



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2023-0150834
(43) 공개일자 2023년10월31일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C07K 14/47 (2006.01) A61K 39/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01) C07K 14/725 (2006.01)
C12N 15/67 (2006.01) C12N 15/86 (2006.01)
C12N 5/078 (2010.01)
- (52) CPC특허분류
C07K 14/4702 (2013.01)
A61K 39/461 (2023.05)
- (21) 출원번호 10-2023-7032290
- (22) 출원일자(국제) 2022년02월24일
심사청구일자 없음
- (85) 번역문제출일자 2023년09월20일
- (86) 국제출원번호 PCT/US2022/017733
- (87) 국제공개번호 WO 2022/182890
국제공개일자 2022년09월01일
- (30) 우선권주장
63/153,879 2021년02월25일 미국(US)
(뒷면에 계속)

- (71) 출원인
라이엘 이뮤노파마, 인크.
미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 헤스킨스 웨이 201
- (72) 발명자
박, 스펜서
미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 헤스킨스 웨이 201 라이엘 이뮤노파마, 인크. 내
봉, 쿼니
미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 헤스킨스 웨이 201 라이엘 이뮤노파마, 인크. 내
(뒷면에 계속)
- (74) 대리인
양영준, 이상남

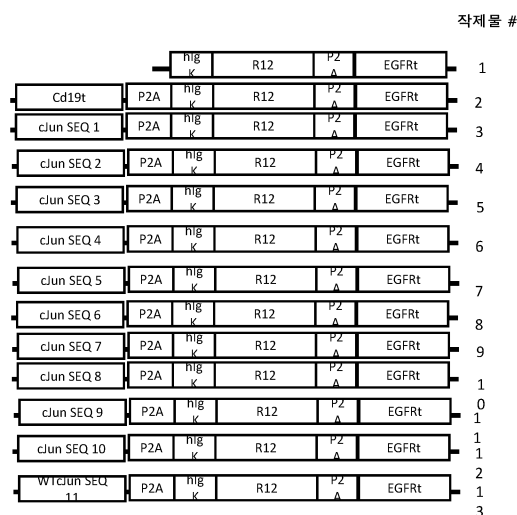
전체 청구항 수 : 총 73 항

(54) 발명의 명칭 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 코돈-최적화된 뉴클레오타이드 서열

(57) 요약

AP-1 전사 인자를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열 (즉, c-Jun)을 포함하는 폴리뉴클레오타이드가 본원에 개시된다. 일부 양태에서, 뉴클레오타이드 서열은 코돈-최적화된다. 일부 양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 링커, 신호 펩티드, 항원-결합 도메인, 스페이서, 막횡단 도메인, 공동자극 도메인, 세포내 신호전달 도메인, 절단된 EGFR, 및 이들의 조합을 인코딩하는 하나 이상의 추가의 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 또한, 이러한 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 세포, 벡터, 및 제약 조성물이 본원에 개시된다. 질환 또는 장애 (예를 들어, 암)를 치료하기 위한 이러한 폴리뉴클레오타이드, 세포, 벡터, 및 제약 조성물의 용도가 또한 제공된다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

A61K 39/4631 (2023.05)
A61P 35/00 (2018.01)
C07K 14/7051 (2013.01)
C12N 15/67 (2013.01)
C12N 15/86 (2013.01)
C12N 5/0634 (2023.05)
C07K 2319/02 (2013.01)
C07K 2319/03 (2013.01)
C07K 2319/70 (2013.01)

(72) 발명자

새더, 블라이드

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 해스
 킨스 웨이 201 라이엘 이뮤노파마, 인크. 내

류, 병

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 해스
 킨스 웨이 201 라이엘 이뮤노파마, 인크. 내

라주아, 마르크

미국 94080 캘리포니아 사우쓰 샌프란시스코 해스
 킨스 웨이 201 라이엘 이뮤노파마, 인크. 내

(30) 우선권주장

63/263,231 2021년10월28일 미국(US)
 63/309,380 2022년02월11일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

폴리뉴클레오티드로서,

- a. 서열 번호: 1에 기재된 핵산 서열과 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열;
- b. 서열 번호: 2에 기재된 핵산 서열과 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열;
- c. 서열 번호: 4에 기재된 핵산 서열과 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열;
- d. 서열 번호: 5에 기재된 핵산 서열과 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열;
- e. 서열 번호: 6에 기재된 핵산 서열과 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열;
- f. 서열 번호: 7에 기재된 핵산 서열과 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열;
- g. 서열 번호: 8에 기재된 핵산 서열과 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열;
- h. 서열 번호: 9에 기재된 핵산 서열과 적어도 55%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열; 또는
- i. 서열 번호: 10에 기재된 핵산 서열과 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며;

여기서 뉴클레오티드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는, 폴리뉴클레오티드.

청구항 2

서열 번호: 1에 기재된 핵산 서열과 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오티드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 3

제2항에 있어서, 뉴클레오티드 서열이 서열 번호: 1에 기재된 핵산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 4

서열 번호: 2에 기재된 핵산 서열과 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오티드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 5

제4항에 있어서, 뉴클레오티드 서열이 서열 번호: 2에 기재된 핵산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 6

서열 번호: 4에 기재된 핵산 서열과 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오티드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 7

제6항에 있어서, 뉴클레오티드 서열이 서열 번호: 4에 기재된 핵산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 8

서열 번호: 5에 기재된 핵산 서열과 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 여기서 뉴클레오티드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 9

제8항에 있어서, 뉴클레오티드 서열이 서열 번호: 5에 기재된 핵산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 10

서열 번호: 6에 기재된 핵산 서열과 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오티드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 11

제10항에 있어서, 뉴클레오티드 서열이 서열 번호: 6에 기재된 핵산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 12

서열 번호: 7에 기재된 핵산 서열과 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오티드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 13

제12항에 있어서, 뉴클레오티드 서열이 서열 번호: 7에 기재된 핵산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 14

서열 번호: 8에 기재된 핵산 서열과 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오티드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 15

제14항에 있어서, 뉴클레오티드 서열이 서열 번호: 8에 기재된 핵산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 16

서열 번호: 9에 기재된 핵산 서열과 적어도 55%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오

티드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 17

제16항에 있어서, 뉴클레오티드 서열이 서열 번호: 9에 기재된 핵산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 18

서열 번호: 10에 기재된 핵산 서열과 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 여기서 뉴클레오티드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 19

제18항에 있어서, 뉴클레오티드 서열이 서열 번호: 10에 기재된 핵산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 20

제1항 내지 제19항 중 어느 한 항에 있어서, AP-1 전사 인자가 서열 번호: 9에 기재된 서열과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 21

제1항 내지 제20항 중 어느 한 항에 있어서, 리간드 결합 단백질을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 추가로 포함하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 22

