccag	1560
aaagaacca aaaataagac ctttctaaga tgcgaggcca agaattattc tggacgtttc	1620
acctgctggt ggtgacgac aatcagtact gatttgacat tcagtgtcaa aagcagcaga	1680
ggctcttctg accccaagg ggtgacgtgc ggagctgcta cactctctgc agagagagtc	1740
agaggggaca acaaggagta tgagtactca gtggagtgcc aggaggacag tgcctgcca	1800
gctgctgagg agagtctgcc cattgaggtc atggtggatg ccgttcacaa gctcaagtat	1860
gaaaactaca ccagcagctt ctctatcagg gacatcatca aacctgacct acccaagaac	1920
ttgcagctga agccattaaa gaattctcgg caggtggagg tcagctggga gtacctgac	1980
acctggagta ctccacattc ctacttctcc ctgacattct gcgttcaggt ccagggaag	2040
agcaagagag aaaagaaaga tagagtcttc acggacaaga cctcagccac ggtcatctgc	2100
cgcaaaaatg ccagcattag cgtgcgggcc caggaccgt actatagctc atcttggagc	2160
gaatgggcat ctgtgccctg cagtgagggc agaggcagcc tgctgacctg cggcgacgtc	2220
gaggagaacc ccgggcccatt gggggcaggt gccaccggcc gcgccatgga cgggccgcgc	2280
ctgctgctgt tgctgttctt gggggtgtcc ctggagggtg ccaaggaggc atgccccaca	2340
ggcctgtaca cacacagcgg tgagtgtgc aaagcctgca acctgggcga ggggtgtggc	2400
cagccttgtg gagccaacca gaccgtgtgt gagccctgcc tggacagcgt gacgttctcc	2460

gacgtggtga gcgcgaccga gccgtgcaag ccgtgcaccg agtgcgtggg gctccagagc 2520

atgtcggcgc cgtgcgtgga ggccgatgac gccgtgtgcc gctgcgccta cggctactac 2580

caggatgaga cgactgggcg ctgcgaggcg tgcgcgtgt gcgaggcggg ctggggcctc 2640

gtgttctcct gccaggacaa gcagaacacc gtgtgcgagg agtgccccga cggcacgtat 2700

tccgacgagg ccaaccacgt ggaccctgac ctgccctgca ccgtgtgcga ggacaccgag 2760

cgccagctcc gcgagtgcac acgctgggac gacgccgagt gcgaggagat ccctggccgt 2820

tggattacac ggtccacacc cccagagggc tcggacagca cagccccag caccaggag 2880

cctgaggcac ctccagaaca agacctcata gccagcacgg tggcaggtgt ggtgaccaca 2940

gtgatgggca gctcccagcc cgtggtgacc cgaggcacca ccgacaacct catccctgtc 3000

tattgtcca tcttggctgc tgtggttgtt ggtcttgttg cctacatagc cttcaaggag 3060

tgaaaaacca aaagaacaag aatttcttgg taagaagccg ggaacagaca acagaagtca 3120

tgaagcccaa gtgaaatcaa aggtgctaaa tggtcgcca ggagacatcc gttgtgcttg 3180

cctgcgtttt ggaagctctg aagtcacatc acaggacacg gggcagtggc aaccttgtct 3240

ctatgccagc tcagtcctat cagagagcga gcgctacca cttctaaata gcaatttcgc 3300

cgttgaagag gaagggcaaa accactagaa ctctccatct tattttcatg tatatgtgtt 3360

cat 3363

<210> 35

<211> 3639

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Matrice PD1 locus_IL12a_2A_IL12b pCLS30511

<400> 35

gactccccag acaggccctg gaaccccccc accttctccc cagccctgct cgtggtgacc 60

gaaggggaca acgccacctt cacctgcagc ttctccaaca catcgagag cttcgtgcta 120

aactggtacc gcatgagccc cagcaaccag acggacaagc tggccgcctt ccccaggagc 180

cgcagccagc ccggccagga ctgccgcttc cgtgtcacac aactgccccaa cgggcgtgac 240

ttccacatga gcgtggtcag ggcccggcgc aatgacagcg gcacctacct ctgtggggcc 300

ggttctggcg tgaacagac ttgaaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag 360

tccaaccag ggcccatgtg gcccctggg tcagcctccc agccaccgcc ctcacctgcc 420

gcggccacag gtctgcatcc agcggctcgc cctgtgtccc tgcaagtgcg gctcagcatg 480

tgtccagcgc gcagcctcct ccttgtggct accctggtcc tcttgacca ctcagtttg 540

gccagaaacc tccccgtggc cactccagac ccaggaatgt tcccatgcct tcaccactcc	600
caaaacctgc tgagggccgt cagcaacatg ctccagaagg ccagacaaac tctagaattt	660
tacccttgca ctctgaaga gattgatcat gaagatatca caaaagataa aaccagcaca	720
gtggaggcct gtttaccatt ggaattaacc aagaatgaga gttgcctaaa ttccagagag	780
acctctttca taactaatgg gagttgcctg gcctccagaa agacctcttt tatgatggcc	840
ctgtgcctta gtagtattta tgaagacttg aagatgtacc aggtggagtt caagaccatg	900
aatgcaaagc ttctgatgga tcctaagagg cagatctttc tagatcaaaa catgctggca	960
gttattgatg agctgatgca ggccctgaat ttcaacagtg agactgtgcc aaaaaatcc	1020
tcccttgaag aaccggattt ttataaaact aaaatcaagc tctgcatact tcttcatgct	1080
ttcagaattc gggcagtgac tattgataga gtgatgagct atctgaatgc ttccggaagc	1140
ggagctacta acttcagcct gctgaagcag gctggagacg tggaggagaa ccctggacct	1200
atgtgtcacc agcagttggt catctcttgg ttttccctgg ttttctggc atctccctc	1260
gtggccatat gggaactgaa gaaagatgtt tatgtcgtag aattggattg gtatccggat	1320
gccccggag aaatggtggt cctcacctgt gacacccctg aagaagatgg tatcacctgg	1380
accttggacc agagcagtga ggtcttaggc tctggcaaaa cctgaccat ccaagtcaaa	1440
gagtttgag atgctggcca gtacacctgt cacaaaggag gcgaggttct aagccattcg	1500
ctcctgctgc ttcacaaaaa ggaagatgga atttggcca ctgatatttt aaaggaccag	1560
aaagaacca aaaaataagc ctttctaaga tgcgaggcca agaattattc tggacgtttc	1620
acctgctggt ggctgacgac aatcagtact gatttgacat tcagtgtcaa aagcagcaga	1680
ggctcttctg accccaagg ggtgacgtgc ggagctgcta cactctctgc agagagagtc	1740
agaggggaca acaaggagta tgagtactca gtggagtgcc aggaggacag tgcctgcca	1800
gctgctgagg agagtctgcc cattgaggtc atggtggatg ccgttcacaa gctcaagtat	1860
gaaaactaca ccagcagctt cttcatcagg gacatcatca aacctgacct acccaagaac	1920
ttgcagctga agccattaaa gaattctcgg caggtggagg tcagctggga gtacctgac	1980
acctggagta ctccacattc ctacttctcc ctgacattct gcgttcaggt ccagggcaag	2040
agcaagagag aaaagaaaga tagagtcttc acggacaaga cctcagccac ggtcatctgc	2100
cgcaaaaatg ccagcattag cgtgcgggcc caggaccgt actatagctc atcttggagc	2160
gaatgggcat ctgtgccctg cagtgagggc agaggcagcc tgctgacctg cggcgacgtc	2220
gaggagaacc ccgggcccac gggggcaggt gccaccggcc gcgccatgga cgggcccgcgc	2280

ctgctgctgt tgctgcttct gggggtgtcc cttggagggtg ccaaggaggc atgccccaca 2340

ggcctgtaca cacacagcgg tgagtgtgc aaagcctgca acctgggcga ggggtgtggcc 2400

cagccttgtg gagccaacca gaccgtgtgt gagccctgcc tggacagcgt gacgttctcc 2460

gacgtgggtga gcgcgaccga gccgtgcaag ccgtgcaccg agtgcgtggg gctccagagc 2520

atgtcggcgc cgtgcgtgga ggccgatgac gccgtgtgcc gctgcgccta cggtactac 2580

caggatgaga cgactgggcg ctgcgaggcg tgccgcgtgt gcgaggcggg ctgggcctc 2640

gtgttctcct gccaggacaa gcagaacacc gtgtgcgagg agtccccga cggcacgtat 2700

tccgacgagg ccaaccacgt ggaccctgtc ctgccctgca ccgtgtgcga ggacaccgag 2760

cgccagctcc gcgagtgcac acgctgggcc gacgccgagt gcgaggagat ccctggccgt 2820

tggattacac ggtccacacc cccagagggc tcggacagca cagccccag caccaggag 2880

cctgaggcac ctccagaaca agacctcata gccagcacgg tggcaggtgt ggtgaccaca 2940

gtgatgggca gctccagcc cgtggtgacc cgaggacca ccgacaacct catccctgtc 3000

tattgtcca tcttggctgc tgtggttgtg ggtcttgttg cctacatagc cttcaaggag 3060

tgatctagag ggcccgttta aaccgctga tcagcctga ctgtgccttc tagttgccag 3120

ccatctgttg ttggccctc ccccgctcct tccttgacc tggaaggtgc cactccact 3180

gtccttctct aataaaatga ggaaattgca tcgattgtc tgagtaggtg tcattctatt 3240

ctggggggtg ggggtgggca ggacagcaag ggggaggatt ggggaagaca tagcaggcat 3300

gctggggatg cgggtgggctc tatgactagt ggcaattcg gcgcagatca aagagagcct 3360

gcgggcagag ctgagggtga cagggtcggc ctggaggcc ccggggcagg ggtgagctga 3420

gccggtcctg ggggtgggtgt cccctcctgc acaggatcag gagctccagg gtcgtagggc 3480

agggacccc cagctccagt ccagggtctc gtctgcacc tggggaatgg tgaccggcat 3540

ctctgtctc tagctctgga agcaccccag cccctctagt ctgccctcac cctgacct 3600

gacctccac cctgacccg tctaaccac tgaccttg 3639

<210> 36

<211> 3017

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Inserted matrice TRAC locus_CubiCAR CD22 (60 nucleotides upstream
and downstream)

<400> 36

atgagatcat gtctaacc tgatctctt gtccacaga tatccagaac cctgacctg 60

ttgctgggcc tttttcccat gcctgccttt actctgccag agttatattg ctggggtttt	120
gaagaagatc ctattaaata aaagaataag cagtattatt aagtagccct gcatttcagg	180
tttcccttgag tggcaggcca ggccctggccg tgaacgttca ctgaaatcat ggccctcttg	240
ccaagattga tagcttgtgc ctgtccctga gtcccagtc atcacgagca gctggtttct	300
aagatgctat ttcccgata aagcatgaga ccgtgacttg ccagccccac agagccccgc	360
ccttgccat cactggcatc tggactccag cctgggttgg ggcaaagagg gaaatgagat	420
catgtcctaa cctgatcct cttgtccac agatatccag taccctacg acgtgcccga	480
ctacgcctcc ggtgaggga gaggaagtct tctaacatgc ggtgacgtgg aggagaatcc	540
gggccccgga tccgctctgc ccgtcaccgc tctgtctctg ccactggcac tgctgtgca	600
cgctgctagg cccggagggg gaggcagctg ccctacagc aacccagcc tgtgcagcgg	660
aggcggcgcc agcggcgagg ggggtagcca ggtgcagctg cagcagagcg gccctggcct	720
ggtgaagcca agccagacac tgtccctgac ctgcgccatc agcggcgatt ccgtgagctc	780
caactccgc ccctggaatt ggatcaggca gtccccttct cggggcctgg agtggctggg	840
aaggacatac tatcggtcta agtggtataa cgattatgcc gtgtctgtga agagcagaat	900
cacaatcaac cctgacacct ccaagaatca gtctctctg cagctgaata gcgtgacacc	960
agaggacacc gccgtgtact attgcgccag ggaggtgacc ggcgacctgg aggatgcctt	1020
tgacatctgg ggccagggca caatggtgac cgtgagctcc ggaggcggcg gatctggcgg	1080
aggaggaagt gggggcgccg ggagtataat ccagatgaca cagtcctcat cctctctgag	1140
cgctccgtg ggcgacagag tgacaatcac ctgtagggcc tcccagacca tctggtctta	1200
cctgaactgg tatcagcaga ggcccggcaa ggcccctaatt ctgtgatct acgcagcaag	1260
ctccctgcag agcggagtgc catccagatt ctctggcagg ggctccggca cagacttcac	1320
cctgaccatc tctagcctgc aggcggagga ctctgccacc tactattgcc agcagtctta	1380
tagatcccc cagacatttg gccagggcac caagctggag atcaagtcgg atcccgaag	1440
cggaggggga ggcagctgcc cctacagcaa cccagcctg tgcagcggag gcggcggcag	1500
cgagctgccc acccagggca ctttctcaa cgtgtccacc aacgtgagcc cagccaagcc	1560
caccaccacc gcctgtcctt attccaatcc ttccctgtgt gctcccacca caacccccgc	1620
tccaaggccc cctacccccg caccactat tgcctcccag ccactctcac tgcggcctga	1680
ggcctgtcgg cccgtctctg gaggcgcagt gcatacaagg ggcctcgatt tcgcctgcga	1740
tatttacatc tgggcacccc tcgccggcac ctgcggggtg cttctctct cctgtgtgat	1800

taccctgtat tgcagacggg gccggaagaa gctcctctac attttaagc agcctttcat 1860

gcggccagtg cagacaaccc aagaggagga tgggtgttcc tgcagattcc ctgaggaaga 1920

ggaagcgagg tgcagctga gactgaagtt ctccaggagc gcagatgccc ccgcctatca 1980

acagggccag aaccagctct acaacgagct taacctcggg aggcgcgaag aatacgacgt 2040

gttggataag agaagggggc gggaccccga gatgggagga aagccccgga ggaagaaccc 2100

tcaggagggc ctgtacaacg agctgcagaa ggataagatg gccgaggcct actcagagat 2160

cgggatgaag ggggagcggc gccgcgggaa ggggcacgat gggctctacc aggggctgag 2220

cacagccaca aaggacacat acgacgcctt gcacatgcag gcccttcac cccggaata 2280

gtctagaggg cccgtttaaa cccgtgatc agcctcgact gtgccttcta gttgccagcc 2340

atctgttgtt tgccctccc ccgtgccttc ctgaccctg gaagtgcca ctccactgt 2400

cctttcctaa taaatgagg aaattgcac gcattgtctg agtaggtgc attctattct 2460

ggggggtggg gtggggcagg acagcaaggg ggaggattgg gaagacaata gcaggcatgc 2520

tggggatgcg gtgggtctta tgactagtgg cgaattcccg tgtaccagct gagagactct 2580

aatccagtg acaagtctgt ctgcctattc accgattttg attctcaaac aatgtgtca 2640

caaagtaagg attctgatgt gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg 2700

gacttcaaga gcaacagtgc tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac 2760

gccttcaaca acagcattat tccagaagac accttcttcc ccagcccagg taagggcagc 2820

tttgggtgct tgcaggtctg ttctcttctg tcaggaatgg ccaggttctg cccagagctc 2880

tggatcaatga tgtctaaaac tcctctgatt ggtggtctcg gccttatcca ttgccacaa 2940

aacctcttt ttactaagaa acagtgagcc ttgttctggc agtccagaga atgacacggg 3000

aaaaaagcag atgaaga 3017

<210> 37

<211> 2808

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Inserted matrix CD25 locus_IL15_2A_sIL15Ra (60 nucleotides upstream and downstream)