제21항에 있어서, 리간드 결합 단백질이 키메라 항원 수용체 (CAR), T 세포 수용체 (TCR), 키메라 항원-T 세포 수용체 (caTCR), 키메라 신호전달 수용체 (CSR), T 세포 수용체 모방체 (TCR 모방체), 또는 이들의 조합을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 23

제22항에 있어서, CAR이 표준 CAR, 분할 CAR, 오프-스위치 CAR, 온-스위치 CAR, 1세대 CAR, 2세대 CAR, 3세대 CAR, 또는 4세대 CAR로서 설계된 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 24

제21항 내지 제23항 중 어느 한 항에 있어서, 리간드 결합 단백질이 항원-결합 도메인, 막횡단 도메인, 공동자극 도메인, 및/또는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 25

제24항에 있어서, 항원-결합 도메인이 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 항원에 특이적으로 결합하는 것인, 폴리뉴클레오티드: AFP (알파-태아단백질), $\alpha v \beta 6$ 또는 또 다른 인테그린, BCMA, Braf, B7-H3, B7-H6, CA9 (탄산 탈수효소 9), CCL-1 (C-C 모티프 케모카인 리간드 1), CD5, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD40, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD45, CD47, CD56, CD66e, CD70, CD74, CD79a, CD79b, CD98, CD123, CD138, CD171, CD352, CEA (암배아 항원), 클라우딘 18.2, 클라우딘 6, c-MET, DLL3 (델타-유사 단백질 3), DLL4, ENPP3 (엑토뉴클레오티드 피로포스파타제/포스포디에스테라제 패밀리를 구성원 3), EpCAM, EPG-2 (상피 당단백질 2), EPG-40, 에프린B2, EPHA2 (에프린 수용체 A2), ERBB 이량체, 에스트로겐 수용체, ETBR (엔도텔린 B 수용체), FAP- α (섬유아세포 활성화 단백질 α), 태아 AchR (태아 아세틸콜린 수용체), FBP (플레이트 결합 단백질), FCRL5, FR- α (플레이트 수용체 알파), GCC (구아닐 시클라제 C), GD2, GD3, GPC2 (글리피칸-2), GPC3, gp100 (당단백질 100), GPNMB (당단백질 NMB), GPRC5D (G 단백질 커플링된 수용체 5D), HER2, HER3, HER4, B형 간염 표면 항원, HLA-A1 (인간 백혈구 항원 A1), HLA-A2 (인간 백혈구 항원 A2), HMW-MAA (인간 고분자량-흑색종-관련 항원), IGF1R (인슐린-유사 성장 인자 1 수용체), Ig 카파, Ig 람다, IL-22Ra (IL-22 수용체 알파), IL-13Ra2 (IL-13 수용체 알파 2), KDR (키나제 삽입 도메인 수용체), LI 세포 부착 분자 (LI-CAM),

Liv-1, LRRC8A (8개의 패밀리 구성원 A를 함유하는 류신 풍부 반복), 루이스 Y, 흑색종-관련 항원 (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, MART-1 (멜란 A), 무린 사이토메갈로바이러스 (MCMV), MCSP (흑색종-관련 콘드로이틴 술페이트 프로테오글리칸), 메소텔린, 뮤신 1 (MUC1), MUC16, MHC/펩티드 복합체 (예를 들어, AFP, KRAS, HPV, NY-ESO, MAGE-A, 및 WT1로부터 유래된 펩티드와 복합체화된 HLA-A), NCAM (신경 세포 부착 분자), 넥틴-4, NKG2D (자연 킬러 그룹 2 구성원 D) 리간드, NY-ESO, 종양태아 항원, PD-1, PD-L1, PRAME (흑색종의 우선 발현 항원), 프로게스테론 수용체, PSA (전립선 특이적 항원), PSCA (전립선 줄기 세포 항원), PSMA (전립선 특이적 막 항원), ROR1, ROR2, SIRP α (신호-조절 단백질 알파), SLIT, SLITRK6 (NTRK-유사 단백질 6), STEAP1 (전립선 1의 6개 막횡단 상피 항원), 서바이빈, TAG72 (종양-관련 당단백질 72), TPBG (영양막 당단백질), Trop-2, VEGFR1 (혈관 내피 성장 인자 수용체 1), VEGFR2, 및 HIV, HBV, HCV, 및 기타 병원체로부터의 항원, 및 이들의 임의의 조합.

청구항 26

제25항에 있어서, 항원-결합 도메인이 ROR1에 특이적으로 결합하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 27

제25항에 있어서, 항원-결합 도메인이 GPC2에 특이적으로 결합하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 28

제24항 내지 제27항 중 어느 한 항에 있어서, 공동자극 도메인이 인터류킨-2 수용체 (IL-2R), 인터류킨-12 수용체 (IL-12R), IL-7, IL-21, IL-23, IL-15, CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD27, CD28, CD30, CD40, 4-1BB/CD137, ICOS, 림프구 기능-관련 항원-1 (LFA-1), LIGHT, NKG2C, OX40, DAP10, 또는 이들의 임의의 조합을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 29

제28항에 있어서, 공동자극 도메인이 4-1BB/CD137 공동자극 도메인을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 30

제24항 내지 제29항 중 어느 한 항에 있어서, 막횡단 도메인은 KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, NKp80 (KLRP1), NKp44, NKp30, NKp46, CD160, CD19, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R α , ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (택타일), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKG2D, NKG2C, CD19, 또는 이들의 임의의 조합의 막횡단 도메인 영역을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 31

제24항 내지 제30항 중 어느 한 항에 있어서, 막횡단 도메인이 CD28 막횡단 도메인을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 32

제24항 내지 제31항 중 어느 한 항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인이 CD3 제타, FcR 감마, 공통 FcR 감마 (FCER1G), Fc 감마 RIIa, FcR 베타 (Fc 엡실론 림프), CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD22, CD79a, CD79b, CD278 ("ICOS"), Fc ϵ RI, CD66d, CD32, DAP10, DAP12, 또는 이들의 임의의 조합으로부터 유래된 세포내 신호전달 도메인 영역을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 33

제32항에 있어서, 세포내 신호전달 도메인이 CD3 제타 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 34

제22항에 있어서, TCR이 종양 항원/MHC 복합체에 특이적으로 결합하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 35

제34항에 있어서, 종양 항원이 하기로부터 유래된 것인, 폴리뉴클레오티드: AFP, CD19, BCMA, CLL-1, CS1, CD38, CD19, TSHR, CD123, CD22, CD30, CD171, CD33, EGFRvIII, GD2, GD3, Tn Ag, PSMA, ROR1, ROR2, GPC1, GPC2, FLT3, FAP, TAG72, CD44v6, CEA, EPCAM, B7H3, KIT, IL-13Ra2, 메소텔린, IL-11Ra, PSCA, PRSS21, VEGFR2, 루이스Y, CD24, PDGFR-베타, SSEA-4, CD20, 폴레이트 수용체 알파, ERBB2 (Her2/neu), MUC1, MUC16, EGFR, NCAM, 프로스타제, PAP, ELF2M, 에프린 B2, IGF-I 수용체, CAIX, LMP2, gp100, bcr-ab1, 티로시나제, EphA2, 푸코실 GM1, sLe, GM3, TGS5, HMWMAA, o-아세틸-GD2, 폴레이트 수용체 베타, TEM1/CD248, TEM7R, CLDN6, GPRC5D, CXORF61, CD97, CD179a, ALK, 폴리시알산, PLAC1, GloboH, NY-BR-1, UPK2, HAVCR1, ADRB3, PANX3, GPR20, LY6K, OR51E2, TARP, WT1, NY-ESO-1, LAGE-1a, MAGE-A1, 레구마인, HPV, (예를 들어, HPV E6, E7), MAGE A1, ETV6-AML, 정자 단백질 17, XAGE1, Tie 2, MAD-CT-1, MAD-CT-2, Fos-관련 항원 1, p53, p53 돌연변이, 프로스테인, 서바이빙, 텔로머라제, PCTA-1/갈렉틴 8, 멜란A/MART1, Ras 돌연변이 (예를 들어, HRAS, KRAS, NRAS), hTERT, 육종 전위 중단점, ML-IAP, ERG (TMPRSS2 ETS 융합 유전자), NA17, PAX3, 안드로겐 수용체, 사이클린 B1, MYCN, RhoC, TRP-2, CYP1B1, BORIS, SART3, PAX5, OY-TES1, LCK, AKAP-4, SSX2, RAGE-1, 인간 텔로머라제 역전사효소, RU1, RU2, 장 카르복실 에스테라제, mut hsp70-2, CD79a, CD79b, CD72, LAIR1, FCAR, LILRA2, CD300LF, CLEC12A, BST2, EMR2, LY75, GPC3, FCRL5, IGLL1, CD2, CD3 ϵ , CD4, CD5, CD7, APRIL 단백질의 세포외 부분, 신생항원, 또는 이들의 임의의 조합.

청구항 36

제21항 내지 제35항 중 어느 한 항에 있어서, AP-1 전사 인자가 링커에 의해 키메라 결합 단백질에 연결된 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 37

제36항에 있어서, 링커가 절단가능 링커를 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 38

제36항 또는 제37항에 있어서, 링커가 P2A 링커, T2A 링커, F2A 링커, E2A 링커, 푸린 절단 부위, 또는 이들의 임의의 조합인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 39

제36항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 링커가 서열 번호: 10에 기재된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 40

제36항 내지 제39항 중 어느 한 항에 있어서, 링커가 서열 번호: 10에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 41

제1항 내지 제38항 중 어느 한 항에 있어서, 절단된 EGFR (EGFRt)을 인코딩하는 핵산 서열을 추가로 포함하는 폴리뉴클레오티드.

청구항 42

제41항에 있어서, EGFRt가 서열 번호: 24에 기재된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 43

제41항 또는 제42항에 있어서, EGFRt가 서열 번호: 24에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 44

제41항 내지 제43항 중 어느 한 항에 있어서, EGFRt가 링커에 의해 AP-1 전사 인자 및/또는 키메라 결합 단백질에 연결된 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 45

제44항에 있어서, 링커가 절단가능 링커를 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 46

제44항 또는 제45항에 있어서, 링커가 P2A 링커, T2A 링커, F2A 링커, E2A 링커, 푸린 절단 부위, 또는 이들의 임의의 조합인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 47

제44항 내지 제46항 중 어느 한 항에 있어서, 링커가 서열 번호: 12에 기재된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 48

제44항 내지 제47항 중 어느 한 항에 있어서, 링커가 서열 번호: 12에 기재된 아미노산 서열을 포함하는 것인, 폴리뉴클레오티드.

청구항 49

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드 및 조절 요소를 포함하는 벡터.

청구항 50

제49항에 있어서, 폴리스이스트론 발현 벡터인 벡터.

청구항 51

제49항 또는 제50항에 있어서, 조절 요소가 프로모터를 포함하는 것인, 벡터.

청구항 52

제51항에 있어서, 프로모터가 dI587rev 프라이머-결합 부위 치환된 (MND) 프로모터, EF1a 프로모터, 유비퀴틴 프로모터, 또는 이들의 조합을 포함하는 것인, 벡터.

청구항 53

제49항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서, 벡터는 바이러스 벡터, 포유동물 벡터, 또는 박테리아 벡터를 포함하는, 벡터.

청구항 54

제49항 내지 제53항 중 어느 한 항에 있어서, 아데노바이러스 벡터, 렌티바이러스, 센다이 바이러스 벡터, 바클로바이러스 벡터, 엡스타인 바 바이러스 벡터, 과포바바이러스 벡터, 백시니아 바이러스 벡터, 단순 헤르페스 바이러스 벡터, 하이브리드 벡터, 또는 아데노 관련 바이러스 (AAV) 벡터인 벡터.

청구항 55

제54항에 있어서, 렌티바이러스인 벡터.

청구항 56

제1항 내지 제46항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오타이드 또는 제47항 내지 제51항 중 어느 한 항의 벡터를 포함하는 조성물.

청구항 57

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오타이드, 제49항 내지 제55항 중 어느 한 항의 벡터, 또는 제56항의 조성물을 포함하는 키트.

청구항 58

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오타이드, 제49항 내지 제55항 중 어느 한 항의 벡터, 또는 제56항의 조성물에 의해 인코딩되는 AP-1 전사 인자를 포함하는 폴리펩티드.

청구항 59

제58항의 폴리펩티드, 제21항 내지 제48항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩되는 리간드 결합 단백질, 및/또는 제41항 내지 제48항 중 어느 한 항의 EGFRt를 포함하는 폴리펩티드 세트.

청구항 60

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오타이드, 제49항 내지 제55항 중 어느 한 항의 벡터, 제56항의 조성물, 제58항의 폴리펩티드, 또는 제59항의 폴리펩티드 세트를 포함하는 세포.

청구항 61

제60항에 있어서, 세포는 면역 세포를 포함하는 세포.

청구항 62

제60항 또는 제61항에 있어서, 세포는 T 세포, B 세포, 조절 T 세포 (Treg), 자연 킬러 (NK) 세포, 자연 킬러 T (NKT) 세포, 줄기 세포, 또는 유도 만능 줄기 세포를 포함하는 세포.

청구항 63

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오타이드, 제49항 내지 제55항 중 어느 한 항의 벡터, 제58항의 폴리펩티드, 제59항의 폴리펩티드 세트, 또는 제60항 내지 제62항 중 어느 한 항의 세포 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물.

청구항 64

제60항 내지 제62항 중 어느 한 항 또는 제63항에 있어서, 요법을 필요로 하는 대상체를 치료하기 위한, 세포 또는 제약 조성물.