<400> 37

agtgtggct agaaaccaag tgccttactg catgcacac atttagcaca gttagtgtct 60

gtttattatt cctgttccac agctattgtc tgccatataa aaacttaggc caggcacagt 120

ggctcacacc tgtaatccca gcactttgga aggccgaggc aggcagatca caaggtcagg 180

agttcgagac cagcctggcc aacatagcaa aaccccatct ctactaaaaa tacaaaaatt	240
agccaggcat ggtggcgtgt gcactggttt agagttagga ccacatTTTT ttggtgccgt	300
gttacacata tgaccgtgac tttgttacac cactacagga ggaagagtag aagaacaatc	360
ggttctggcg tgaacagac tttgaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag	420
tccaaccag ggcccgtac cgggtccgcc accatggact ggacctggat tctgttcctc	480
gtggctgctg ctacaagagt gcacagcggc attcatgtct tcattttggg ctgtttcagt	540
gcagggttc ctaaacaga agccaactgg gtgaatgtaa taagtattt gaaaaaatt	600
gaagatctta ttcaatctat gcatattgat gctactttat atacggaaag tgatgttcac	660
cccagttgca aagtaacagc aatgaagtgc tttctcttgg agttacaagt tatttcactt	720
gagtcggag atgcaagtat tcatgataca gtagaaaatc tgatcatcct agcaaacaac	780
agtttgtctt ctaatgggaa tgtaacagaa tctggatgca aagaatgtga ggaactggag	840
gaaaaaata ttaaagaatt tttgcagagt tttgtacata ttgtccaat gttcatcaac	900
acttctggaa gcggagctac taacttcagc ctgctgaagc aggcctggaga cgtggaggag	960
aacctggac ctgggaccgg ctctgcaacc atggattgga cgtggatcct gtttctctgtg	1020
gcagctgcca caagagtta cagtatcacg tgccctcccc ccatgtccgt ggaacacgca	1080
gacatctggg tcaagagcta cagcttgtac tccagggagc ggtacatttg taactctggt	1140
ttcaagcgt aagccggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccacgaat	1200
gtcgcctact ggacaacccc cagtctcaaa tgcattagag acctgcctt ggttcaccaa	1260
aggccagcgc caccctccac agtaacgacg gcaggggtga cccacagcc agagagcctc	1320
tccccctctg gaaaagagcc cgcagcttca tctcccagct caaacaacac agcggccaca	1380
acagcagcta ttgtcccggt ctcccagctg atgccttcaa aatcaccttc cacaggaacc	1440
acagagataa gcagtcatga gtctctccac ggcacccct ctcagacaac agccaagaac	1500
tgggaactca cagcatccgc ctcccaccag ccgccaggtg tgtatccaca ggccacagc	1560
gacaccactg agggcagagg cagcctgctg acctgcggcg acgtcgagga gaaccccggt	1620
cccatggggg caggtgccac cggccgcgcc atggacgggc cgcgcctgct gctgttgctg	1680
cttctggggg tgtcccttgg aggtgccaaag gaggcagcc ccacagcct gtacacacac	1740
agcgtgtagt gctgcaaagc ctgcaacctg ggcgaggggtg tggcccagcc ttgtggagcc	1800
aaccagaccg tgtgtgagcc ctgcctggac agcgtgacgt tctccgacgt ggtgagcgcg	1860
accgagccgt gcaagccgtg caccgagtgc gtggggctcc agagcatgtc ggcgccgtgc	1920

gtggaggccg atgacgccgt gtgccgctgc gcctacggct actaccagga tgagacgact	1980
gggcgctgcg aggcgtgccg cgtgtgagag ggggctcgg gcctcgtgtt ctctgccag	2040
gacaagcaga acaccgtgtg cgaggagtgc cccgacggca cgtattccga cgaggccaac	2100
cacgtggacc cgtgcctgcc ctgcaccgtg tgcgaggaca ccgagcgcca gctccgcgag	2160
tgcacacgct gggccgacgc cgagtgcgag gagatccctg gccgttggat tacacggtcc	2220
acacccccag agggctcgga cagcacagcc cccagcaccc aggagcctga ggcacctcca	2280
gaacaagacc tcatagccag cacggtggca ggtgtggtga ccacagtgat gggcagctcc	2340
cagcccgtgg tgaccgcagg caccaccgac aacctcatcc ctgtctattg ctccatcctg	2400
gctgctgtgg ttgtgggtct tgtggcctac atagccttca agaggtgaaa aaccaaaga	2460
acaagaattt cttggtgaaga agccgggaac agacaacaga agtcatgaag cccaagtga	2520
atcaaagggtg ctaaattggtc gcccgaggaga catccgttgt gcttgcctgc gttttggaag	2580
ctctgaagtc acatcacagg acacggggca gtggcaacct tgtctctatg ccagctcagt	2640
cccatcagag agcgagcgt acccacttct aaatagcaat ttcgccgttg aagaggaagg	2700
gcaaaaccac tagaactctc catcttattt tcatgtatat gtgttcatta aagcatgaat	2760
ggtatggaac tctctccacc ctatatgtag tataaagaaa agtaggtt	2808
<210> 38	
<211> 3084	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Inserted matrice PD1 locus_IL15_2A_sIL15Ra (60 nucleotides	
upstream and downstream)	
<400> 38	
ggtggccggg gaggctttgt ggggccaccc agccccttcc tcacctctct ccattcttca	60
gactccccag acaggccctg gaaccccccc accttctccc cagccctgct cgtggtgacc	120
gaaggggaca acgccacctt cacctgcagc ttctccaaca catcgagag ctctgtgcta	180
aactggtacc gcatgagccc cagcaaccag acggacaagc tggccgcctt ccccgaggac	240
cgagccagc ccggccagga ctgccgcttc cgtgtcacac aactgcccga cgggcgtgac	300
ttccacatga gcgtgggtcag ggcccggcgc aatgacagcg gcacctacct ctgtggggcc	360
ggttctggcg tgaacagac tttgaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag	420
tccaaccag ggcccgttac cgggtccgcc accatggact ggacctggat tctgttcttc	480
gtggctgctg ctacaagagt gcacagcggc attcatgtct tcattttggg ctgtttcagt	540

gcagggttc ctaaacaga agccaactgg gtgaatgtaa taagtgttt gaaaaaatt	600
gaagatctta ttcaatctat gcatattgat gctactttat atacggaaag tgatgttcac	660
cccagttgca aagtaacagc aatgaagtgc tttctcttgg agttacaagt tatitcactt	720
gagtcggag atgcaaglat tcatgataca gtagaaaatc tgatcatcct agcaacaac	780
agtttgtctt ctaatgggaa tgtaacagaa tctggatgca aagaatgtga ggaactggag	840
gaaaaaata ttaagaatt ttgagagat ttgtacata ttgtccaaat gttcatcaac	900
acttctggaa gcggagctac taacttcagc ctgctgaagc aggcctggaga cgtggaggag	960
aacctggac ctgggaccgg ctctgcaacc atggattgga cgtggatcct gtttctctg	1020
gcagctgcca caagagtca cagtatcacg tgccctcccc ccatgtccgt ggaacacgca	1080
gacatctggg tcaagagcta cagcttgtac tccaggagc ggtacatttg taactctggt	1140
ttcaagcgt aagccggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccacgaat	1200
gtcggccact ggacaacccc cagtctcaaa tgcattagag acctgcctt ggttcacaa	1260
agggcagcgc caccctccac agtaacgacg gcagggtga cccacagcc agagagcctc	1320
tcccttctg gaaaagagcc cgcagcttca tctccagct caaacaacac agcggccaca	1380
acagcagcta ttgtccggg ctcccagctg atgccttcaa aatcaccttc cacaggaacc	1440
acagagataa gcagtcatga gtctccccc ggccacccct ctgagacaac agccaagaac	1500
tggaactca cagcatccgc ctcccaccag ccggcagggtg tgtatccaca gggccacagc	1560
gacaccactg agggcagagg cagcctgtctg acctgcggcg acgtcgagga gaacccggg	1620
cccatggggg caggtgccac cggccgcgcc atggacgggc cgcgcctgtc gctgttctg	1680
cttctggggg tgtcccttgg aggtgccaaag gaggcattgc ccacaggcct gtacacacac	1740
agcgtgtagt gctgcaaagc ctgcaacctg ggcgagggtg tggcccagcc ttgtggagcc	1800
aaccagaccg tgtgtgagcc ctgcctggac agcgtgacgt tctccgacgt ggtgagcgcg	1860
accgagccgt gcaagccgtg caccgagtgc gtggggctcc agagcatgtc ggcgccgtgc	1920
gtggaggccg atgacgccgt gtgccgtgc gcctacggct actaccagga tgagacgact	1980
gggcgtctgc aggcgtgccg cgtgtgcgag gcgggctcgg gcctcgtgtt ctctgccag	2040
gacaagcaga acaccgtgtg cgaggagtgc cccgacggca cgtattccga cgaggccaac	2100
cacgtggacc cgtgcctgcc ctgcacctg tgcgaggaca ccgagcgcca gctccgcgag	2160
tgcacacgtt gggccgacgc cgagtgcgag gagatccctg gccgttggat tacacggtcc	2220
acacccccag agggctcgga cagcacagcc cccagcacc aggagcctga ggcacctcca	2280

gaacaagacc tcatagccag cacggtggca ggtgtggtga ccacagtgat gggcagctcc 2340

cagcccgtgg tgacccgagg caccaccgac aacctcatcc ctgtctattg ctccatcctg 2400

gctgctgtgg ttgtgggtct tgtggcctac atagccttca agaggtgatc tagagggccc 2460

gtttaaaccc gcigatcagc ctgactgtg ccttctagtt gccagccatc tgttgtttgc 2520

ccctccccgc tgccttcctt gaccttggaa ggtgccactc ccactgtcct ttcctaataa 2580

aatgaggaaa ttgcatcgca ttgtctgagt aggtgtcatt ctattctggg ggggtggggtg 2640

gggcaggaca gcaaggggga ggattgggaa gacaatagca ggcatgctgg ggatgcggtg 2700

ggctctatga ctagtggcga attcggcgca gatcaaagag agcctgcggg cagagctcag 2760

ggtgacaggt gcggcctcgg agggccccggg gcaggggtga gctgagccgg tcctggggtg 2820

ggtgtccctt cctgcacagg atcaggagct ccagggtcgt agggcaggga cccccagct 2880

ccagtccagg gctctgtcct gcacctgggg aatggtgacc ggcatctctg tcctctagct 2940

ctggaagcac cccagccctt ctactctgcc ctacccctg accctgacct tccacctga 3000

ccccgtcta acccctgacc tttgtgcctt tcagagaga agggcagaag tgcccacagc 3060

ccacccacgc cctcaccca ggcc 3084

<210> 39

<211> 3475

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Inserted matrix CD25 locus_IL12a_2A_IL12b (60 nucleotides upstream and downstream)

<400> 39

agtgtggct agaaaccaag tgctttactg catgcacatc atttagcaca gttagtgtct 60

gtttattatt ccgtttccac agctattgtc tgccatataa aaacttaggc caggcacagt 120

ggctcacacc tgtaatccca gcactttgga aggccgaggc aggcagatca caaggtcagg 180

agttcgagac cagcctggcc aacatagcaa aaccccatct ctactaaaaa tacaaaaatt 240

agccaggcat ggtggcgtgt gcactgggtt agagttagga ccacattttt ttggtgccgt 300

gttacacata tgaccgtgac tttgttacac cactacagga ggaagagtag aagaacaatc 360

ggttctggcg tgaacagac tttgaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag 420

tccaacccag ggcccatgtg gccccctggg tcagcctccc agccaccgcc ctacactgcc 480

gcggccacag gtctgcatcc agcggctcgc cctgtgtccc tgacgtgccg gctcagcatg 540

tgtccagcgc gcagcctcct ccttgtggct accctgggtc tcctggacca cctcagtttg 600

gccagaaacc tccccgtggc cactccagac ccaggaatgt tcccatgcct tcaccactcc	660
caaaacctgc tgagggccgt cagcaacatg ctccagaagg ccagacaaac tctagaattt	720
tacccttgca ctctgaaga gattgatcat gaagatatca caaaagataa aaccagcaca	780
gtggaggcct gtttaccatt ggaattaacc aagaatgaga gttgcctaaa ttccagagag	840
acctctttca taactaatgg gagttgcctg gcctccagaa agacctcttt tatgatggcc	900
ctgtgcctta gtagtattta tgaagacttg aagatgtacc aggtggagtt caagaccatg	960
aatgcaaagc ttctgatgga tcctaagagg cagatctttc tagatcaaaa catgctggca	1020
gttattgatg agctgatgca ggccctgaat ttcaacagtg agactgtgcc aaaaaatcc	1080
tcccttgaag aaccggattt ttataaaact aaaatcaagc tctgcatact tcttcatgct	1140
ttcagaattc gggcagtgac tattgataga gtgatgagct atctgaatgc ttccggaagc	1200
ggagctacta acttcagcct gctgaagcag gctggagacg tggaggagaa ccctggacct	1260
atgtgtcacc agcagttggt catctcttgg ttttccctgg ttttctggc atctccctc	1320
gtggccatat gggaactgaa gaaagatgtt tatgtcgtag aattggattg gtatccggat	1380
gccccggag aaatggtggt cctcacctgt gacacccctg aagaagatgg tatcacctgg	1440
accttggacc agagcagtga ggtcttaggc tctggcaaaa cctgaccat ccaagtcaaa	1500
gagtttgag atgctggcca gtacacctgt cacaaaggag gcgaggttct aagccattcg	1560
ctcctgctgc ttcacaaaaa ggaagatgga atttggcca ctgatatttt aaaggaccag	1620
aaagaacca aaaaataagc ttttctaaga tgcgaggcca agaattattc tggacgtttc	1680
acctgctggt ggtgacgac aatcagtact gatttgacat tcagtgtcaa aagcagcaga	1740
ggctcttctg accccaagg ggtgacgtgc ggagctgcta cactctctgc agagagagtc	1800
agaggggaca acaaggagta tgagtactca gtggagtgcc aggaggacag tgcctgcca	1860
gctgctgagg agagtctgcc cattgaggtc atggtggatg ccgttcacaa gctcaagtat	1920
gaaaactaca ccagcagctt ctcatcagg gacatcatca aacctgacc acccaagaac	1980
ttgcagctga agccattaaa gaattctcgg caggtggagg tcagctggga gtacctgac	2040
acctggagta ctccacattc ctacttctcc ctgacattct gcgttcaggt ccagggcaag	2100
agcaagagag aaaagaaaga tagagtcttc acggacaaga cctcagccac ggtcatctgc	2160
cgaaaaatg ccagcattag cgtgcgggcc caggaccgt actatagctc atcttggagc	2220
gaatgggcat ctgtgccctg cagtgagggc agaggcagcc tgctgacctg cggcgacgtc	2280
gaggagaacc ccgggcccac gggggcaggt gccaccggcc gcgccatgga cgggcccgcgc	2340

ctgctgctgt tgctgcttct gggggtgtcc cttggagggtg ccaaggaggc atgccccaca	2400
ggcctgtaca cacacagcgg tgagtgtgc aaagcctgca acctgggcga ggggtgtggcc	2460
cagccttgtg gagccaacca gaccgtgtgt gagccctgcc tggacagcgt gacgttctcc	2520
gacgtgggtga gcgcgaccga gccgtgcaag ccgtgcaccg agtgcgtggg gctccagagc	2580
atgtcggcgc cgtgcgtgga ggccgatgac gccgtgtgcc gctgcgccta cggtactac	2640
caggatgaga cgactgggcg ctgcgaggcg tgccgcgtgt gcgaggcggg ctcgggcctc	2700
gtgttctcct gccaggacaa gcagaacacc gtgtgcgagg agtgccccga cggcacgtat	2760
tccgacgagg ccaaccacgt ggaccctgtc ctgccctgca ccgtgtgcga ggacaccgag	2820
cgccagctcc gcgagtgcac acgctgggcc gacgccgagt gcgaggagat ccctggccgt	2880
tggattacac ggtccacacc cccagagggc tcggacagca cagccccag caccaggag	2940
cctgaggcac ctccagaaca agacctcata gccagcacgg tggcaggtgt ggtgaccaca	3000
gtgatgggca gctcccagcc cgtggtgacc cgaggcacca ccgacaacct catccctgtc	3060
tattgtcca tcttggctgc tgtggttgtg ggtcttgttg cctacatagc cttcaaggag	3120
tgaaaaacca aaagaacaag aatttcttgg taagaagccg ggaacagaca acagaagtca	3180
tgaagcccaa gtgaaatcaa aggtgctaaa tggtcgcca ggagacatcc gttgtgcttg	3240
cctgcgtttt ggaagctctg aagtcacatc acaggacacg gggcagtggc aaccttgtct	3300
ctatgccagc tcagtcccat cagagagcga gcgctaccca cttctaaata gcaatttcgc	3360
cgttgaagag gaagggcaaa accactagaa ctctccatct tattttcatg tatatgtgtt	3420
catgaatggt atggaactct ctccacccta tatgtagtat aaagaaaagt aggtt	3475
<210> 40	
<211> 3759	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Inserted matrice PD1 locus_IL12a_2A_IL12b (60 nucleotides	
upstream and downstream)	
<400> 40	
ggtggccggg gaggtttgt ggggccaccc agecccttcc tcacctctct ccattctca	60
gactccccag acaggccctg gaaccccccc accttctccc cagccctgct cgtggtgacc	120
gaaggggaca acgccacctt cacctgcagc ttctccaaca catcgagag cttcgtgcta	180
aactggtacc gcatgagccc cagcaaccag acggacaagc tggccgcctt ccccaggagc	240
cgcagccagc ccggccagga ctgccgcttc cgtgtcacac aactgcccc cgggcgtgac	300

ttccacatga gcgtggtcag ggcccggcgc aatgacagcg gcacctacct ctgtggggcc	360
ggttctggcg tgaacacagac ttgtaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag	420
tccaaccag ggcccatgtg gcccctggg tcagcctccc agccaccgcc ctcacctgcc	480
gcggccacag gtctgcatcc agcggtcgc cctgtgtccc tgcagtgccg gctcagcatg	540
tgccagcgc gcagcctcct ccttgtggct accctggctc tectggacca cctcagtttg	600
gccagaaacc tcccgtggc cactccagac ccaggaatgt tcccatgcct tcaccactec	660
caaaacctgc tgagggccgt cagcaacatg ctccagaagg ccagacaaac tctagaattt	720
taccttgca cttctgaaga gattgatcat gaagatatca caaaagataa aaccagcaca	780
gtggaggcct gtttaccatt ggaattaacc aagaatgaga gttgcctaaa ttccagagag	840
acctctttca taactaatgg gagggtcctg gcctccagaa agacctcttt tatgatggcc	900
ctgtgcctta gtagtattta tgaagacttg aagatgtacc aggtggagtt caagaccatg	960
aatgcaaagc ttctgatgga tcctaagagg cagatctttc tagatcaaaa catgctggca	1020
gttattgatg agctgatgca ggccctgaat ttcaacagtg agactgtgcc acaaaaatcc	1080
tcccttgaag aaccggattt ttataaaact aaaatcaagc tctgcatact tcttcatgct	1140
ttcagaattc gggcagtgc tattgataga gtgatgagct atctgaatgc ttccggaagc	1200
ggagctacta acttcagcct gctgaagcag gctggagacg tggaggagaa ccctggacct	1260
atgtgtcacc agcagttggt catctcttgg ttttccctgg ttttcttggc atctccctc	1320
gtggccatat gggaactgaa gaaagatgtt tatgtcgtag aattggattg gtatccggat	1380
gcccctggag aaatggtggt cctcacctgt gacaccctg aagaagatgg tatcacctgg	1440
accttggacc agagcagtga ggtcttaggc tctggcaaaa cctgaccat ccaagtcaaa	1500
gagtttggag atgttgcca gtacacctgt cacaaaggag gcgaggttct aagccattcg	1560
ctctgtctgc ttcacaaaaa ggaagatgga atttgggtcca ctgatatttt aaaggaccag	1620
aaagaacca aaaataagac ctttctaaga tgcgaggcca agaattattc tggacgtttc	1680
acctgtcgtt ggctgacgac aatcagtact gatttgacat tcagtgtcaa aagcagcaga	1740
ggctcttctg accccaagg ggtgacgtgc ggagctgcta cactctctgc agagagagtc	1800
agaggggaca acaaggagta tgagtactca gtggagtgcc aggaggacag tgcctgcca	1860
gctgtcgtgg agagtctgcc cattgaggtc atggtggatg ccgttcacaa gctcaagtat	1920
gaaaactaca ccagcagctt cttcatcagg gacatcatca aacctgacct acccaagaac	1980
ttgcagctga agccattaaa gaattctcgg caggtggagg tcagctggga gtacctgac	2040

acctggagta ctccacattc ctacttctcc ctgacattct gcgttcaggt ccagggaag	2100
agcaagagag aaaagaaaga tagagtcttc acggacaaga cctcagccac ggtcatctgc	2160
cgcaaaaatg ccagcattag cgtgcgggcc caggaccgct actatagctc atcttggagc	2220
gaatgggcat ctgtgccctg cagttagggc agaggcagcc tgcigacctg cggcgacgtc	2280
gaggagaacc cggggcccat gggggcaggt gccaccggcc gcgccatgga cggggccgcg	2340
ctgctgctgt tgcgtcttct gggggtgtcc cttggagggtg ccaaggaggc atgccccaca	2400
ggcctgtaca cacacagcgg tgagtgtctc aaagcctgca acctgggcga ggggtgtggcc	2460
cagccttgtg gagccaacca gaccgtgtgt gagccctgcc tggacagcgt gacgttctcc	2520
gacgtggatga gcgcgaccga gccgtgcaag ccgtgcaccg agtgcgtggg gctccagagc	2580
atgtcggcgc cgtgcgtgga ggccgatgac gccgtgtgcc gctgcgccta cggctactac	2640
caggatgaga cgactgggcg ctgcgaggcg tgcgcgtgtg gcgaggcggg ctgggcctc	2700
gtgttctcct gccaggacaa gcagaacacc gtgtgcgagg agtgccccga cggcacgtat	2760
tccgacgagg ccaaccacgt ggaccctgac ctgccctgca ccgtgtgcga ggacaccgag	2820
cgccagctcc gcgagtgcac acgctgggcc gacgccgagt gcgaggagat ccctggccgt	2880
tggattacac ggtccacacc cccagagggc tcggacagca cagccccag caccagagag	2940
cctgaggcac ctccagaaca agacctcata gccagcacgg tggcaggtgt ggtgaccaca	3000
gtgatgggca gctcccagcc cgtggtgacc cgaggcacca ccgacaacct catccctgtc	3060
tattgtccca tcttggctgc tgtggttgtg ggtcttgtgg cctacatagc cttcaagagg	3120
tgatctagag ggcccgttta aaccgctga tcagcctga ctgtgccttc tagttgccag	3180
ccatctgttg ttigcccctc ccccgctgcct tccttgaccc tgggaaggtgc cactccact	3240
gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgattgtc tgagttagtg tcattctatt	3300
ctggggggtg ggggtgggca ggacagcaag ggggaggatt gggaagacaa tagcaggcat	3360
gctggggatg cggtgggctc tatgactagt ggcaattcg gcgcagatca aagagagcct	3420
gcgggcagag ctgagggtga cagggtcggc ctcgagggcc ccggggcagg ggtgagctga	3480
gccggtcctg ggggtgggtgt cccctcctgc acaggatcag gagctccagg gtcgtagggc	3540
agggaccccc cagctccagt ccagggtctt gtctgcacc tggggaatgg tgaccggcat	3600
ctctgtctc tagctctgga agcaccccag cccctctagt ctgccctcac ccctgacct	3660
gacctccac cctgacccg tcctaacccc tgacctttgt gcccttcag agagaagggc	3720
agaagtgcc acagcccacc ccagcccctc acccaggcc	3759

<210> 41
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> upstream TRAC locus polynucleotide sequence
 <400> 41
 atgagatcat gtctaacc tgatcctctt gtccacaga tatccagaac cctgaccctg 60
 60
 <210> 42
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> downstream TRAC locus polynucleotide sequence
 <400> 42
 gaaacagtga gccttgttct ggcagtccag agaatgacac gggaaaaaag cagatgaaga 60
 60
 <210> 43
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> upstream CD25 locus polynucleotide sequence
 <400> 43
 agtgctggct agaaaccaag tgctttactg catgcacatc atttagcaca gttagtgtgt 60
 60
 <210> 44
 <211> 52
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> downstream CD25 locus polynucleotide sequence
 <400> 44
 gaatggtatg gaactctctc caccctatat gtagtataaa gaaaagtagg tt 52
 <210> 45
 <211> 60

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> upstream PD1 locus polynucleotide sequence
 <400> 45
 ggtggccggg gaggccttgt ggggccaccc agccccttcc tcacctctct ccattctctca 60
 60
 <210> 46
 <211> 60
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> downstream PD1 locus polynucleotide sequence
 <400> 46
 tgcccttcca gagagaaggc cagaagtgcc cacagccac cccagcccct caccaggcc 60
 60
 <210> 47
 <211> 759
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> IL-12a polynucleotide
 <400> 47
 atgtggcccc ctgggtcagc ctcccagcca ccgccctcac ctgccgcggc cacaggtctg 60
 catccagcgg ctgccctgt gtccctgcag tgcgggtca gcatgtgtcc agcgcgcagc 120
 ctctctcttg tggtacctt ggctctctg gaccacctca gtttgccag aaacctcccc 180
 gggccactc cagaccagg aatgttcca tgccttcacc actccaaaa cctgctgagg 240
 gccgtcagca acatgtcca gaaggccaga caaactctag aattttacc ttgcattct 300
 gaagagattg atcatgaaga tatcacaaaa gataaaacca gcacagtgga ggcctgttta 360
 ccattggaat taaccaagaa tgagagttgc ctaaattcca gagagacctc ttccataact 420
 aatgggagtt gctggcctc cagaaagacc tcttttatga tggccctgtg ccttagtagt 480
 atttatgaag acttgaagat gtaccagggt gagttcaaga ccatgaatgc aaagcttctg 540
 atggatccta agaggcagat ctttctagat caaaacatgc tggcagttat tgatgagctg 600
 atgcaggccc tgaatttcaa cagtgcagct gtgccacaaa aatcctccct tgaagaaccg 660
 gatatttata aaactaaaat caagctctgc atactcttc atgctttcag aattcgggca 720

gtgactattg atagagtgat gagctatctg aatgcttcc 759

<210> 48

<211> 984

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL12b polynucleotide

<400> 48

atgtgtcacc agcagttggt catctcttgg ttttcctgg ttttctggc atctccctc 60

gtggccatat gggaactgaa gaaagatgtt tatgtcgtag aattggattg gtatccggat 120

gcccctggag aaatggtggt cctcacctgt gacacccctg aagaagatgg tatcacctgg 180

accttggacc agagcagtga ggtcttaggc tctggcaaaa ccctgaccat ccaagtcaaa 240

gagtttggag atgctggcca gtacacctgt cacaaggag gcgaggttct aagccattcg 300

ctcctgctgc ttcacaaaaa ggaagatgga atttggcca ctgatattt aaaggaccag 360

aaagaacca aaaataagac ctttctaaga tgcgaggcca agaattatc tggacgttc 420

acctgctggt ggctgacgac aatcagtact gatttgacat tcagtgtcaa aagcagcaga 480

ggctcttctg accccaagg ggtgacgtgc ggagctgcta cactctctgc agagagagtc 540

agaggggaca acaaggagta tgagtactca gtggagtgcc aggaggacag tgcctgcccc 600

gctgctgagg agagtctgcc cattgaggtc atggtggatg ccgttcacaa gctcaagtat 660

gaaaactaca ccagcagctt cttcatcagg gacatcatca aacctgaccc acccaagaac 720

ttgcagctga agccattaaa gaattctcgg caggtggagg tcagctggga gtacctgac 780

acctggagta ctccacattc ctacttctcc ctgacattct gcgttcaggt ccagggaag 840

agcaagagag aaaagaaaga tagagtcttc acggacaaga cctcagccac ggtcatctgc 900

cgcaaaaatg ccagcattag cgtgcgggcc caggaccgct actatagctc atcttgagc 960

gaatgggcat ctgtgccctg cagt 984

<210> 49

<211> 399

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL15 polynucleotide

<400> 49

ggcattcatg tcttcatttt gggctgtttc agtgcagggc ttcctaaaac agaagccaac 60

tgggtgaatg taataagtga tttgaaaaaa attgaagatc ttattcaatc tatgcatatt 120

gatgctactt tatatacgga aagtgatgtt caccacagtt gcaaagtaac agcaatgaag	180
tgctttctct tggagttaca agttatttca cttgagtcgg gagatgcaag tattcatgat	240
acagtagaaa atctgatcat cctagcaaac aacagtttgt cttctaattg gaatgtaaca	300
gaatctggat gcaaagaatg tgaggaactg gaggaaaaaa atattaaaga atttttgcag	360
agttttgtac atattgtcca aatgttcac aacacttct	399
<210> 50	
<211> 525	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> sIL15ra polynucleotide	
<400> 50	
atcacgtgcc ctcccccat gtccgtggaa cacgcagaca tctgggtcaa gagctacagc	60
ttgtactcca gggagcggta catttgtaac tctgggttca agcgtaaagc cggcacgtcc	120
agcctgacgg agtgcgtgtt gaacaaggcc acgaatgtcg cccactggac aacccccagt	180
ctcaaagca ttagagacc tgccctggtt caccaaaggc cagcgccacc ctccacagta	240
acgacggcag gggtagcccc acagccagag agcctctccc cttctggaaa agagcccga	300
gttcatctc ccagctcaaa caacacagcg gccacaacag cagctattgt cccgggctcc	360
cagctgatgc ctcaaaatc accttcaca ggaaccacag agataagcag tcatgagtc	420
tcccacggca cccctctca gacaacagcc aagaactggg aactcacagc atccgcctcc	480
caccagccgc caggtgtgta tccacagggc cacagcgaca ccaact	525
<210> 51	
<211> 1818	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> soluble GP130 polynucleotide	
<400> 51	
atgctgacac tgcagacttg gctgggtcag gcactgttta tttttctgac tactgaatca	60
actggcgaac tgetggacc ttgtggctac atcagccctg agtccccagt ggtgcagctg	120
cacagcaact tcaccgccgt gtgcgtgctg aaggagaagt gtatggacta ctttcacgtg	180
aacgccaatt atatcgtgtg gaaaaccaac cacttcacaa tcccaagga gcagtacacc	240
atcatcaata ggacagccag ctccgtgacc ttacagaca tcgcctccct gaacatccag	300

ctgacctgca atatacctgac attcggccag ctggagcaga acgtgtatgg catcaccatc	360
atctctggcc tgccttcga gaagcctaag aacctgagct gcatcgtgaa tgagggaag	420
aagatgcggt gtgagtggga cggcggcaga gagacacacc tggagacaaa cttcacctg	480
aagtccgagt gggccacaca caagtttgcc gactgcaagg ccaagcgga taccacaaca	540
tcctgtaccg tggattactc tacagtgtat ttgtgaaca tcgaagtgtg ggtggaggcc	600
gagaatgcc tgggaaggt gacctccgac cacatcaact tcgatccgt gtacaaggtg	660
aagcctaacc caccacaca tctgagcgtg atcaattccg aggagctgtc tagcatcctg	720
aagctgacct ggacaaacc atctatcaag agcgtgatca tcctgaagta caatatccag	780
tatcggacca aggacgctc cacatggagc cagatccctc cagaggatac cgccagcaca	840
agatcctctt tcaccgtgca ggacctgaag cccttcacag agtacgtgtt tcggatcaga	900
tgtatgaagg aggacggca gggctactgg agcgattggt ccgaggaggc cagcggcatc	960
acctatgagg acaggcctc taaggcccc agcttctggt acaagatcga tccatccac	1020
accagggt atcgacagt gcagctggtg tggaaaacc tgcctctt cgaggccaac	1080
ggcaagatcc tggactacga ggtgacctg acacgggtga agtccacct gcagaactat	1140
accgtgaatg ccaccaagct gacagtgaac ctgacaaatg atcggtaact ggccacctg	1200
acagtgagaa acctggtggg caagctgac gccgccgtgc tgaccatccc tgcctcgat	1260
ttccaggcca cacaccagt gatggacctg aaggccttc ccaaggataa tatgtgtgg	1320
gtggagtgga ccacacatag agagtccgtg aagaagtaca tcctggagtg gtgcgtgctg	1380
tctgacaagg cccatgtat caccgactgg cagcaggagg atggcaccgt gcacaggaca	1440
tatctgcgcg gcaacctggc cgagtctaag tgttacctga tcaccgtgac acccgtgtat	1500
gcagacggac caggctctcc tgagagcatc aaggcctacc tgaagcaggc accaccaagc	1560
aagggaacaa ccgtgcggac aaagaaggtc ggcaagaatg aggcgtgct ggagtgggac	1620
cagctgcctg tggatgtgca gaacggcttc atcaggaatt acaccatctt ttatgcaca	1680
atcatcggca acgagacagc cgtgaatgtg gacagctccc acaccgagta tacactgtct	1740
agcctgacct ccgatacact gtacatggtg aggatggccg cctatacaga cgaggcggc	1800
aaggatggcc ccgagttt	1818
<210> 52	
<211> 72	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> IgE signal sequence	