청구항 65

제1항 내지 제48항 중 어느 한 항, 제49항 내지 제55항 중 어느 한 항, 제56항, 제58항, 제59항, 제60항 내지 제62항 중 어느 한 항, 또는 제63항에 있어서, 요법에 유용한 세포의 고갈을 감소 또는 예방하기 위한, 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 조성물, 폴리펩티드, 폴리펩티드 세트, 세포, 또는 제약 조성물.

청구항 66

질환 또는 병태의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서의 질환 또는 병태의 치료 또는 예방에서의 의약 제조를 위한 제60항 내지 제62항 중 어느 한 항의 세포 또는 제63항의 제약 조성물의 용도.

청구항 67

제66항에 있어서, 질환 또는 병태가 암인, 용도.

청구항 68

요법에 유용한 세포의 고갈 예방 또는 감소를 위한, 제1항 내지 제48항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드, 제49항 내지 제55항 중 어느 한 항의 벡터, 제56항의 조성물, 제58항의 폴리펩티드, 제59항의 폴리펩티드 세트, 제60항 내지 제62항 중 어느 한 항의 세포, 또는 제63항의 제약 조성물의 용도.

청구항 69

질환 또는 병태의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에게 제60항 내지 제62항 중 어느 한 항의 세포 또는 제63항의 제약 조성물을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서 질환 또는 병태의 치료 또는 예방 방법.

청구항 70

제69항에 있어서, 질환 또는 병태가 암인, 방법.

청구항 71

세포를 제1항 내지 제48항 중 어느 한 항의 폴리뉴클레오티드, 제49항 내지 제55항 중 어느 한 항의 벡터, 제56항의 조성물, 제58항의 폴리펩티드, 또는 제59항의 폴리펩티드 세트를 포함하도록 변형시키는 것을 포함하는 세포 내 c-Jun 폴리펩티드의 발현을 증가시키는 방법으로서, 여기서 변형 후 세포 내 c-Jun 폴리펩티드의 발현은 야생형 c-Jun 폴리뉴클레오티드로 변형된 상응하는 세포와 비교하여 증가하는 것인, 방법.

청구항 72

제71항에 있어서, c-Jun 폴리펩티드의 발현은 상응하는 세포와 비교하여 적어도 약 1배, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배, 적어도 약 13배, 적어도 약 14배, 적어도 약 15배, 적어도 약 16배, 적어도 약 17배, 적어도 약 18배, 적어도 약 19배, 적어도 약 20배, 적어도 약 25배, 적어도 약 30배, 적어도 약 35배, 적어도 약 40배, 적어도 약 45배, 적어도 약 50배, 적어도 약 75배, 적어도 약 100배, 적어도 약 200배, 적어도 약 300배, 적어도 약 400배, 적어도 약 500배, 적어도 약 750배, 또는 적어도 약 1,000배 또는 그 초과만큼 증가하는 것인, 방법.

청구항 73

제71항 또는 제72항에 있어서, c-Jun 폴리펩티드의 발현은 상응하는 세포와 비교하여 약 1배, 약 2배, 약 3배, 약 4배, 약 5배, 약 6배, 약 7배, 약 8배, 약 9배- 또는 약 10배만큼 증가하는 것인, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원의 상호 참조

[0002] 본 PCT 출원은 하기 미국 가출원 번호: 2021년 2월 25일 출원된 63/153,879; 2021년 10월 28일 출원된 63/263,231; 및 2022년 2월 11일 출원된 63/309,380의 우선권 이익을 청구하며, 이들 각각은 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0003] EFS-WEB을 통해 전자적으로 제출된 서열 목록에 대한 참조

[0004] 본 출원에 제출된 전자적으로 제출된 서열 목록 (과일명: 4385_068PC03_Seqlisting_ST25.txt, 크기: 99,232 바이트, 및 생성일: 2022년 2월 22일)의 내용은 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0005] 개시내용의 분야

[0006] 본원에 개시된 주제는 일반적으로 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 코돈-최적화된 뉴클레오티드 서열과 관련된 폴리뉴클레오티드, 폴리펩티드, 세포, 벡터, 용도, 및 키트에 관한 것이다.

배경 기술

[0007] 암 면역요법은 T 세포 (감염되고 질환에 걸린 세포에 대한 면역 시스템의 주요 킬러)를 이용하여 종양 세포를 공격하고 죽이는 데 의존한다. 그러나, 종양 세포를 표적화하고 죽이는 면역 세포의 능력은 종양 미세환경 내에 존재하는 면역 반응의 다양한 억제제의 존재에 의해 약화된다. 따라서, CAR T 세포가 특정 암 치료에 있어 다양

한 성공을 거두었지만 (예를 들어, KYMRIAH™ (티사젠렉루셀, Novartis) 및 YESCART™ (악시카브타젠 실로류셀, Kite/Gilead)가 FDA에 의해 승인됨), 도전 과제가 남아 있다. 예를 들어, CAR T 세포 면역요법의 성공은 종종 수용자의 신체에서 CAR T 확장 정도에 의해 제한되며, 이는 통상적으로 세포의 대량 주입을 필요로 한다. 추가로, 전달된 CAR T 세포의 고갈 및 지속성 상실이 관찰되었고, 이는 임상 효능 상실 및 잠재적인 재발로 이어진다.

[0008] 따라서, 암 환자에서 허용가능한 안전성 프로파일 및 높은 효능을 갖는 새로운 개선된 치료 옵션에 대한 필요성이 남아 있다.

발명의 내용

[0009] **개시내용의 요약**

[0010] a) 서열 번호: 1에 기재된 핵산 서열과 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열; b) 서열 번호: 2에 기재된 핵산 서열과 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열; c) 서열 번호: 4에 기재된 핵산 서열과 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열; d) 서열 번호: 5에 기재된 핵산 서열과 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열; e) 서열 번호: 6에 기재된 핵산 서열과 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열; f) 서열 번호: 7에 기재된 핵산 서열과 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열; g) 서열 번호: 8에 기재된 핵산 서열과 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열; h) 서열 번호: 9에 기재된 핵산 서열과 적어도 55%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열; 또는 i) 서열 번호: 10에 기재된 핵산 서열과 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오티드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오티드가 본원에서 제공된다.

[0011] 서열 번호: 1에 기재된 핵산 서열과 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오티드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오티드가 본원에서 제공된다. 특정 양태에서, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호: 1에 기재된 핵산 서열을 포함한다.

[0012] 또한, 서열 번호: 2에 기재된 핵산 서열과 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오티드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오티드가 본원에서 제공된다. 일부 양태에서, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호: 2에 기재된 핵산 서열을 포함한다.

[0013] 서열 번호: 4에 기재된 핵산 서열과 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오티드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오티드가 본원에서 제공된다. 일부 양태에서, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호: 4에 기재된 핵산 서열을 포함한다.

[0014] 본 개시내용은 추가로, 서열 번호: 5에 기재된 핵산 서열과 적어도 79%, 적어도 80%, 적어도 81%, 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오티드

서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오타이드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오타이드를 제공한다. 특정 양태에서, 뉴클레오타이드 서열은 서열 번호: 5에 기재된 핵산 서열을 포함한다.

[0015] 서열 번호: 6에 기재된 핵산 서열과 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오타이드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오타이드가 본원에서 제공된다. 일부 양태에서, 뉴클레오타이드 서열은 서열 번호: 6에 기재된 핵산 서열을 포함한다.

[0016] 서열 번호: 7에 기재된 핵산 서열과 적어도 82%, 적어도 83%, 적어도 84%, 적어도 85%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오타이드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오타이드가 본원에서 제공된다. 특정 양태에서, 뉴클레오타이드 서열은 서열 번호: 7에 기재된 핵산 서열을 포함한다.

[0017] 서열 번호: 8에 기재된 핵산 서열과 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오타이드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오타이드가 본원에서 제공된다. 일부 양태에서, 뉴클레오타이드 서열은 서열 번호: 8에 기재된 핵산 서열을 포함한다.

[0018] 서열 번호: 9에 기재된 핵산 서열과 적어도 55%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오타이드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오타이드가 본원에서 제공된다. 특정 양태에서, 뉴클레오타이드 서열은 서열 번호: 9에 기재된 핵산 서열을 포함한다.

[0019] 또한, 서열 번호: 10에 기재된 핵산 서열과 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 뉴클레오타이드 서열을 포함하며; 여기서 뉴클레오타이드 서열은 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 것인, 폴리뉴클레오타이드가 본원에서 제공된다. 일부 양태에서, 뉴클레오타이드 서열은 서열 번호: 10에 기재된 핵산 서열을 포함한다.

[0020] 일부 양태에서, 상기 폴리뉴클레오타이드 중 임의의 하나에 의해 인코딩되는 AP-1 전사 인자는 서열 번호: 13에 기재된 서열과 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

[0021] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드는 리간드 결합 단백질을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 추가로 포함한다. 특정 양태에서, 리간드 결합 단백질은 키메라 항원 수용체 (CAR), T 세포 수용체 (TCR), 키메라 항원-T 세포 수용체 (caTCR), 키메라 신호전달 수용체 (CSR), T 세포 수용체 모방체 (TCR 모방체), 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, CAR은 표준 CAR, 분할 CAR, 오프-스위치(off-switch) CAR, 온-스위치(on-switch) CAR, 1세대 CAR, 2세대 CAR, 3세대 CAR, 또는 4세대 CAR로서 설계된다.

[0022] 일부 양태에서, 리간드 결합 단백질은 항원-결합 도메인, 막횡단 도메인, 공동자극 도메인, 및/또는 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 특정 양태에서, 항원-결합 도메인은 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 항원에 특이적으로 결합한다: AFP (알파-태아단백질), $\alpha\text{v}\beta 6$ 또는 또 다른 인테그린, BCMA, Braf, B7-H3, B7-H6, CA9 (탄산 탈수효소 9), CCL-1 (C-C 모티프 케모카인 리간드 1), CD5, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD40, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD45, CD47, CD56, CD66e, CD70, CD74, CD79a, CD79b, CD98, CD123, CD138, CD171, CD352, CEA (암배아 항원), 클라우딘(Claudin) 18.2, 클라우딘 6, c-MET, DLL3 (델타-유사 단백질 3), DLL4, ENPP3 (엑토뉴클레오타이드 피로포스파타제/포스포디에스테라제 패밀리를 구성원 3), EpCAM, EPG-2 (상피 당단백질 2), EPG-40, 에프린B2, EPHA2 (에프린 수용체 A2), ERBB 이량체, 에스트로젠 수용체, ETBR (엔도텔린 B 수용체), FAP- α (섬유아세포 활성화 단백질 α), 태아 AchR (태아 아세틸콜린 수용체), FBP (폴레이트 결합 단백질), FCRL5, FR- α (폴레이트 수용체 알파), GCC (구아닐 시클라제 C), GD2, GD3, GPC2 (글리피칸-2), GPC3, gp100 (당단백질 100), GPNMB (당단백질 NMB), GPRC5D (G 단백질 커플링된 수용체 5D), HER2, HER3, HER4, B형 간염 표면 항원, HLA-A1 (인간 백혈구 항원 A1), HLA-A2 (인간 백혈구 항원 A2), HMW-MAA (인간 고분자량-흑색종-관련 항원), IGF1R (인슐린-유사 성장 인자 1 수용체), Ig 카파, Ig 람다, IL-22Ra (IL-22 수용체 알파), IL-13Ra2 (IL-13 수용체 알파 2), KDR (키나제 삽입 도메인 수용체), LI 세포 부착 분자 (LI-CAM), Liv-1, LRRC8A (8개의 패밀리를 구성원 A를 함유하는 류신 풍부 반복), 루이스(Lewis) Y, 흑색종-관

런 항원 (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, MART-1 (멜란 A), 무린 사이토메갈로바이러스 (MCMV), MCSP (흑색종-관련 콘드로이틴 술페이트 프로테오글리칸), 메소텔린, 뮤신 1 (MUC1), MUC16, MHC/펩티드 복합체 (예를 들어, AFP, KRAS, NY-ESO, MAGE-A, 및 WT1로부터 유래된 펩티드와 복합체화된 HLA-A), NCAM (신경 세포 부착 분자), 넥틴(Nectin)-4, NKG2D (자연 킬러 그룹 2 구성원 D) 리간드, NY-ESO, 종양태아 항원, PD-1, PD-L1, PRAME (흑색종의 우선 발현 항원), 프로게스테론 수용체, PSA (전립선 특이적 항원), PSCA (전립선 줄기 세포 항원), PSMA (전립선 특이적 막 항원), ROR1, ROR2, SIRP α (신호-조절 단백질 알파), SLIT, SLITRK6 (NTRK-유사 단백질 6), STEAP1 (전립선 1의 6개 막횡단 상피 항원), 서바이빈, TAG72 (종양-관련 당단백질 72), TPBG (영양막 당단백질), Trop-2, VEGFR1 (혈관 내피 성장 인자 수용체 1), VEGFR2, 및 HIV, HBV, HCV, HPV, 및 기타 병원체로부터의 항원, 및 이들의 임의의 조합.

[0023] 일부 양태에서, 항원-결합 도메인은 ROR1에 특이적으로 결합한다. 특정 양태에서, 항원-결합 도메인은 GPC2에 특이적으로 결합한다.

[0024] 일부 양태에서, 리간드 결합 단백질의 공동자극 도메인은 인터류킨-2 수용체 (IL-2R), 인터류킨-12 수용체 (IL-12R), IL-7, IL-21, IL-23, IL-15, CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD27, CD28, CD30, CD40, 4-1BB/CD137, ICOS, 림프구 기능-관련 항원-1 (LFA-1), LIGHT, NKG2C, OX40, DAP10, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 공동자극 도메인은 4-1BB/CD137 공동자극 도메인을 포함한다.