<400> 52

ggtaccgggt cgcaccat ggactggacc tggattctgt tcctcgtggc tgctgctaca 60

agagtgcaca gc 72

<210> 53

<211> 75

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> F2A

<400> 53

ggttctggcg tgaacagac ttggaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag 60

tccaaccag ggccc 75

<210> 54

<211> 66

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> P2A

<400> 54

ggaagcggag ctactaactt cagcctgctg aagcaggctg gagacgtgga ggagaaccct 60

ggacct 66

<210> 55

<211> 54

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> T2A

<400> 55

gagggcagag gcagcctgct gacctgcggc gacgtcgagg agaaccgccg gcc 54

<210> 56

<211> 825

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> LNGFR

<400> 56

atgggggcag gtgccaccgg ccgcgccaatg gacgggccgc gcctgctgct gttgctgctt 60

ctgggggtgt cccttggagg tgccaaggag gcatgccccca caggcctgta cacacacagc 120

ggtgagtgtt gcaaagcctg caacctgggc gaggggtgtgg cccagccttg tggagccaac 180

cagaccgtgt gtgagccctg cctggacagc gtgacgttct ccgacgtggt gagcgcgacc 240

gagccgtgca agccgtgcac cgagtgcgtg gggctccaga gcatgtcggc gccgtgcgtg 300

gaggccgatg acgccgtgtg ccgtgcgcc tacggctact accaggatga gacgactggg 360

cgctgcgagg cgtgccgctg gtgcgaggcg ggctcgggcc tcgtgttctc ctgccaggac 420

aagcagaaca ccgtgtgcga ggagtgcgcc gacggcacgt attccgacga ggccaaccac 480

gtggaccctg gcctgccctg caccgtgtgc gaggacaccg agcgccagct ccgcgagtgc 540

acacgtctgg ccgacgccga gtgcgaggag atccctggcc gttggattac acggtccaca 600

ccccagagg gctcggacag cacagcccc agcaccagg agcctgaggc acctccagaa 660

caagacctca tagccagcac ggtggcaggt gtggtgacca cagtgatggg cagctcccag 720

cccgtggtga cccgaggcac caccgacaac ctcatccctg tctattgctc catcctggct 780

gctgtggttg tgggtcttgt ggcctacata gccttcaaga ggtga 825

<210> 57

<211> 253

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL-12a polypeptide

<400> 57

Met Trp Pro Pro Gly Ser Ala Ser Gln Pro Pro Pro Ser Pro Ala Ala

1 5 10 15

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

20 25 30

Leu Ser Met Cys Pro Ala Arg Ser Leu Leu Leu Val Ala Thr Leu Val

35 40 45

Leu Leu Asp His Leu Ser Leu Ala Arg Asn Leu Pro Val Ala Thr Pro

50 55 60

Asp Pro Gly Met Phe Pro Cys Leu His His Ser Gln Asn Leu Leu Arg

65 70 75 80

Ala Val Ser Asn Met Leu Gln Lys Ala Arg Gln Thr Leu Glu Phe Tyr

85 90 95
 Pro Cys Thr Ser Glu Glu Ile Asp His Glu Asp Ile Thr Lys Asp Lys
 100 105 110
 Thr Ser Thr Val Glu Ala Cys Leu Pro Leu Glu Leu Thr Lys Asn Glu
 115 120 125

 Ser Cys Leu Asn Ser Arg Glu Thr Ser Phe Ile Thr Asn Gly Ser Cys
 130 135 140
 Leu Ala Ser Arg Lys Thr Ser Phe Met Met Ala Leu Cys Leu Ser Ser
 145 150 155 160
 Ile Tyr Glu Asp Leu Lys Met Tyr Gln Val Glu Phe Lys Thr Met Asn
 165 170 175
 Ala Lys Leu Leu Met Asp Pro Lys Arg Gln Ile Phe Leu Asp Gln Asn
 180 185 190
 Met Leu Ala Val Ile Asp Glu Leu Met Gln Ala Leu Asn Phe Asn Ser

 195 200 205
 Glu Thr Val Pro Gln Lys Ser Ser Leu Glu Glu Pro Asp Phe Tyr Lys
 210 215 220
 Thr Lys Ile Lys Leu Cys Ile Leu Leu His Ala Phe Arg Ile Arg Ala
 225 230 235 240
 Val Thr Ile Asp Arg Val Met Ser Tyr Leu Asn Ala Ser
 245 250

 <210> 58
 <211> 328
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> IL12b polypeptide

 <400> 58
 Met Cys His Gln Gln Leu Val Ile Ser Trp Phe Ser Leu Val Phe Leu
 1 5 10 15
 Ala Ser Pro Leu Val Ala Ile Trp Glu Leu Lys Lys Asp Val Tyr Val
 20 25 30
 Val Glu Leu Asp Trp Tyr Pro Asp Ala Pro Gly Glu Met Val Val Leu

35	40	45	
Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Gly Ile Thr Trp Thr Leu Asp Gln			
50	55	60	
Ser Ser Glu Val Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile Gln Val Lys			
65	70	75	80
Glu Phe Gly Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly Glu Val			
	85	90	95
Leu Ser His Ser Leu Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp			
100	105	110	
Ser Thr Asp Ile Leu Lys Asp Gln Lys Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe			
115	120	125	
Leu Arg Cys Glu Ala Lys Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys Trp Trp			
130	135	140	
Leu Thr Thr Ile Ser Thr Asp Leu Thr Phe Ser Val Lys Ser Ser Arg			
145	150	155	160
Gly Ser Ser Asp Pro Gln Gly Val Thr Cys Gly Ala Ala Thr Leu Ser			
	165	170	175
Ala Glu Arg Val Arg Gly Asp Asn Lys Glu Tyr Glu Tyr Ser Val Glu			
180	185	190	
Cys Gln Glu Asp Ser Ala Cys Pro Ala Ala Glu Glu Ser Leu Pro Ile			
195	200	205	
Glu Val Met Val Asp Ala Val His Lys Leu Lys Tyr Glu Asn Tyr Thr			
210	215	220	
Ser Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn			
225	230	235	240
Leu Gln Leu Lys Pro Leu Lys Asn Ser Arg Gln Val Glu Val Ser Trp			
	245	250	255
Glu Tyr Pro Asp Thr Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Thr			
260	265	270	
Phe Cys Val Gln Val Gln Gly Lys Ser Lys Arg Glu Lys Lys Asp Arg			
275	280	285	

Val Phe Thr Asp Lys Thr Ser Ala Thr Val Ile Cys Arg Lys Asn Ala
290 295 300

Ser Ile Ser Val Arg Ala Gln Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Ser Trp Ser
305 310 315 320

Glu Trp Ala Ser Val Pro Cys Ser
325

<210> 59

<211> 133

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> IL15 polypeptide

<400> 59

Gly Ile His Val Phe Ile Leu Gly Cys Phe Ser Ala Gly Leu Pro Lys
1 5 10 15

Thr Glu Ala Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu
20 25 30

Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser
35 40 45

Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu
50 55 60

Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp
65 70 75 80

Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn
85 90 95

Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu
100 105 110

Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met
115 120 125

Phe Ile Asn Thr Ser
130

<210> 60

<211> 175

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> sIL15ra polypeptide

<400> 60

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

1	5	10	15
Lys Ser Tyr Ser Leu Tyr Ser Arg Glu Arg Tyr Ile Cys Asn Ser Gly			
20	25	30	
Phe Lys Arg Lys Ala Gly Thr Ser Ser Leu Thr Glu Cys Val Leu Asn			
35	40	45	
Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile			
50	55	60	
Arg Asp Pro Ala Leu Val His Gln Arg Pro Ala Pro Pro Ser Thr Val			
65	70	75	80

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

145	150	155	160
His Gln Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr			
165	170	175	

<210> 61

<211> 606

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> soluble gp130

<400> 61

Met Leu Thr Leu Gln Thr Trp Leu Val Gln Ala Leu Phe Ile Phe Leu

1 5 10 15
 Thr Thr Glu Ser Thr Gly Glu Leu Leu Asp Pro Cys Gly Tyr Ile Ser
 20 25 30

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

 100 105 110
 Gln Asn Val Tyr Gly Ile Thr Ile Ile Ser Gly Leu Pro Pro Glu Lys
 115 120 125
 Pro Lys Asn Leu Ser Cys Ile Val Asn Glu Gly Lys Lys Met Arg Cys
 130 135 140
 Glu Trp Asp Gly Gly Arg Glu Thr His Leu Glu Thr Asn Phe Thr Leu
 145 150 155 160
 Lys Ser Glu Trp Ala Thr His Lys Phe Ala Asp Cys Lys Ala Lys Arg
 165 170 175

 Asp Thr Pro Thr Ser Cys Thr Val Asp Tyr Ser Thr Val Tyr Phe Val
 180 185 190
 Asn Ile Glu Val Trp Val Glu Ala Glu Asn Ala Leu Gly Lys Val Thr
 195 200 205
 Ser Asp His Ile Asn Phe Asp Pro Val Tyr Lys Val Lys Pro Asn Pro
 210 215 220
 Pro His Asn Leu Ser Val Ile Asn Ser Glu Glu Leu Ser Ser Ile Leu
 225 230 235 240
 Lys Leu Thr Trp Thr Asn Pro Ser Ile Lys Ser Val Ile Ile Leu Lys

 245 250 255

Tyr Asn Ile Gln Tyr Arg Thr Lys Asp Ala Ser Thr Trp Ser Gln Ile
 260 265 270
 Pro Pro Glu Asp Thr Ala Ser Thr Arg Ser Ser Phe Thr Val Gln Asp
 275 280 285
 Leu Lys Pro Phe Thr Glu Tyr Val Phe Arg Ile Arg Cys Met Lys Glu
 290 295 300
 Asp Gly Lys Gly Tyr Trp Ser Asp Trp Ser Glu Glu Ala Ser Gly Ile
 305 310 315 320

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

 385 390 395 400
 Thr Val Arg Asn Leu Val Gly Lys Ser Asp Ala Ala Val Leu Thr Ile
 405 410 415
 Pro Ala Cys Asp Phe Gln Ala Thr His Pro Val Met Asp Leu Lys Ala
 420 425 430
 Phe Pro Lys Asp Asn Met Leu Trp Val Glu Trp Thr Thr Pro Arg Glu
 435 440 445
 Ser Val Lys Lys Tyr Ile Leu Glu Trp Cys Val Leu Ser Asp Lys Ala
 450 455 460

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

Tyr Leu Lys Gln Ala Pro Pro Ser Lys Gly Pro Thr Val Arg Thr Lys
 515 520 525
 Lys Val Gly Lys Asn Glu Ala Val Leu Glu Trp Asp Gln Leu Pro Val

530 535 540
 Asp Val Gln Asn Gly Phe Ile Arg Asn Tyr Thr Ile Phe Tyr Arg Thr
 545 550 555 560
 Ile Ile Gly Asn Glu Thr Ala Val Asn Val Asp Ser Ser His Thr Glu
 565 570 575
 Tyr Thr Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Thr Leu Tyr Met Val Arg Met
 580 585 590
 Ala Ala Tyr Thr Asp Glu Gly Gly Lys Asp Gly Pro Glu Phe
 595 600 605

<210> 62
 <211> 836
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> soluble gp130 fused to a Fc
 <400> 62

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

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

Gln Asn Val Tyr Gly Ile Thr Ile Ile Ser Gly Leu Pro Pro Glu Lys
115 120 125

Pro Lys Asn Leu Ser Cys Ile Val Asn Glu Gly Lys Lys Met Arg Cys
130 135 140

Glu Trp Asp Gly Gly Arg Glu Thr His Leu Glu Thr Asn Phe Thr Leu
145 150 155 160

Lys Ser Glu Trp Ala Thr His Lys Phe Ala Asp Cys Lys Ala Lys Arg
165 170 175

Asp Thr Pro Thr Ser Cys Thr Val Asp Tyr Ser Thr Val Tyr Phe Val
180 185 190

Asn Ile Glu Val Trp Val Glu Ala Glu Asn Ala Leu Gly Lys Val Thr
195 200 205

Ser Asp His Ile Asn Phe Asp Pro Val Tyr Lys Val Lys Pro Asn Pro
210 215 220

Pro His Asn Leu Ser Val Ile Asn Ser Glu Glu Leu Ser Ser Ile Leu
225 230 235 240

Lys Leu Thr Trp Thr Asn Pro Ser Ile Lys Ser Val Ile Ile Leu Lys
245 250 255

Tyr Asn Ile Gln Tyr Arg Thr Lys Asp Ala Ser Thr Trp Ser Gln Ile
260 265 270

Pro Pro Glu Asp Thr Ala Ser Thr Arg Ser Ser Phe Thr Val Gln Asp
275 280 285

Leu Lys Pro Phe Thr Glu Tyr Val Phe Arg Ile Arg Cys Met Lys Glu
290 295 300

Asp Gly Lys Gly Tyr Trp Ser Asp Trp Ser Glu Glu Ala Ser Gly Ile
305 310 315 320

Thr Tyr Glu Asp Arg Pro Ser Lys Ala Pro Ser Phe Trp Tyr Lys Ile
325 330 335

Asp Pro Ser His Thr Gln Gly Tyr Arg Thr Val Gln Leu Val Trp Lys
340 345 350

Thr Leu Pro Pro Phe Glu Ala Asn Gly Lys Ile Leu Asp Tyr Glu Val

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

 Pro Ala Cys Asp Phe Gln Ala Thr His Pro Val Met Asp Leu Lys Ala
 420 425 430
 Phe Pro Lys Asp Asn Met Leu Trp Val Glu Trp Thr Thr Pro Arg Glu
 435 440 445
 Ser Val Lys Lys Tyr Ile Leu Glu Trp Cys Val Leu Ser Asp Lys Ala
 450 455 460
 Pro Cys Ile Thr Asp Trp Gln Gln Glu Asp Gly Thr Val His Arg Thr
 465 470 475 480
 Tyr Leu Arg Gly Asn Leu Ala Glu Ser Lys Cys Tyr Leu Ile Thr Val

 485 490 495
 Thr Pro Val Tyr Ala Asp Gly Pro Gly Ser Pro Glu Ser Ile Lys Ala
 500 505 510
 Tyr Leu Lys Gln Ala Pro Pro Ser Lys Gly Pro Thr Val Arg Thr Lys
 515 520 525
 Lys Val Gly Lys Asn Glu Ala Val Leu Glu Trp Asp Gln Leu Pro Val
 530 535 540
 Asp Val Gln Asn Gly Phe Ile Arg Asn Tyr Thr Ile Phe Tyr Arg Thr
 545 550 555 560

 Ile Ile Gly Asn Glu Thr Ala Val Asn Val Asp Ser Ser His Thr Glu
 565 570 575
 Tyr Thr Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Thr Leu Tyr Met Val Arg Met
 580 585 590
 Ala Ala Tyr Thr Asp Glu Gly Gly Lys Asp Gly Pro Glu Phe Arg Ser
 595 600 605
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu

610 615 620
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu

625 630 635 640
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser

645 650 655
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu

660 665 670
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr

675 680 685
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn

690 695 700

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

705 710 715 720

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln

725 730 735

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val

740 745 750

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

755 760 765

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro

770 775 780

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

785 790 795 800

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val

805 810 815

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu

820 825 830

Ser Pro Gly Lys

835

<210> 63

<211> 7711

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Matrice TRAC locus_CubiCAR CD22 pCLS30056 full sequence