[0025] 일부 양태에서, 본원에 기재된 리간드 결합 단백질의 막횡단 도메인은 KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, Nkp80 (KLR1), Nkp44, Nkp30, Nkp46, CD160, CD19, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R α , ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (택타일(Tactile)), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSG1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKG2D, NKG2C, CD19, 또는 이들의 임의의 조합의 막횡단 도메인 영역을 포함한다. 특정 양태에서, 막횡단 도메인은 CD28 막횡단 도메인을 포함한다.

[0026] 일부 양태에서, 리간드 결합 도메인의 세포내 신호전달 도메인은 CD3 제타, FcR 감마, 공통 FcR 감마 (FCER1G), Fc 감마 RIIa, FcR 베타 (Fc 엡실론 립(Epsilon Rib)), CD3 감마, CD3 델타, CD3 엡실론, CD22, CD79a, CD79b, CD278 ("ICOS"), Fc ϵ RI, CD66d, CD32, DAP10, DAP12, 또는 이들의 임의의 조합으로부터 유래된 세포내 신호전달 도메인 영역을 포함한다. 특정 양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3 제타 세포내 신호전달 도메인을 포함한다.

[0027] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩되는 리간드 결합 도메인은 TCR을 포함하며, 여기서 TCR은 종양 항원/MHC 복합체에 특이적으로 결합한다. 특정 양태에서, 종양 항원은 하기로부터 유래된다: AFP, CD19, BCMA, CLL-1, CS1, CD38, CD19, TSHR, CD123, CD22, CD30, CD171, CD33, EGFRvIII, GD2, GD3, Tn Ag, PSMA, ROR1, ROR2, GPC1, GPC2, FLT3, FAP, TAG72, CD44v6, CEA, EPCAM, B7H3, KIT, IL-13Ra2, 메소텔린, IL-11Ra, PSCA, PRSS21, VEGFR2, 루이스Y, CD24, PDGFR-베타, SSEA-4, CD20, 플레이트 수용체 알파, ERBB2 (Her2/neu), MUC1, MUC16, EGFR, NCAM, 프로스타제, PAP, ELF2M, 에프린 B2, IGF-I 수용체, CAIX, LMP2, gp100, bcr-abl, 티로시나제, EphA2, 푸코실 GM1, sLe, GM3, TGS5, HMWMAA, o-아세틸-GD2, 플레이트 수용체 베타, TEM1/CD248, TEM7R, CLDN6, GPRC5D, CXORF61, CD97, CD179a, ALK, 폴리시알산, PLAC1, GloboH, NY-BR-1, UPK2, HAVCR1, ADRB3, PANX3, GPR20, LY6K, OR51E2, TARP, WT1, NY-ESO-1, LAGE-1a, MAGE-A1, 레구마인, HPV E6,E7, MAGE A1, ETV6-AML, 정자 단백질 17, XAGE1, Tie 2, MAD-CT-1, MAD-CT-2, Fos-관련 항원 1, p53, p53 돌연변이, 프로스테인, 서바이빈, 텔로머라제, PCTA-1/갈렉틴(Galectin) 8, 멜란A/MART1, Ras 돌연변이 (예를 들어, HRAS, KRAS, NRAS), hTERT, 육종 전위 중단점, ML-IAP, ERG (TMPRSS2 ETS 융합 유전자), NA17, PAX3, 안드로젠 수용체, 사이클린 B1, MYCN, RhoC, TRP-2, CYP1B1, BORIS, SART3, PAX5, OY-TES1, LCK, AKAP-4, SSX2, RAGE-1, 인간 텔로머라제 역전사효소, RU1, RU2, 장 카르복실 에스테라제, mut hsp70-2, CD79a, CD79b, CD72, LAIR1, FCAR, LILRA2, CD300LF, CLEC12A, BST2, EMR2, LY75, GPC3, FCRL5, IGLL1, CD2, CD3 ϵ , CD4, CD5, CD7, APRIL 단백질의 세포외 부분, 신생항원, 또는 이들의 임의의 조합.

[0028] 일부 양태에서, AP-1 전사 인자는 링커에 의해 리간드 결합 단백질에 연결된다. 특정 양태에서, 링커는 절단가능 링커를 포함한다. 일부 양태에서, 링커는 P2A 링커, T2A 링커, F2A 링커, E2A 링커, 푸린 절단 부위, 또는 이들의 임의의 조합이다. 특정 양태에서, 링커는 서열 번호: 14-18 중 어느 하나에 기재된 아미노산 서열과 적

어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 링커는 서열 번호: 14에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.

[0029] 일부 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드는 절단된 EGFR (EGFRt)을 인코딩하는 핵산 서열을 추가로 포함한다. 특정 양태에서, EGFRt는 서열 번호: 19에 기재된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 특정 양태에서, EGFRt는 서열 번호: 23 또는 24에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.

[0030] 일부 양태에서, EGFRt는 링커에 의해 AP-1 전사 인자 및/또는 키메라 결합 단백질에 연결된다. 특정 양태에서, 링커는 절단가능 링커를 포함한다. 일부 양태에서, 링커는 P2A 링커, T2A 링커, F2A 링커, E2A 링커, 푸린 절단 부위, 또는 이들의 임의의 조합이다. 특정 양태에서, 링커는 서열 번호: 14-18 중 어느 하나에 기재된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 특정 양태에서, 링커는 서열 번호: 14에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.

[0031] 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 중 임의의 것 및 조절 요소를 포함하는 벡터가 본원에서 제공된다. 일부 양태에서, 벡터는 플라스미드론 발현 벡터이다. 특정 양태에서, 조절 요소는 프로모터를 포함한다. 일부 양태에서, 프로모터는 dl587rev 프라이머-결합 부위 치환된 (MND) 프로모터, EF1a 프로모터, 유비퀴틴 프로모터, 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0032] 일부 양태에서, 벡터는 바이러스 벡터, 포유동물 벡터, 또는 박테리아 벡터를 포함한다. 특정 양태에서, 벡터는 아데노바이러스 벡터, 렌티바이러스, 센다이(Sendai) 바이러스 벡터, 바클로바이러스 벡터, 엡스타인 바(Epstein Barr) 바이러스 벡터, 파포마바이러스 벡터, 백시니아 바이러스 벡터, 단순 헤르페스 바이러스 벡터, 하이브리드 벡터, 또는 아데노 관련 바이러스 (AAV) 벡터이다. 일부 양태에서, 벡터는 렌티바이러스이다.

[0033] 또한, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 또는 벡터를 포함하는 조성물이 본원에서 제공된다. 본 개시내용은 또한 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 또는 조성물을 포함하는 키트를 제공한다. 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 또는 조성물에 의해 인코딩되는 AP-1 전사 인자를 포함하는 폴리펩티드가 본원에서 제공된다. 본 개시내용은 추가로, 폴리펩티드 (예를 들어, AP-1 전사 인자), 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩되는 리간드 결합 단백질, 및/또는 본원에 기재된 EGFRt를 포함하는 폴리펩티드의 세트를 제공한다.