<400> 63

gtggcacttt tcggggaaat gtgcgcggaa cccctatttg tttatttttc taaatacatt	60
caaatatgta tccgctcatg agacaataac cctgataaat gttcaataa tattgaaaaa	120
ggaagagtat gagtattcaa catttccgtg tcgcccttat tccctttttt gcggcatttt	180
gccttctctgt ttttctcacc ccagaaacgc tggtgaaagt aaaagatgct gaagatcagt	240
tgggtgcacg agtgggttac atcgaactgg atctcaacag cggtaagatc cttgagagtt	300
ttcgccccga agaacgtttt ccaatgatga gcacttttaa agttctgcta tgtggcgcgg	360

tattatcccg tattgacgcc gggcaagagc aactcggctg ccgcatacac tattctcaga	420
atgacttggg tgagtactca ccagtcacag aaaagcatct tacggatggc atgacagtaa	480
gagaattatg cagtgtctcc ataaccatga gtgataacac tgcggccaac ttacttctga	540
caacgatcgg aggaccgaag gagctaaccg cttttttgca caacatgggg gatcatgtaa	600
ctcgcttga tcgttgggaa ccggagctga atgaagccat accaaacgac gagcgtgaca	660
ccacgatgcc ttagcaatg gcaacaacgt tgcgcaaact attaactggc gaactactta	720
ctctagcttc ccggcaacaa ttaatagact ggatggagge ggataaagtt gcaggaccac	780

ttctgcgtc gcccttccg gctggtggtt ttattgtgta taaatctgga gccggtgagc	840
gtggttctcg cggatcatt gcagcactgg ggccagatgg taagccctcc cgtatcgtag	900
ttatctacac gacggggagt caggcaacta tggatgaacg aaatagacag atcgctgaga	960
taggtgcctc actgattaag cattggtaac tgcagacca agtttactca tatatacttt	1020
agattgattt aaaacttcat ttttaattta aaaggatcta ggtgaagatc ctttttgata	1080
atctcatgac caaaatccct taacgtgagt tttcgttcca ctgagcgtca gaccccgtag	1140
aaaagatcaa aggatcttct tgagatcctt tttttctgcg cgtaatctgc tgccttcaaa	1200

caaaaaaacc accgctacca gcggtgggtt gtttgccgga tcaagagcta ccaactcttt	1260
ttccgaaggt aactggcttc agcagagcgc agataccaaa tactgttctt ctagtgtagc	1320
cgtagttagg ccaccacttc aagaactctg tagcacgcc tacatacttc gctctgctaa	1380
tcctgttacc agtggctgct gccagtggcg ataagtcgtg tcttaccggg ttggactcaa	1440
gacgatagtt accggataag gcgcagcggg cgggctgaac ggggggttcg tgcacacagc	1500
ccagcttggg gcgaacgacc tacaccgaac tgagatacct acagcgtgag ctatgagaaa	1560

gcgccacgct tcccgaaggg agaaaggcgg acaggtatcc ggtaagcggc agggtcggaa	1620
caggagagcg cagcagggag cttccagggg gaaacgcctg gtatctttat agtcctgtcg	1680
ggtttcgcca cctctgactt gagcgtcgat ttttgtgatg ctctgcaggg gggcggagcc	1740
tatggaaaaa cgccagcaac gcggcctttt tacggttcct ggcccttttg tggccttttg	1800
ctcacatggt ctttctgctg ttatccctg attctgtgga taaccgtatt accgcctttg	1860
agtgagctga taccgtctgc cgcagccgaa cgaccgagcg cagcgagtca gtgagcgagg	1920
aagcggagag cgcccaatac gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg	1980
cagctggcac gacaggtttc ccgactggaa agcgggcagt gagcgcaacg caattaatgt	2040
gagttagctc acicattagg caccacaggc ttacacttt atgcttccgg ctctgatgtt	2100
gtgtggaatt gtgagcggat aacaatttca cacaggaaac agctatgacc atgattacgc	2160
caagcgcgtc aattaaccct cactaaaggg aacaaaagct gtttaattaat tgctgggcct	2220
ttttcccatg cctgccitta ctctgccaga gttatatgct tggggttttg aagaagatcc	2280
tattaaataa aagaataagc agtattatta agtagccctg catttcaggt ttccttgagt	2340
ggcagcccg gcttgccgt gaacgttcac tgaatcatg gcctcttggc caagattgat	2400
agcttgtgcc tgtccctgag tccagttcca tcacgagcag ctggtttcta agatgctatt	2460
tcccgataa agcatgagac cgtgacttgc cagccccaca gagccccgcc ctgtgccatc	2520
actggcatct ggactccagc ctgggttggg gcaaagaggg aaatgagatc atgtcctaac	2580
cctgatcctc ttgtccaca gatatccagt acccctacga cgtgccccgac tacgcctccg	2640
gtgagggcag aggaagtctt ctaacatgcg gtgacgtgga ggagaatccg ggccccggat	2700
ccgctctgcc cgtcaccgt ctgctgctgc cactggcact gctgctgcac gctgctaggc	2760
ccggaggggg aggcagctgc ccctacagca accccagcct gtgcagcgga ggcggcgcca	2820
gcggcggagg gggtagccag gtgcagctgc agcagagcgg ccctggcctg gtgaagccaa	2880
gccagacact gtccctgacc tgcgccatca gcggcgattc cgtgagctcc aactccgccg	2940
cctggaattg gatcaggcag tccccttctc ggggcctgga gtggctggga aggacatact	3000
atcggcttaa gtgtacaac gattatgccg tgtctgtgaa gagcagaatc acaatcaacc	3060
ctgacacctc caagaatcag ttctctctgc agctgaatag cgtgacacca gaggacaccg	3120
ccgtgtacta ttgcgccagg gaggtgaccg gcgacctgga ggatgccttt gacatctggg	3180
gccagggcac aatggtgacc gtgagctccg gaggcggcgg atctggcgga ggaggaagtg	3240
ggggcgcgcg gagtgatata cagatgacac agtccccatc ctctctgagc gcctccgtgg	3300

gcgacagagt gacaatcacc tgtagggcct cccagacat ctggctttac ctgaactggt	3360
atcagcagag gcccggcaag gccctaatac tgctgatcta cgcagcaagc tcctgcaga	3420
gcggagtgcc atccagattc tctggcagg gctccggcac agacttcacc ctgacatct	3480
ctagcctgca ggccgaggac ttgccacat actattgcca gcagctttat agcatcccc	3540
agacatttgg ccagggcacc aagctggaga tcaagtcgga tcccgaagc ggagggggag	3600
gcagctgccc ctacagcaac cccagcctgt gcagcggagg cggcggcagc gagctgccc	3660
cccagggcac ctctccaac gtgtccacca acgtgagccc agccaagccc accaccaccg	3720
ctgttctta ttcaatcct tcctgtgtg cccccacc aacccccgt ccaaggcccc	3780
ctacccccgc accaactatt gcctccagc cactctcact gcggcctgag gcctgtcggc	3840
ccgtctgtg aggcgcagtg catacaagg gcctcgattt cgcctgcgat attacatct	3900
gggcacccct cgcgggcacc tgcggggtgc ttctctctc cctggtgatt accctgtatt	3960
gcagacgggg ccggaagaag ctctctaca ttttaagca gcctttcatg cggccagtgc	4020
agacaacca agaggaggat ggggtttcct gcagattccc tgaggaagag gaaggcgggt	4080
gcgagctgag agtgaagttc tccaggagcg cagatgcccc cgcctatcaa cagggccaga	4140
accagctcta caacgagctt aacctcggga ggcgcaaga atacgacgtg ttggataaga	4200
gaagggggcg ggaccccgag atgggaggaa agccccggag gaagaacct caggagggcc	4260
tgtacaacga gctgcagaag gataagatgg ccgaggccta ctacagatc gggatgaagg	4320
gggagcggcg ccgcgggaag gggcacgatg ggctctacca ggggctgagc acagccaca	4380
aggacacata cgacgccttg cacatgcagg ccttccacc ccgggaatag tctagagggc	4440
ccgtttaaac ccgtgatca gcctcgactg tgccttctag ttgccagcca tctgttgttt	4500
gcccccccc cgtgccttcc ttgacctgg aaggtgccac tccactgtc ctttctaat	4560
aaaatgagga aattgcatc cattgtctga gtaggtgtca ttctattctg gggggtgggg	4620
tggggcagga cagcaagggg gaggattggg aagacaatag caggcatgct ggggatgcgg	4680
tgggtcttat gactagtggc gaattcccgt gtaccagctg agagactcta aatccagtga	4740
caagtctgtc tgcctattca ccgattttga ttctcaaca aatgtgtcac aaagtaagga	4800
ttctgatgtg tatatcacag acaaaactgt gctagacatg aggtctatgg acttcaagag	4860
caacagtgtc gtggcctgga gcaacaatc tgactttgca tgtgcaaag cttcaacaa	4920
cagcattatt ccagaagaca ctttctccc cagcccagg aagggcagct ttggtgcctt	4980
cgcaggtgtt ttcttgctt caggaaaggc caggttctgc ccagagctct ggtcaatgat	5040
gtctaaaact cctctgattg gtggtctcgg ctttatccat tgccacaaa accctctttt	5100
tactaagcga tcgtccggt gcccgctcag ggcagagcg cacatcgccc acagtccccg	5160

agaagttggg gggaggggtc ggcaattgaa cgggtgccta gagaaggtgg cgcggggtaa	5220
actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gcctttttcc cgagggtggg ggagaaccgt	5280
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac	5340
agctgaagct tcgaggggct cgcattcttc cttcacgcgc ccgccgcct acctgaggcc	5400
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tctgaactg	5460
cgtccgccgt ctaggtaagt ttaaagctca ggtcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc	5520
cttgagcct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg ctgtctcaac	5580
tctacgtctt tgtttcgttt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc	5640
ctacctgaga tcaccggcgc caccatggct tcttaccctg gacaccagca tgcttctgcc	5700
tttgaccagg ctgccagatc cagggggccac tccaacagga gaactgccct aagaccaga	5760
agacagcagg aagccactga ggtgaggcct gacgagaaga tgccaaccct gctgagggtg	5820
tacattgatg gacctcatgg catgggcaag accaccacca ctcaactgct ggtggcactg	5880
ggctccaggg atgacattgt gtatgtgcct gagccaatga cctactggag agtgctagga	5940
gcctctgaga ccattgccaa catctacacc acccagcaca ggctggacca gggagaaatc	6000
tctgtcggag atgctgctgt ggtgatgacc tctgccaga tcacaatggg aatgccctat	6060
gctgtgactg atgctgttct ggctcctcac attggaggag aggcctggctc ttctcatgcc	6120
cctccacctg cctgaccct gatctttgac agacacccca ttgcagccct gctgtgctac	6180
ccagcagcaa ggtacctcat gggctccatg accccacagg ctgtgctggc ttttgtggcc	6240
ctgatccctc caacctccc tggcaccaac attgttctgg gagcactgcc tgaagacaga	6300
cacattgaca ggctggcaaa gaggcagaga cctggagaga gactggacct ggccatgctg	6360
gctgcaatca gaaggggtga tggactgctg gcaaacactg tgagatacct ccagtgtgga	6420
ggctcttgga gagaggactg gggacagctc tctggaacag cagtgcctcc tcaaggagct	6480
gagccccagt ccaatgctgg tccaagacc cacattgggg acacctgtt caccctgttc	6540
agagccctg agctgctggc tccaatgga gacctgtaca atgtgtttgc ctgggctctg	6600
gatgttctag ccaagaggct gaggtccatg catgtgttca tctggacta tgaccagtec	6660
cctgctggat gcagagatgc tctgtgcaa ctaacctctg gcatggtgca gacctatgtg	6720
accacccctg gcagcatccc caccatctgt gacctagcca gaacctttgc caggagatg	6780
ggagaggcca actaaggcgc gccactcgag cgctagctgg ccagacatga taagatacat	6840
tgatgagttt ggacaaacca caactagaat gcagtgaata aatgcttta tttgtgaaat	6900
ttgtgatgct attgctttat ttgtaacat tataagctgc aataaacaag ttaacaaca	6960
caattgcatt cattttatgt ttcaggttca gggggagggtg tgggaggttt tttaaagcaa	7020

gtaaaacctc tacaaatgtg gtatggaagg cgcgcccaat tcgccctata gtgagtcgta 7080

ttacgtcgcg ctactggcc gtcgttttac aacgtcgtga ctgggaaaac cctggcgta 7140

cccaacttaa tcgccttgca gcacatcccc ctttcgccag ctggcgtaat agcgaagagg 7200

cccgcaccga aacgcccttc ccaacagtig cgcagcctga atggcgaatg ggagcgccct 7260

gtagcggcgc attaagcgcg gcgggtgtgg tggttacgcg cagcgtgacc gctacacttg 7320

ccagcgccct agcgcccgct ctttcgctt tcttccttc ctttcctgcc acgttcgccg 7380

gctttcccg tcaagctcta aatcgggggc tccctttagg gttccgattt agtgctttac 7440

ggcacctcga ccccaaaaaa cttgattagg gtgatggttg gcctgtagtg ggccatagcc 7500

ctgatagacg gttttcgcg ctttgacgtt ggagtccacg ttcittaata gtggactctt 7560

gttccaaact ggaacaacac tcaacctat ctcggtctat tcttttgatt tataagggat 7620

tttgccgatt tcggcctatt gggttaaaaa tgagctgatt taacaaaaat ttaacgcgaa 7680

ttttaacaaa atattaacgc ttacaattta g 7711

<210> 64

<211> 7502

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Matrice CD25 locus_IL15_2A_sIL15Ra pCLS30519 full sequence

<400> 64

gtttattatt cctgttcac agctattgtc tgccatataa aaacttaggc caggcacagt 60

ggctcacacc tgiaatccca gcactttgga aggccgaggc aggcatca caaggcagg 120

agttcgagac cagcctggcc aacatagcaa aacccatct ctactaaaaa tacaaaaatt 180

agccaggcat ggtggcgtgt gcactggttt agagttagga ccacattttt ttggtgccgt 240

gttacacata tgaccgtgac tttgttacac cactacagga ggaagagtag aagaacaatc 300

ggttctggcg tgaacagac tttgaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag 360

tccaaccag ggcccgttac cgggtccgcc accatggact ggacctggat tctgttcctc 420

gtggctgctg ctacaagagt gcacagcggc attcatgtct tcattttggg ctgtttcagt 480

gcagggttc ctaaacaga agccaactgg gtgaatgtaa taagtattt gaaaaaatt 540

gaagatctta ttcaatctat gcatattgat gctactttat atacggaaag tgatgttcac 600

cccagttgca aagtaacagc aatgaagtgc tttctcttgg agttacaagt tatttcactt 660

gagtcgggag atgcaagat tcatgataca gtgaaaaatc tgatcatcct agcaacaac 720

agtttgcctt ctaatgggaa tgtaacagaa tctggatgca aagaatgtga ggaactggag 780

gaaaaaata ttaaagaatt ttgacagat ttgtacata ttgtccaaat gttcatcaac	840
acttctggaa gcggagctac taacttcagc ctgctgaagc aggcctggaga cgtggaggag	900
aacctggac ctgggaccgg ctctgcaacc atggattgga cgtggatcct gtttctcgtg	960
gcagctgcca caagagtcca cagtatcacg tgccctcccc ccatgtccgt ggaacacgca	1020
gacatctggg tcaagagcta cagcttgtac tccaggagc ggtacatttg taactctggt	1080
ttcaagcgt aagccggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccacgaat	1140
gtcggccact ggacaacccc cagtctcaaa tgcattagag accctgccct ggttcaccaa	1200
agggcagcgc caccctccac agtaacgacg gcaggggtga cccacagcc agagagcctc	1260
tccccctctg gaaaagagcc cgcagcttca tctccagct caaacaacac agcggccaca	1320
acagcagcta ttgtccggg ctcccagctg atgccttcaa aatcaccttc cacaggaacc	1380
acagagataa gcagtcatga gtccctccac ggcccccct ctcagacaac agccaagaac	1440
tgggaactca cagcatccg ctcccaccag ccgccagggtg tgtatccaca gggccacagc	1500
gacaccactg agggcagagg cagcctgctg acctgcggcg acgtcgagga gaaccccg	1560
cccatggggg caggtgccac cgcccgcgcc atggacgggc cgcgcctgct gctgttgctg	1620
cttctggggg tgtcccttgg aggtgccaag gaggcattgc ccacaggcct gtacacacac	1680
agcggtgagt gctgcaaagc ctgcaacctg ggcgagggtg tggcccagcc ttgtggagcc	1740
aaccagaccg tgtgtgagcc ctgcctggac agcgtgacgt tctccgacgt ggtgagcgcg	1800
accgagccgt gcaagccgtg caccgagtgc gtggggctcc agagcatgtc ggcgcctg	1860
gtggaggccg atgacccgt gtgccgctgc gcctacggct actaccagga tgagacgact	1920
gggcgctgcg aggcgtgccg cgtgtgcgag gcgggctcgg gcctcgtgtt ctctgccag	1980
gacaagcaga acaccgtgtg cgaggagtgc cccgacggca cgtattccga cgaggccaac	2040
cacgtggacc cgtgcctgcc ctgcaccgtg tgcgaggaca ccgagcgcca gctccgcgag	2100
tgcacacgct gggccgacgc cgagtgcgag gagatccctg gccgttgat tacacggtcc	2160
acacccccag agggctcgga cagcacagcc cccagcacc aggagcctga ggcacctcca	2220
gaacaagacc tcatagccag cacggtggca ggtgtggtga ccacagtgt ggcagctcc	2280
cagcccgctg tgaccgagg caccaccgac aacctcatcc ctgtctattg ctccatcctg	2340
gctgctgtgg ttgtgggtct tgtggcctac atagccttca agaggtgaaa aacaaaaga	2400
acaagaatct ctgtgtaaga agccgggaac agacaacaga agtcatgaag cccaagtga	2460
atcaaagggt ctaaatggtc gccaggaga catccgttgt gcttgccctgc gttttggaag	2520