[0034] 또한, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트를 포함하는 세포가 본원에서 제공된다. 일부 양태에서, 세포는 면역 세포이다. 특정 양태에서, 세포는 T 세포, B 세포, 조절 T 세포 (Treg), 자연 킬러 (NK) 세포, 자연 킬러 T (NKT) 세포, 줄기 세포, 또는 유도 만능 줄기 세포를 포함한다.

[0035] 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 폴리펩티드, 폴리펩티드의 세트, 또는 세포, 및 제약상 허용되는 담체를 포함하는 제약 조성물이 본원에서 제공된다.

[0036] 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포 또는 제약 조성물은 요법을 필요로 하는 대상체의 치료를 위한 것이다. 특정 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 폴리펩티드, 폴리펩티드의 세트, 세포, 또는 제약 조성물은 요법에 유용한 세포의 고갈 감소 또는 예방을 위한 것이다.

[0037] 질환 또는 병태의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서의 질환 또는 병태의 치료 또는 예방에서의 의약 제조를 위한 본원에 기재된 세포 또는 제약 조성물의 용도가 본원에서 제공된다. 일부 양태에서, 질환 또는 병태는 암이다.

[0038] 요법에 유용한 세포의 고갈 예방 또는 감소를 위한 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 폴리펩티드, 폴리펩티드의 세트, 세포, 또는 제약 조성물의 용도가 본원에서 제공된다.

[0039] 일부 양태에서, 본 개시내용에서 제공되는 질환 또는 병태의 치료 또는 예방을 필요로 하는 대상체에서의 질환 또는 병태의 치료 또는 예방 방법은, 본원에 개시된 세포 또는 제약 조성물 중 임의의 것을 대상체에게 투여하는 것을 포함한다. 특정 양태에서, 질환 또는 병태는 암이다.

[0040] 또한, 세포를 본원에서 제공되는 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 폴리펩티드 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것을 포함하도록 변형시키는 것을 포함하며, 여기서 변형 후 세포에서의 c-Jun 폴리펩티드의 발현이 야생형 c-Jun 폴리뉴클레오티드로 변형된 상응하는 세포와 비교하여 증가하는 것인, 세포에서 c-Jun 폴리펩티드를 증가

시키는 방법이 본원에서 제공된다.

[0041] 일부 양태에서, c-Jun 폴리펩티드의 발현은 상응하는 세포와 비교하여 적어도 약 1배, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배, 적어도 약 13배, 적어도 약 14배, 적어도 약 15배, 적어도 약 16배, 적어도 약 17배, 적어도 약 18배, 적어도 약 19배, 적어도 약 20배, 적어도 약 25배, 적어도 약 30배, 적어도 약 35배, 적어도 약 40배, 적어도 약 45배, 적어도 약 50배, 적어도 약 75배, 적어도 약 100배, 적어도 약 200배, 적어도 약 300배, 적어도 약 400배, 적어도 약 500배, 적어도 약 750배, 또는 적어도 약 1,000배 또는 그 초과만큼 증가한다. 일부 양태에서, c-Jun 폴리펩티드의 발현은 상응하는 세포와 비교하여 약 1배, 약 2배, 약 3배, 약 4배, 약 5배, 약 6배, 약 7배, 약 8배, 약 9배- 또는 약 10배만큼 증가한다.

도면의 간단한 설명

[0042] 도 1은 본원에 기재된 13개의 상이한 항-ROR1 CAR 작제물의 그래프 표현을 나타낸다. 작제물은 하기 중 하나 이상을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다: (i) c-Jun 단백질 ("cJun"); (ii) 절단된 CD19 ("CD19t"); (iii) P2A 링커 ("P2A"); (iv) 인간 Igκ 신호 펩티드 ("hIgK"); (v) 항-ROR1 scFv ("R12"); 및 (vi) 절단된 EGFR ("EGFRt"). 작제물 #3-#12는 각각 서열 번호: 1-10에 기재된 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 포함한다. 작제물 #13은 야생형 (즉, 비-코돈-최적화된) c-Jun 서열 (서열 번호: 11)을 포함한다.

도 2a, 2b, 2c, 및 2d는 다양한 항-ROR1 작제물의 형질도입 효율 및 이식유전자 발현 수준을 나타낸다. 도 2a에는, 형질도입 효율이 EGFRt⁺cJun⁺인 세포의 백분율로서 나타나 있다. 도 2b에는, 형질도입 효율이 EGFRt⁺R12⁺인 세포의 백분율로서 나타나 있다. 도 2c에는, 세포 당 유전자 발현 수준이 EGFRt⁺ 세포들 사이의 c-Jun 발현의 기하 평균 (gMFI)으로서 나타나 있다. 도 2d에는, 세포 당 유전자 발현 수준이 EGFRt⁺ 세포들 사이의 항-ROR1 (R12) scFv 발현의 기하 평균 (gMFI)으로서 나타나 있다. 나타난 바와 같이, 항-ROR1 작제물 각각을 사용하여 하기 감염 다중도 (MOI)로 세포를 형질도입하였다: 20 (각각의 작제물에 대한 첫 번째 막대), 10 (각각의 작제물에 대한 두 번째 막대), 5 (각각의 작제물에 대한 세 번째 막대), 및 2 (각각의 작제물에 대한 마지막 막대). 시험된 항-ROR1 CAR 작제물은 도 1에 예시되어 있고 하기를 포함하였다: (i) 작제물 #1 (즉, c-Jun이 결여됨); (ii) 작제물 #11 (즉, 서열 번호: 9에 기재된 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 포함함); (iii) 작제물 #2 (즉, c-Jun이 결여되고 절단된 CD19를 포함함); (iv) 작제물 #3 (즉, 서열 번호: 1에 기재된 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 포함함); 및 (v) 작제물 #12 (즉, 서열 번호: 10에 기재된 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 포함함).