ctctgaagtc acatcacagg acacggggca gtggcaacct tgtctctatg ccagctcagt	2580
cccatcagag agcgagcgct acccacttct aaatagcaat ttgccgttg aagaggaagg	2640
gcaaaaccac tagaactctc catcttattt tcatgtatat gtgttcatgc gatcgtccg	2700
gtgccgtca gtgggcagag cgcacatcgc ccacagtccc cgagaagttg gggggagggg	2760
tcggcaattg aacgggtgcc tagagaaggt ggcgcggggt aaactgggaa agtgatgtcg	2820
tgtactggct ccgccttttt cccgaggggtg ggggagaacc gtatataagt gcagtagtcg	2880
ccgtgaacgt tctttttcgc aacgggtttg ccgccagaac acagctgaag cttcgagggg	2940
ctcgcatctc tctttcacgc gcccgccgcc ctacctgagg ccgccatcca cgccggttga	3000
gtcgcgttct gccgcctccc gcctgtgggtg cctcctgaac tgcgtccgcc gtctaggtaa	3060
gtttaagct caggctcaga ccgggccttt gtccggcgct cccttgagc ctacctagac	3120
tcagccggt ctccacgtt tgcctgacct tcttctca actctacgtc tttgtttcgt	3180
tttctgttct gcgccgttac agatccaagc tgtgaccggc gcctacctga gatcaccggc	3240
gccaccatgg cttcttacct tggacaccag catgcttctg cctttgacca ggctgccaga	3300
tccaggggcc actccaacag gagaactgcc ctaagaccca gaagacagca ggaagccact	3360
gaggtgaggc ctgagcagaa gatgccaacc ctgctgaggg tgtacattga tggacctcat	3420
ggcatgggca agaccaccac cactcaactg ctggtggcac tgggtccag ggatgacatt	3480
gtgtatgtgc ctgagccaat gacctactgg agagtgttag gagcctctga gaccattgcc	3540
aacatctaca ccaccacga caggctggac caggagaaaa tctctgctgg agatgctgct	3600
gtggtgatga cctctgccca gatcacaatg ggaatgccct atgctgtgac tgatgctgtt	3660
ctggctctc acattggagg agaggctggc tcttctcatg cccctccacc tggcctgacc	3720
ctgatctttg acagacacc cattgcagcc ctgctgtgct acccagcagc aaggtacctc	3780
atgggtccca tgacccaca ggctgtgctg gcttttgtgg cctgatccc tccaaccctc	3840
cctggcacca acattgttct gggagcactg cctgaagaca gacacattga caggctggca	3900
aagaggcaga gacctggaga gagactggac ctggccatgc tggctgcaat cagaagggtg	3960
tatggactgc tggcaaacac tgtgagatac ctccagtgtg gaggtctttg gagagaggac	4020
tggggacagc tctctggaac agcagtgtcc cctcaaggag ctgagcccca gtccaatgct	4080
ggtccaagac cccacattgg ggacacctg ttacctgtg tcagagcccc tgagctgctg	4140
gctcccaatg gagacctgta caatgtgttt gcctgggctc tggatgttct agccaagagg	4200
ctgaggtcca tgcatgtgtt catcctggac tatgaccagt cccctgctgg atgcagagat	4260

gctctgctgc aactaacctc tggcatgggtg cagacccatg tgaccacccc tggcagcatc	4320
cccaccatct gtgacctagc cagaaccttt gccagggaga tgggagaggc caactaaggc	4380
gcgccactcg agcgctagct ggccagacat gataagatac attgatgagt ttggacaaac	4440
cacaactaga atgcagtga aaaaatgctt tatttgtgaa atttgtgatg ctattgcttt	4500
atttgttaacc attataagct gcaataaaca agttaacaac aacaattgca ttcattttat	4560
gtttcagggtt cagggggagg tgtgggaggt tttttaaagc aagtaaaacc tctacaaatg	4620
tggatatgaa ggcgcgccca attcgcccta tagtgagtcg tattacgtcg cgctcactgg	4680
ccgtcgtttt acaacgtcgt gactgggaaa accctggcgt tacccaactt aatcgcttg	4740
cagcacatcc ccttttcgcc agctggcgta atagcgaaga ggcccgcacc gaaacgccct	4800
tcccaacagt tgcgcagcct gaatggcgaa tgggagcgcc ctgtagcggc gcattaagcg	4860
cggcggtgtt ggttggttacg cgcagcgtga ccgctacact tgccagcgcc ctagcggccc	4920
ctcctttcgc tttcttccct tcctttctcg ccacgttcgc cggttttccc cgtcaagctc	4980
taaatcgggg gctcccttta gggttccgat ttagtgcttt acggcacctc gaccccaaaa	5040
aacttgatta gggtagtggt tggcctgtag tgggcatag cctgataga cggtttttcg	5100
ccctttgacg ttggagtcca cgttctttaa tagtggactc ttgttccaaa ctggaacaac	5160
actcaacctt atctcggctt attcttttga tttataaggg attttgccga tttcgcccta	5220
ttggttaaaa aatgagctga ttttaaaaaa atttaacgag aattttaaca aaatattaac	5280
gcttacaatt taggtggcac ttttcgggga aatgtgcgag gaaccctat ttgtttattt	5340
ttctaatac attcaaata gtatccgctc atgagacaat aaccctgata aatgcttcaa	5400
taatatgaa aaaggaagag tatgagtatt caacatttcc gtgtcgccct tattcccttt	5460
tttgcggcat tttgccttcc tgtttttgct caccagaaa cgctggtgaa agtaaaagat	5520
gctgaagatc agttgggtgc acgagtgggt tacatcgaac tggatctcaa cagcggtgag	5580
atccttgaga gttttcgccc cgaagaacgt tttccaatga tgagcacttt taaagtctg	5640
ctatgtggcg cggtattatc ccgtattgac gccgggcaag agcaactcgg tcgccgcata	5700
cactattctc agaatgactt ggttgagtac tcaccagtca cagaaaagca tcttacggat	5760
ggcatgacag taagagaatt atgcagtgtt gccataacca tgagtgataa cactgcggcc	5820
aacttacttc tgacaacgat cggaggaccg aaggagctaa ccgctttttt gcacaacatg	5880
ggggatcatg taactcgctt tgatcgttgg gaaccggagc tgaatgaagc cataccaaac	5940
gacgagcgtg acaccacgat gcctgtagca atggcaacaa cgttgcgcaa actattaact	6000
ggcgaactac ttactctagc ttcccggcaa caattaatag actggatgga ggcggataaa	6060
gttgacggac cacttctgag ctccgccctt ccggctggct gggtttattgc tgataaatct	6120

ggagccggtg agcgtgggtc tcgcggtatc attgcagcac tggggccaga tggtaagccc 6180
 tcccgtatcg tagttatcta cagcagggg agtcaggcaa ctatggatga acgaaataga 6240
 cagatcgctg agatagggtc ctactgatt aagcattggt aactgtcaga ccaagtttac 6300
 tcataatac tttagattga tttaaaactt catttttaat ttaaaaggat ctagggaag 6360

 atcctttttg ataattcat gacaaaatc ccttaacgtg agttttcgtt cactgagcg 6420
 tcagacccc tagaaaagat caaaggatct tcttgagatc cttttttct gcgcgtaatc 6480
 tgctgcttg aaacaaaaa accaccgta ccagcgggtg tttgtttgcc ggatcaagag 6540
 ctaccaactc tttttccgaa ggtaactggc ttcagcagag cgcagatacc aaatactgtt 6600
 ctctagtgt agccgtagt aggccaccac ttcaagaact ctgtagcacc gcctacatac 6660
 ctgctctgc taatcctgt accagtggct gctgccagt gcgataagtc gtgtcttacc 6720
 gggttggact caagacgata gttaccgat aaggcgcagc ggtcgggctg aacggggggt 6780

 tcgtgcacac agcccagctt ggagcgaacg acctacaccg aactgagata cctacagcgt 6840
 gagctatgag aaagcgccac gcttcccgaa gggagaaagg cggacaggta tccggtaacg 6900
 ggcagggtcg gaacaggaga gcgcacgagg gagcttcag ggggaaacgc ctggtatctt 6960
 tatagtcctg tcgggtttcg ccacctctga ctgagcgtc gatttttgtg atgctcgtca 7020
 ggggggcgga gcctatggaa aaacgccagc aacgcggcct ttttacggtt cctggccttt 7080
 tgctggcctt ttgtcacat ggtctttcct gcgttatccc ctgattctgt ggataaccgt 7140
 attaccgct ttgagtgagc tgataccgct cgccgcagcc gaacgaccga gcgcagcgag 7200

 tcagtgagcg aggaagcgga gagcgcccaa tacgaaacc gcctctcccc gcgcgttggc 7260
 cgattcatta atgcagctgg cagcagaggt tccccactg gaaagcgggc agtgagcgca 7320
 acgcaattaa tgtagttag ctactcatt aggcacccca ggctttacac tttatgcttc 7380
 cggctcgtat gttgtgtgga attgtgagcg gataacaatt tcacacagga aacagctatg 7440
 accatgatta cgccaagcgc gtcaattaac cctcactaaa gggaacaaaa gctgttaatt 7500
 aa 7502

 <210> 65
 <211> 7778
 <212> DNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Matrice PD1 locus_IL15_2A_sIL15Ra pCLS30513 full sequence
 <400> 65
 gactccccag acaggccctg gaaccccccc acctctccc cagccctgct cgtggtgacc 60

gaaggggaca acgccacctt cacctgcagc ttctccaaca catcggagag ctctgtgcta	120
aactggtacc gcatgagccc cagcaaccag acggacaagc tggccgcctt ccccaggagc	180
cgcagccagc cgggccagga ctgccgcttc cgtgtcacac aactgcccac cgggcgtgac	240
ttccacatga gcgtggtcag ggcccggcgc aatgacagcg gcacctacct ctgtggggcc	300
ggttctggcg tgaacacagc ttgtaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag	360
tccaaccag ggcccgttac cgggtccgcc accatggact ggacctggat tctgttcctc	420
gtggctgctg ctacaagagt gcacagcggc attcatgtct tcattttggg ctgtttcagt	480
gcagggttc ctaaacaga agccaactgg gtgaatgtaa taagtattt gaaaaaatt	540
gaagatctta ttcaatctat gcatattgat gctactttat atacggaaag tgatgttcac	600
cccagttgca aagtaacagc aatgaagtgc ttctcttgg agttacaagt tatttcactt	660
gagtcgggag atgcaagtat tcatgataca gtagaaaatc tgatcatcct agcaaacaac	720
agtttgtctt ctaatgggaa tgtaacagaa tctggatgca aagaatgtga ggaactggag	780
gaaaaaata ttaaagaatt ttgacagagt ttgtacata ttgtccaaat gtcatcaac	840
acttctggaa gcggagctac taacttcagc ctgctgaagc aggtcggaga cgtggaggag	900
aacctggac ctgggaccgg ctctgcaacc atggattgga cgtggatcct gtttctcgtg	960
gcagctgcca caagagtcca cagtatcacg tgccctcccc ccatgtccgt ggaacacgca	1020
gacatctggg tcaagagcta cagcttgtac tccaggagc ggtacatttg taactctggt	1080
ttcaagcgta aagccggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccacgaat	1140
gtgcccact ggacaacccc cagtctcaaa tgcattagag acctgcctt ggttcaccaa	1200
aggccagcgc caccctccac agtaacgacg gcaggggtga cccacagcc agagagcctc	1260
tccccctctg gaaaagagcc cgcagcttca tctccagct caaacaacac agcggccaca	1320
acagcagcta ttgtcccggt ctcccagctg atgccttcaa aatcaccttc cacaggaacc	1380
acagagataa gcagtcatga gtccctccac ggacccccct ctgagacaac agccaagaac	1440
tgggaactca cagcatccgc ctcccaccag ccgccagggtg tgtatccaca gggccacagc	1500
gacaccactg agggcagagg cagcctgctg acctgcggcg acgtcgagga gaaccccggtg	1560
cccatggggg caggtgccac cggccgcgcc atggacgggc cgcgcctgct gctgttgctg	1620
cttctggggg tgtcccttgg aggtgccaaag gaggcattgc ccacaggcct gtacacacac	1680
agcggtgagt gctgcaaagc ctgcaacctg ggcgagggtg tggcccagcc ttgtggagcc	1740
aaccagaccg tgtgtgagcc ctgcctggac agcgtgacgt tctccgacgt ggtgagcgcg	1800
accgagccgt gcaagccgtg caccgagtgc gtggggctcc agagcatgtc ggcgccgtgc	1860
gtggaggccg atgacgccgt gtgccgctgc gcctacggct actaccagga tgagacgact	1920

gggcgctgcg aggcgtgccg cgtgtgagag gcgggctcgg gcctcgtgtt ctccctgccag	1980
gacaagcaga acaccgtgtg cgaggagtgc cccgacggca cgtattccga cgaggccaac	2040
cacgtggacc cgtgcctgcc ctgcaccgtg tgcgaggaca ccgagcgcca gctccgcgag	2100
tgcacacgct gggccgacgc cgagtgcgag gagatccctg gccgttggat tacacggtcc	2160
acacccccag agggctcggg cagcacagcc cccagcacc aggagcctga ggcacctcca	2220
gaacaagacc tcatagccag cacggtggca ggtgtggtga ccacagtgat gggcagctcc	2280
cagcccgctgg tgaccgcagg caccaccgac aacctcatcc ctgtctattg ctccatcctg	2340
gctgctgtgg ttgtgggtct tgtggcctac atagccttca agaggtgatc tagagggccc	2400
gtttaaaccc gcgatcagc ctgactgtg ccttctagt gccagccatc tgttgtttgc	2460
ccctccccg tgccttcctt gacctggaa ggtgccactc ccactgtcct ttcctaataa	2520
aatgaggaaa ttgcatcgca ttgtctgagt aggtgtcatt ctattctggg ggggtggggtg	2580
gggcaggaca gcaaggggga ggattgggaa gacaatagca ggcatgctgg ggatgcggtg	2640
ggctctatga ctagtggcga attcggcgca gatcaaagag agcctgcggg cagagctcag	2700
ggtgacaggt gcggcctcgg agggcccggg gcaggggtga gctgagccgg tcctggggtg	2760
ggtgtccctt cctgcacagg atcaggagct ccagggtcgt agggcaggga cccccagct	2820
ccagtccagg gctctgtcct gcacctgggg aatggtgacc ggcatctctg tcctctagct	2880
ctggaagcac ccagcccct ctagtctgcc ctacccctg accctgacct tccacctga	2940
ccccgtcta acccctgacc tttggcgatc gctccggtgc ccgtcagtgg gcagagcgca	3000
catcgccac agtccccgag aagtggggg gaggggtcgg caattgaacg ggtgcctaga	3060
gaaggtggcg cggggtaaac tgggaaagt atgtcgtgta ctggctccgc ctttttcccg	3120
aggggtgggg agaaccgtat ataagtgcag tagtcgccgt gaacgttctt tttcgcaacg	3180
ggtttgccgc cagaacacag ctgaagcttc gaggggtcgc catctctctt tcacgcgcc	3240
gccgccctac ctgaggccgc catccacgc ggttgagtcg cgttctgccg cctccgcct	3300
gtggtgcctc ctgaactgcg tccgccgtct aggttaagttt aaagctcagg tcgagaccgg	3360
gcctttgtcc ggcgctccct tggagcctac ctgactcag ccggtctcc acgctttgcc	3420
tgacctgct tgctcaactc tacgtctttg tttcgttttc tgttctgcgc cgttacagat	3480
ccaagctgtg accggcgctt acctgagatc accggcgcca ccatggcttc ttacctgga	3540
caccagcatg ctctgcctt tgaccaggct gccagatcca ggggccactc caacaggaga	3600
actgccctaa gaccagaag acagcaggaa gccactgagg tgaggcctga gcagaagatg	3660

ccaacccctgc tgagggtgta cattgatgga cctcatggca tgggcaagac caccaccact	3720
caactgctgg tggcactggg ctccagggat gacatttgt atgtgcctga gccaatgacc	3780
tactggagag tgctaggagc ctctgagacc attgccaaca tctacaccac ccagcacagg	3840
ctggaccagg gagaaatctc tgctggagat gctgctgtgg tgatgacctc tgcccagatc	3900
acaatgggaa tgcctatgc tgtgactgat gctgttctgg ctctcacat tggaggagag	3960
gctggctctt ctcatgcccc tccacctgcc ctgacctga tctttgacag acacccatt	4020
gcagccctgc tgtgctaccc agcagcaagg tacctcatgg gctccatgac cccacaggct	4080
gtgctggctt ttgtggccct gateccctca accctccctg gcaccaacat tgttctggga	4140
gcactgcctg aagacagaca cattgacagg ctggcaaaga ggcagagacc tggagagaga	4200
ctggacctgg ccatgctggc tgcaatcaga aggggtgatg gactgctggc aaacactgtg	4260
agatacctcc agtgtggagg ctcttggaga gaggactggg gacagctctc tggaacagca	4320
gtgccccctc aaggagctga gccccagtcc aatgctggtc caagaccca cattggggac	4380
accctgttca cctgttcag agccccctgag ctgctggctc ccaatggaga cctgtacaat	4440
gtgtttgctt gggctctgga tgttctagcc aagaggctga ggtccatgca tgtgttcac	4500
ctggactatg accagtcccc tgctggatgc agagatgctc tgctgcaact aacctctggc	4560
atggtgcaga ccatgtgac caccctggc agcatcccca ccatctgtga cctagccaga	4620
acctttgcca gggagatggg agaggccaac taaggcgcgc cactcgagcg ctagtggcc	4680
agacatgata agatacattg atgagtttgg acaaacaca actagaatgc agtgaaaaa	4740
atgctttatt tgtgaaattt gtgatgctat tgcctttatt gtaaccatta taagctgcaa	4800
taaacaagtt aacaacaaca attgcattca ttttatgttt caggttcagg gggaggtgtg	4860
ggaggttttt taaagcaagt aaaacctcta caaatgtggt atggaaggcg cgccaattc	4920
gccctatagt gagtctgatt acgtcgct cactggccgt cgttttaca cgtcgtgact	4980
gggaaaacc tggcgttacc caacttaatc gccttgacgc acatccccct ttcgccagct	5040
ggcgtaatag cgaagaggcc cgcaccgaaa cgcccttccc aacagttgcg cagcctgaat	5100
ggcgaatggg agcgccctgt agcggcgcat taagcgcggc ggggtgtggg gttacgcga	5160
gcgtgaccgc tacacttgcc agcgccctag cgcccgtcc tttcgcttc ttccttctc	5220
ttctcgccac gttcgccggt tttccccgtc aagctctaaa tcgggggctc ctttaggg	5280
tccgatttag tgetttacgg cacctcgacc ccaaaaaact tgattagggt gatggttggc	5340
ctgtagtggg ccatagccct gatagacggt ttttcgccct ttgacgttgg agtccacgtt	5400
ctttaatagt ggactcttgt tccaaactgg aacaacactc aacctatct cgggtctattc	5460
ttttgattta taagggtatt tgccgatttc ggcctattgg ttaaaaaatg agctgattta	5520

acaaaaattt aacgcgaatt ttaacaaaat attaacgctt acaatttagg tggcactttt	5580
cggggaaatg tgcgcggaac ccctatttgi ttatttttct aaatacattc aaatatgtat	5640
ccgctcatga gacaataacc ctgataaatg cttcaataat attgaaaaag gaagagtatg	5700
agtattcaac atttccgtgt cgcccttatt cccttttttg cggcattttg ccttcctgtt	5760
tttgctcacc cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga	5820
gtgggttaca tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa	5880
gaacgttttc caatgatgag cactttttaa gtctctgtat gtggcgcggt attatcccgt	5940
attgacgccg ggcaagagca actcggtcgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt	6000
gagtactcac cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc	6060
agtgtgccca taacatgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga	6120
ggaccgaagg agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat	6180
cgttgggaac cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct	6240
gtagcaatgg caacaacgtt gcgcaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc	6300
cggcaacaat taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg	6360
gcccttccgg ctggctggtt tattgtgat aaatctggag ccggtgagcg tggttctcgc	6420
ggatatcattg cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg	6480
acggggagtc aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca	6540
ctgattaagc attggttaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta	6600
aaacttcatt tttaatftaa aaggatctag gtgaagatcc ttttgataa tctcatgacc	6660
aaaatccctt aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa	6720
ggatcttctt gagatccttt ttttctgcgc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaaacca	6780
ccgctaccag cgggtggttg ttgcccgat caagagctac caactctttt tccgaaggta	6840
actggcttca gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagttagacc gtagttaggc	6900
caccacttca agaactctgt agcaccgctt acatacctcg ctctgctaat cctgttacca	6960
gtggctgctg ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta	7020
ccggataagg cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttggag	7080
cgaacgacct acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt	7140
cccgaaggga gaaaggcgga caggatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc	7200
acgagggagc ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac	7260
ctctgacttg agcgtcgatt ttgtgatgc tcgtcagggg ggccgagcct atggaaaaac	7320
gccagcaacg cggccttttt acggttcctg gccttttctt ggccttttgc tcacatggtc	7380

tttctctgct taicccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat	7440
accgctcgcc gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggagagc	7500
gcccataacg caaacgcct cccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctggcacg	7560
acaggtttcc cgactggaaa gcgggcagtg agcgcaacgc aattaatgtg agttagctca	7620
ctcattagge accccagget ttacacttta tgcttccggc tcgtatgttg tgtggaattg	7680
tgagcggata acaatttcac acaggaaaca gctatgacca tgattacgcc aagcgcgtca	7740
attaaccctc actaaaggga acaaaagctg ttaattaa	7778
<210> 66	
<211> 8177	
<212> DNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><223> Matrice CD25 locus_IL12a_2A_IL12b pCLS30520 full sequence	
<400> 66	
gtttattatt cctgttccac agctattgtc tgccatataa aaacttaggc caggcacagt	60
ggctcacacc tgtaatccca gcactttgga aggccgaggc aggcagatca caaggtcagg	120
agttcgagac cagcctggcc aacatagcaa aaccccatct ctactaaaaa tacaaaaatt	180
agccaggcat ggtggcgtgt gcactggttt agagttagga ccacattttt ttggtgccgt	240
gttacacata tgaccgtgac ttgtttacac cactacagga ggaagagtag aagaacaatc	300
ggttctggcg tgaacagac ttggaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag	360
tccaaccag ggcccatgtg gccccctggg tcagcctccc agccaccgcc ctcacctgcc	420
gcggccacag gtctgcatcc agcggtcgc cctgtgtccc tgcaagtccg gctcagcatg	480
tgteccagcg gcagcctcct ccttgtggct accctggtcc tcttggaaca cctcagtttg	540
gccagaaacc tccccgtggc cactccagac ccaggaatgt tccatgcct tcaccactcc	600
caaaacctgc tgagggccgt cagcaaatg ctccagaagg ccagacaaac tctagaattt	660
tacccttgca ctctgaaga gattgatcat gaagatatca caaaagataa aaccagcaca	720
gtggaggcct gtttaccatt ggaattaacc aagaatgaga gttgcctaaa ttccagagag	780
acctctttca taactaatgg gagttgcctg gcctccagaa agacctcttt tatgatggcc	840
ctgtgcctta gtagtattta tgaagacttg aagatgtacc aggtggagtt caagaccatg	900
aatgcaaage ttctgatgga tcctaagagg cagatctttc tagatcaaaa catgctggca	960
gttattgatg agctgatgca ggccctgaat ttcaacagtg agactgtgcc acaaaaaatcc	1020
tcccttgaag aaccggattt ttataaaact aaaatcaagc tctgcatact tcttcatgct	1080

ttcagaattc gggcagtgac tattgataga gtgatgagct atctgaatgc ttccggaagc	1140
ggagctacta acttcagcct gctgaagcag gctggagacg tggaggagaa ccctggacct	1200
atgtgtcacc agcagttggt catctcttgg ttttccctgg ttttcttggc atctccctc	1260
gtggccatat gggaactgaa gaaagatgtt tatgtcgtag aattggattg gtatccggat	1320
gccccggag aaatggtggt cctcacctgt gacacccctg aagaagatgg tatcacctgg	1380
accttggacc agagcagtga ggtcttaggc tctggcaaaa ccctgacat ccaagtcaaa	1440
gagtttggag atgctggcca gtacacctgt cacaaggag gcgaggttct aagccattcg	1500
ctctgctgc ttcacaaaaa ggaagatgga atttggcca ctgatattt aaaggaccag	1560
aaagaacca aaaataagac ctttctaaga tgcgaggcca agaattattc tggacgttc	1620
acctgctggt ggctgacgac aatcagtact gatttgacat tcagtgtaa aagcagcaga	1680
ggctcttctg accccaagg ggtgacgtgc ggagctgcta cactctctgc agagagagtc	1740
agaggggaca acaaggagta tgagtactca gtggagtgc aggaggacag tgcctgcccc	1800
gctgctgagg agagtctgcc cattgaggtc atggtggatg ccgttcaca gctcaagtat	1860
gaaaactaca ccagcagctt ctctcatcagg gacatcatca aacctgaccc acccaagaac	1920
ttgcagctga agccattaaa gaattctcgg caggtggagg tcagctggga gtacctgac	1980
acctggagta ctccacattc ctacttctcc ctgacattct gcgttcaggt ccagggaag	2040
agcaagagag aaaagaaaga tagagtcttc acggacaaga cctcagccac ggtcatctgc	2100
cgcaaaaatg ccagcattag cgtgcgggcc caggaccgt actatagctc atcttggagc	2160
gaatgggcat ctgtgccctg cagtgagggc agaggcagcc tgctgacctg cggcgacgtc	2220
gaggagaacc ccgggcccat gggggcaggt gccaccggcc gcgccatgga cgggccgcgc	2280
ctgctgctgt tgctgttct gggggtgtcc ctggagggtg ccaaggagc atgccccaca	2340
ggcctgtaca cacacagcgg tgagtctgc aaagcctgca acctgggcga ggggtgtggc	2400
cagccttgtg gagccaacca gaccgtgtgt gagccctgcc tggacagcgt gacgttctcc	2460
gacgtggtga gcgcgaccga gccgtgcaag ccgtgcaccg agtgcgtggg gctccagagc	2520
atgtcggcgc cgtgcgtgga ggccgatgac gccgtgtgcc gctgcgccta cggctactac	2580
caggatgaga cactgggcg ctgcgaggcg tgccgctgt gcgaggcggg ctgggcctc	2640
gtgttctct gccaggaca gcagaacacc gtgtgcgagg agtccccga cggcacgtat	2700
tccgacgagg ccaaccagt ggaccctgc ctgccctgca ccgtgtgcga ggacaccgag	2760
cgccagctcc gcgagtgcac acgtgggcc gacgccgagt gcgaggagat ccctggccgt	2820

tggattacac ggiccacacc cccagagggc tcggacagca cagccccag caccagagag	2880
cctgaggcac ctccagaaca agacctcata gccagcacgg tggcaggtgt ggtgaccaca	2940
gtgatgggca gctcccagcc cgtggtgacc cgaggcacca ccgacaacct catccctgtc	3000
tattgtccca tcttggctgc tgtggttgtg ggtcttgtgg cctacatagc cttcaagagg	3060
tgaaaaacca aaagaacaag aatttcttgg taagaagccg ggaacagaca acagaagtca	3120
tgaagcccaa gtgaaatcaa aggtgctaaa tggtcgcca ggagacatcc gttgtgcttg	3180
cctgcgtttt ggaagctctg aagtcacatc acaggacacg gggcagtggc aaccttgtct	3240
ctatgccagc tcagtcccat cagagagcga gcgctacca cttctaaata gcaatttcgc	3300
cgttgaagag gaagggcaaa accactagaa ctctccatct tatittcatg tatatgtgtt	3360
catgcgatcg ctccggtgcc cgtcagtggg cagagcgcac atcgcccaca gtccccgaga	3420
agttgggggg aggggtcggc aattgaacgg gtgcctagag aagtgggcg ggggtaact	3480
gggaaagtga tgtcgtgtac tggctccgcc tttttccga ggggtgggga gaaccgtata	3540
taagtgcagt agtcgccgtg aacgttcttt ttcgcaacgg gtttccgcc agaacacagc	3600
tgaagcttcg aggggctcgc atctctctt cagcgcccg ccgcctacc tgaggccgcc	3660
atccacgccg gttgagtcgc gttctgccgc ctcccgctg tggtcctcc tgaactcgt	3720
ccgccgtcta ggtaagttta aagctcaggt cgagaccggg cctttgtccg gcgtccctt	3780
ggagcctacc tagactcagc cggtctcca cgtttgcct gacctgctt gctcaactct	3840
acgtctttgt ttcgttttct gttctgcgcc gttacagatc caagtgtga ccggcgcta	3900
cctgagatca ccggcgccac catggcttct taccctggac accagcatgc ttctgccttt	3960
gaccaggctg ccagatccag gggccactcc aacaggagaa ctgccctaag acccagaaga	4020
cagcaggaag cactgaggt gaggcctgag cagaagatgc caacctgct gaggggttac	4080
attgatggac ctcatggcat gggcaagacc accaccactc aactgctggt ggcactgggc	4140
tccagggatg acatttgtta tgtgcctgag ccaatgacct actggagagt gctaggagcc	4200
tctgagacca ttgccaacat ctacaccacc cagcacaggc tggaccaggg agaaatctct	4260
gctggagatg ctgctgtggt gatgacctct gccagatca caatgggaat gccctatgct	4320
gtgactgatg ctgttctggc tctcacatt ggaggagagg ctggctcttc tcatgccct	4380
ccactgccc tgacctgat ctttgacaga cacccttg cagccctgct gtgtacca	4440
gcagcaaggt acctcatggg ctccatgacc ccacaggctg tgctgcttt tgtggcctg	4500
atccctcaa cctccctgg caccaacatt gttctgggag cactgcctga agacagacac	4560
attgacaggc tggcaaagag gcagagacct ggagagagac tggacctggc catgctggct	4620
gcaatcagaa ggggtgatgg actgctggca aacactgtga gatactcca gtgtggaggc	4680

tcttggagag aggactgggg acagctctct ggaacagcag tgcccccctca aggagctgag	4740
ccccagtcca atgctggtcc aagacccac attggggaca cctgttcac cctgttcaga	4800
gcccctgagc tgctggctcc caatggagac ctgtacaatg tgtttgcctg ggctctggat	4860
gttctagcca agaggctgag gtccatgcat gtgttcatcc tggactatga ccagtcccct	4920
gctggatgca gagatgctct gctgcaacta acctctggca tgggtcagac ccatgtgacc	4980
acccctggca gcatccccac catctgtgac ctagccagaa cctttgccag ggagatggga	5040
gaggccaact aaggcgcgcc actcgagcgc tagctggcca gacatgataa gatacattga	5100
tgagtttggg caaaccacaa ctagaatgca gtgaaaaaaa tgctttatct gtgaaatttg	5160
tgatgtctatt gcctttattg taaccattat aagctgcaat aaacaagtta acaacaacaa	5220
ttgcattcat tttatgttcc aggttcaggg ggagggtgtgg gaggtttttt aaagcaagta	5280
aaacctctac aaatgtggta tggaggcgc gcccaattcg ccctatagt agtcgtatta	5340
cgtcgcgctc actggccgctc gttttacaac gtcgtgactg ggaaaaccct ggcgttacct	5400
aacttaatcg ccttgcagca catccccctt tcgccagctg gcgtaatagc gaagaggccc	5460
gcaccgaaac gcccttccca acagttgcgc agcctgaatg gcgaatggga ggcacctgta	5520
gcggcgcat aagcgcggcg ggtgtggtgg ttacgcgcag cgtgaccgct acacttgcca	5580
gcgcctagc gcccgctcct ttcgctttct tcccttcctt tctcgccacg ttcgccggt	5640
ttcccgctca agctctaaat cgggggctcc ctttaggggt ccgatttagt gctttacggc	5700
acctcgacc caaaaaactt gattaggggt atggttggcc tgtagtgggc catagccctg	5760
atagacggtt tttgccctt tgacgttggg gtccacgttc tttaatagt gactcttgtt	5820
ccaaactgga acaacactca accctatctc ggtctattct tttgatttat aagggtttt	5880
gccgatttcg gcctattggt taaaaaatga gctgatttaa caaaaattta acgcaattt	5940
taacaaaata ttaacgctta caatttaggt ggcacttttc ggggaaatgt gcgcggaacc	6000
cctatttgtt tatttttcta aatacttca aatatgtatc cgctcatgag acaataacct	6060
tgataaatgc ttcaataata ttgaaaaagg aagagtatga gtattcaaca tttccgtgtc	6120
gcccttattc ctttttttgc ggcattttgc cttctgttt ttgtcaccc agaaacgctg	6180
gigaaagtaa aagatgctga agatcagttg ggtgcacgag tgggttacat cgaactggat	6240
ctcaacacgc gtaagatcct tgagagtgtt cgcgccgaag aacgttttcc aatgatgagc	6300
acttttaag ttctgctatg tggcgcggtt ttatccgta ttgacgccg gcaagagcaa	6360
ctcggtcgcc gcatacacta ttctcagaat gacttggttg agtactcacc agtcacagaa	6420
aagcatctta cggatggcat gacagtaaga gaattatgca gtgctgcat aacctagagt	6480
gataaactg cggccaactt acttctgaca acgatcggag gaccgaagga gctaaccgct	6540

ttttgcaca acatggggga tcatgtaact cgccttgatc gttgggaacc ggagctgaat	6600
gaagccatac caaacgacga gcgtgacacc acgatgcctg tagcaatggc aacaacgttg	6660
cgcaaaactat taactggcga actacttact ctagcttccc ggcaacaatt aatagactgg	6720
atggaggcgg ataaagtgc aggaccactt ctgcgctcgg cccttccggc tggctggttt	6780
attgctgata aatctggagc cggtagcgt ggttctcgcg gtatcattgc agcactgggg	6840
ccagatggta agccctcccg tatcgtagt tcttacacga cggggagtca ggcaactatg	6900
gatgaacgaa atagacagat cgctgagata ggtgcctcac tgattaagca ttggtaactg	6960
tcagaccaag ttactcata tatacttttag attgatttaa aacttcattt ttaatttaaa	7020
aggatctagg tgaagatcct ttttgataat ctcatgacca aaatccctta acgtgagttt	7080
tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag gatcttcttg agatcctttt	7140
tttctgcgcg taatctgctg cttgcaaaaca aaaaaaccac cgctaccagc ggtggtttgt	7200
ttgccggatc aagagctacc aactcttttt ccgaaggtaa ctggcttcag cagagcgag	7260
ataccaaata ctgttcttct agtgtagccg tagttaggcc accacttcaa gaactctgta	7320
gcaccgccta catacctcgc tctgctaata ctgttaccag tggtctgtgc cagtggcgat	7380
aagtcgtgtc ttaccgggtt ggactcaaga cgatagtac cggataaggc gcagcggtcg	7440
ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttgagc gaacgacctt caccgaactg	7500
agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc ccgaaggag aaaggcggac	7560
aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaca ggagagcgca cgaggagct tccaggggga	7620
aacgcctggt atctttatag tctgtcggg tttcgccacc tctgacttga gcgtcgattt	7680
ttgtgatgct cgtcaggggg gcggagccta tggaaaaacg ccagcaacgc ggccttttta	7740
cggttcctgg ccttttgctg gccttttgct cacatggtct ttcctgcgtt atccctgat	7800
tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata ccgtcgcgcg cagccgaacg	7860
accgagcgca gcgagtcagt gagcgaggaa gcggagagcg cccaatacgc aaaccgcctc	7920
tccccgcgcg ttggccgatt cattaatgca gctggcacga caggtttccc gactggaaag	7980
cgggcagtga gcgcaacgca attaattgta gttagctcac tcattaggca cccaggctt	8040
tacactttat gcttccggct cgtatgttgt gtggaattgt gagcgataa caatttcaca	8100
caggaaacag ctatgaccat gattacgcca agcgcgtcaa ttaacctca ctaaagggaa	8160
caaaagctgt taattaa	8177
<210> 67	
<211> 6349	

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Matrice PD1 locus_IL12a_2A_IL12b pCLS30511 full sequence

<400> 67

tcgcgcgttt cggatgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctcccg gagacgggtca	60
cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg tcaggcgcg tcagcgggtg	120
ttggcgggtg tcggggctgg cttaactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc	180
accatatgcg gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc atcaggcgcc	240
attcgccatt caggctgcgc aactgttggg aaggcgatc ggtgcgggcc tcttcgtat	300
tacgccagct ggcgaaaggg ggatgtgctg caaggcgatt aagtgggta acgccagggt	360
tttccagtc acgagttgt aaaacgacgg ccagtgaatt cgagctcgtt acctcgcga	420
tgcattaga tgactccca gacaggccct ggaaccccc caccttctcc ccagccctgc	480
tcgtggtgac cgaaggggac aacgccacct tcacctgcag cttctccaac acatcggaga	540
gcttcgtgct aaactggtag cgcatgagcc ccagcaacca gacggacaag ctggccgcct	600
tccccagga ccgcagccag cccggccagg actgccgtt ccgtgtcaca caactgccc	660
acgggcgtga ctccacatg agcgtggtca gggcccgcg caatgacagc ggcacctacc	720
tctgtggggc cggttctggc gtgaaacaga ctttgaattt tgaccttctc aagtggcgg	780
gagacgtgga gtccaacca gggcccatgt gggccctgg gtcagcctcc cagccaccgc	840
cctcacctgc cgcggccaca ggtctgcac cagcggctcg cctgtgtcc ctgcagtgcc	900
ggctcagcat gtgtccagcg cgcagcctcc tccttgtggc taccttggtc ctctggacc	960
acctcagttt ggccagaac cttccctggt ccactccaga ccaggaatg ttcccatgcc	1020
ttcaccactc caaaacctg ctgaggcgcg tcagcaacat gctccagaag gccagacaaa	1080
ctctagaatt ttaccttgc acttctgaag agattgatca tgaagatatc aaaaagata	1140
aaaccagcac agtggaggcc tgtttacat tggaattaac caagaatgag agttgcctaa	1200
attccagaga gacctcttc ataactaatg ggagttgcct ggcctccaga aagacctctt	1260
ttatgatggc cctgtgcctt agtagtattt atgaagactt gaagatgtac caggtggagt	1320
tcaagaccat gaatgcaaag cttctgatgg atcctaagag gcagatcttt ctatgacaaa	1380
acatgctggc agttattgat gagctgatgc aggcctgaa tttcaacagt gagactgtgc	1440
cacaaaaatc ctcccttgaa gaaccggatt ttataaaac taaaatcaag ctctgcatac	1500

ttcttcatgc tttcagaatt cgggcagtga ctattgatag agtgatgagc tatctgaatg	1560
cttccggaag cggagctact aacttcagcc tgctgaagca ggctggagac gtggaggaga	1620
accctggacc tatgtgtcac cagcagttgg tcatctcttg gttttccctg gtttttctgg	1680
catctccctt cgtggccata tgggaactga agaaagatgt ttatgtcgta gaattggatt	1740
ggtatccgga tgcccttgga gaaatggtgg tcctcacctg tgacaccct gaagaagatg	1800
gtatcacctg gaccttggac cagagcagtg aggtcttagg ctctggcaaa accctgacca	1860
tccaagtcaa agagtttggga gatgctggcc agtacacctg tcacaaagga ggcgaggttc	1920
taagccattc gtcctgctg cttcacaaaa aggaagatgg aatttgggcc actgatattt	1980
taaaggacca gaaagaacct aaaaataaga cttttctaag atgcgaggcc aagaattatt	2040
ctggacgttt cacctgctgg tggctgacga caatcagtac tgatttgaca ttcagtgtca	2100
aaagcagcag aggtcttctt gacccccaag gggtagctg cggagctgct acactctctg	2160
cagagagagt cagaggggac aacaaggagt atgagtactc agtggagtgc caggaggaca	2220
gtgcctgccc agctgctgag gagagtctgc ccattgaggt catggtggat gccgttcaca	2280
agctcaagta tgaaaactac accagcagct tcttcacag ggacatcacc aaacctgacc	2340
caccaagaa ctgacagctg aagccattaa agaattctcg gcaggtggag gtcagctggg	2400
agtacctga cacctggagt actccacatt cctactctc cctgacattc tgcgttcagg	2460
tccagggcaa gagcaagaga gaaaagaaag atagagctt cacggacaag acctcagcca	2520
cggatcatctg ccgcaaaaa gccagcatta gcgtgcgggc ccaggaccgc tactatagct	2580
catcttggag cgaatgggca tctgtgccct gcagtgaggg cagaggcagc ctgctgacct	2640
gcggcgacgt cgaggagaac cccgggcccc tgggggcagg tgccaccggc cgcgccatgg	2700
acgggcccgc cctgctgctg ttgctgcttc tgggggtgtc ccttggaggt gccaaaggagg	2760
catgccccac aggcctgtac acacacagcg gtgagtctg caaagcctgc aacctgggcg	2820
agggtgtggc ccagccttgt ggagccaacc agaccgtgtg tgagccctgc ctggacagcg	2880
tgacgttctc cgacgtggtg agcgcgaccg agccgtgcaa gccgtgcacc gagtgcgtgg	2940
ggctccagag catgtcggcg ccgtgctgtg aggccgatga cgccgtgtgc cgctgcgcct	3000
acggctacta ccaggatgag acgactgggc gctgcgaggc gtgccgcgtg tgcgaggcgg	3060
gctcgggctt cgtgttctcc tgccaggaca agcagaacac cgtgtgcgag gagtgtcccc	3120
acggcacgta ttccgacgag gccaaaccacg tggaccctg cctgccctgc accgtgtgcg	3180
aggacaccga gcgccagctc cgcgagtga cagctgggc cgacgccgag tgcgaggaga	3240

tccctggccg ttggattaca cggtcacac cccagaggg ctcggacagc acagcccca	3300
gcaccaggga gcctgaggca cctccagaac aagacctcat agccagcacg gtggcaggtg	3360
tggtgaccac agtgatgggc agctcccagc ccgtggtgac ccgaggcacc accgacaacc	3420
tcatccctgt ctattgtccc atccctggctg ctgtggttgt gggctctgtg gcctacatag	3480
ccttcaagag gtgatctaga gggcccgttt aaacccctg atcagcctcg actgtgcctt	3540
ctagtgtcca gccatctgtt gtttccccct cccccgtgc ttccttgacc ctggaaggtg	3600
ccactccac tgcctttcc taataaaatg aggaaattgc atcgattgt ctgagtaggt	3660
gtcattctat tctggggggt ggggtgggac aggacagcaa gggggaggat tgggaagaca	3720
atagcaggca tgctggggat gcggtgggct ctatgactag tggcgaattc ggccgagatc	3780
aaagagagcc tgcgggcaga gctcaggggt acaggtgcgg cctcggaggc cccggggcag	3840
gggtgagctg agccggtcct ggggtgggtg tccccctctg cacaggatca ggagctccag	3900
ggctgtaggg cagggacccc ccagctccag tccagggtc tgtcctgcac ctggggaatg	3960
gtgaccggca tctctgtcct ctactctgg aagcaccaca gcccctctag tctgccctca	4020
ccccgaccc tgacctcca cctgacccc gtccctaacc ctgacctttg atcggtatcc	4080
gggcccgtcg actgcagagg cctgcatgca agcttggcgt aatcatggtc atagctgttt	4140
cctgtgtgaa attgttatcc gtcacaatt ccacacaaca tacgagccgg aagcataaag	4200
tgtaaagcct ggggtgccta atgagtgagc taactcacat taattgcgtt gcgctcactg	4260
cccgtttcc agtcgggaaa cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg	4320
gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct tccgttccct cgctcactga ctcgctgcgc	4380
tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca gtcactcaa aggcggtaat acggttatcc	4440
acagaatcag gggataacgc aggaagaac atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg	4500
aaccgtaaaa agccgcggtt gctggcggtt ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat	4560
cacaaaaatc gacgtcaag tcagaggtgg cgaaaccga caggactata aagataccag	4620
gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcgc tctctgttc cgacctgcc gcttaccgga	4680
tacctgtccg cttttctccc ttccggaagc gtggcgcttt ctcatagctc acgctgtagg	4740
tatctcagtt cgggtgtaggt cgttcgtcc aagctgggct gtgtgcacga acccccgtt	4800
cagcccgacc gctgcgcctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaacc ggtaagacac	4860
gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc	4920
ggtgctacag agttcttgaa gtgggtggcct aactacggct aactagaag aacagtattt	4980
ggtatctcgc ctctctgaa gccagttacc ttccgaaaaa gagttgtag ctcttgatcc	5040
ggcaaacaaa ccaccgtgg tagcgtgtgt tttttgttt gcaagcagca gattacgcgc	5100

agaaaaaag gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg	5160
aacgaaaact cacgttaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag	5220
atccttttaa attaaaaatg aagttttaaa tcaatctaaa gtatatatga gtaaaacttg	5280
tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt	5340
tcatccatag ttgcctgact ccccgctctg tagataacta cgatacggga gggtttacca	5400
tctggcccca gtgctgcaat gataccgga gaccacgct caccggctcc agatttatca	5460
gcaataaacc agccagccgg aagggccgag cgcagaagtg gtcctgcaac ttatccgcc	5520
tccatccagt ctattaatg ttgccgggaa gctagagtaa gtagttcgcc agttaatagt	5580
ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc atcgtggtgt cacgctcgtc gtttggtatg	5640
gcttcattca gtcccggtc ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc catgttgtgc	5700
aaaaaagcgg ttagctcctt cggctctccg atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg	5760
ttatcactca tggttatggc agcactgcat aattctctta ctgtcatgcc atccgtaaga	5820
tgcttttctg tgactgggta gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg tatgcggcga	5880
ccgagttgct cttgcccggc gtcaatacgg gataataccg cgccacatag cagaacttta	5940
aaagtgtca tcatgggaaa acgttcttcg gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg	6000
ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt gcaccaact gatcttcagc atcttttact	6060
ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata	6120
agggcgacac ggaaatgttg aatactcata ctcttccttt ttcaatatta ttgaagcatt	6180
tatcagggtt attgtctcat gagcggatac atatttgaat gtatttagaa aaataaaca	6240
ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga aaccattatt	6300
atcatgacat taacctataa aaataggcgt atcacaggc cctttcgtc	6349