상이한 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 포함하는 항-ROR1 CAR 작제물에 대하여 도 3a는 형질도입 효율을 나타내고 3b는 이식유전자 발현 수준을 나타낸다. 형질도입 효율은 상이한 MOI (x축)에서의 EGFRt⁺R12CAR⁺인 세포의 백분율 (y축)로서 나타나 있다. 도 3a에는, 하기 항-ROR1 CAR 작제물에 대한 결과가 나타나 있다: (i) 작제물 #3 (즉, 서열 번호: 1에 기재된 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 포함함) (원); (ii) 작제물 #5 (즉, 서열 번호: 3에 기재된 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 포함함) (정사각형); (iii) 작제물 #4 (즉, 서열 번호: 2에 기재된 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 포함함) (삼각형); 및 (iv) 작제물 #2 (즉, c-Jun이 결여되고 절단된 CD19를 포함함) (다이아몬드). 도 3b에는, 하기 항-ROR1 CAR 작제물에 대한 결과가 나타나 있다: (i) 작제물 #3 (즉, 서열 번호: 1에 기재된 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 포함함) (작은 원); (ii) 작제물 #6 (즉, 서열 번호: 4에 기재된 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 포함함) (작은 정사각형); (iii) 작제물 #7 (즉, 서열 번호: 5에 기재된 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 포함함) (삼각형); (iv) 작제물 #8 (즉, 서열 번호: 6에 기재된 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 포함함) (역삼각형); (v) 작제물 #13 (즉, 야생형 c-Jun 서열을 포함함) (다이아몬드); (vi) 작제물 #9 (즉, 서열 번호: 7에 기재된 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 포함함) (큰 원); 및 (vii) 작제물 #2 (즉, c-Jun이 결여되고 절단된 CD19를 포함함) (큰 정사각형). 도 3a 및 3b 각각에서 원으로 표시된 데이터 포인트는 그래프 우측의 표에 나타난 바와 같은 다양한 작제물 사이의 비교에 사용되는 역가를 나타낸다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0043] 개요

[0044] 본 개시내용은 Jun 원종양유전자, AP-1 전사 인자 서브유닛 ("c-Jun"; 또한 본원에서 "AP-1"로서 언급됨) 단백질을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 단리된 폴리뉴클레오티드)에 관한 것이다. 본원에 기재된 바와 같이, 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드는 이들을 자연에 존재하는 참조 폴리뉴

클레오티드와 (예를 들어, 구조적으로 및/또는 기능적으로) 구별되게 하는 하나 이상의 특징을 포함한다. 예를 들어, 본 개시내용에서 다른 부분에 추가로 기재되는 바와 같이, 뉴클레오티드 서열은 코돈-최적화되었다 (즉, 합성됨). 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열을 포함함)는 하기 중 하나 이상을 인코딩하는 하나 이상의 추가의 뉴클레오티드 서열을 추가로 포함한다: 링커, 신호 펩티드, 항원-결합 도메인, 스페이서, 막횡단 도메인, 공동자극 도메인, 세포내 신호전달 도메인, 절단된 EGFR, 및 이들의 조합.

[0045] 정의

[0046] 본 개시내용을 보다 쉽게 이해할 수 있도록 하기 위해, 먼저 특정 용어가 정의된다. 본 출원에서 사용되는 바와 같이, 본원에서 명시적으로 달리 제공된 경우를 제외하고, 하기 용어 각각은 하기에 기재된 의미를 갖는다. 추가 정의는 출원 전반에 걸쳐 기재된다.

[0047] 용어 "a" 또는 "an" 엔티티(entity)는 그 엔티티 중 하나 이상을 지칭함을 인지하여야 하며; 예를 들어, "뉴클레오티드 서열"은 하나 이상의 뉴클레오티드 서열을 나타내는 것으로 이해된다. 이와 같이, 용어 "a" (또는 "an"), "하나 이상", 및 "적어도 하나"는 본원에서 상호교환가능하게 사용될 수 있다. 임의의 임의적 요소를 배제하도록 청구범위가 작성될 수 있음이 추가로 인지된다. 이와 같이, 이 진술은 부정적인 제한의 사용, 또는 청구항 요소의 인용과 관련하여 "오직", "단지" 등과 같은 배타적인 용어의 사용을 위한 선행 근거의 역할을 하도록 의도된다.

[0048] 용어 "및/또는"은 본원에서 사용되는 경우 다른 것을 갖거나 갖지 않는 2개의 특정된 특징 또는 구성요소 각각의 구체적 개시로서 간주되어야 한다. 따라서, 용어 "및/또는"은 본원에서 "A 및/또는 B"와 같은 어구에서 사용되는 바와 같이 "A 및 B", "A 또는 B", "A" (단독), 및 "B" (단독)을 포함하도록 의도된다. 마찬가지로, 용어 "및/또는"은 "A, B, 및/또는 C"와 같은 어구에서 사용되는 바와 같이 하기 양태 각각을 포함하도록 의도된다: A, B, 및 C; A, B, 또는 C; A 또는 C; A 또는 B; B 또는 C; A 및 C; A 및 B; B 및 C; A (단독); B (단독); 및 C (단독).

[0049] 본원에서 "포함하는"이라는 언어로 양태가 기재되는 경우에는 항상, "~로 이루어진" 및/또는 "본질적으로 ~로 이루어진"의 용어로 기재되는 다른 방식의 유사한 양태가 또한 제공되는 것으로 이해된다.

[0050] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "대략" 또는 "약"은, 하나 이상의 관심 값에 적용되는 바와 같이, 달리 언급되거나 문맥으로부터 달리 명백하지 않은 한, 언급된 참조 값의 어느 방향으로든 (그 초과 또는 미만으로) 25%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% 내에 포함되는 값의 범위 내에 있는, 또한 언급된 참조 값과 유사한 값 (이러한 숫자가 가능한 값의 100%를 초과하는 경우 제외)을 지칭한다. 용어 "대략" 또는 "약"이 특정 값에 대하여 본원에서 적용되는 경우, 용어 "대략" 또는 "약"이 없는 값 또한 본원에 개시된다.

[0051] 본원에 기재된 바와 같이, 임의의 농도 범위, 백분율 범위, 비율 범위, 또는 정수 범위는, 달리 지시되지 않는 한, 인용된 범위 내의 임의의 정수 값 및 적절한 경우 그의 분수 (예컨대 정수의 10분의 1 및 100분의 1)를 포함하는 것으로 이해되어야 한다.

[0052] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "ug" 및 "uM"은 각각 " μg " 및 " μM "과 상호교환가능하게 사용된다.

[0053] 달리 정의되지 않는 한, 본원에서 사용되는 모든 기술적 및 과학적 용어는 본 개시내용이 관련된 기술분야의 통상의 기술자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 예를 들어, 하기 문헌은 당업자에게 본 개시내용에서 사용된 많은 용어의 일반적 사전을 제공한다: the Concise Dictionary of Biomedicine and Molecular Biology, Juo, Pei-Show, 2nd ed., 2002, CRC Press; The Dictionary of Cell and Molecular Biology, 3rd ed., 1999, Academic Press; 및 the Oxford Dictionary Of Biochemistry And Molecular Biology, Revised, 2000, Oxford University Press.

[0054] 단위, 접두어, 및 기호는 Syst^{ème} International de Unites(SI) 허용 양식으로 표시된다. 숫자 범위에는 범위를 정의하는 숫자가 포함된다. 본원에서 제공되는 제목은 전체적으로 명세서를 참조함으로써 부여될 수 있는 본 개시내용의 다양한 양태의 제한이 아니다. 따라서, 바로 아래에 정의된 용어들은 그 전체가 본 명세서를 참조함으로써 보다 완전하게 정의된다.

[0055] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "면역 세포"는 면역 시스템의 세포를 지칭한다. 일부 양태에서, 면역 세포는 T 림프구 ("T 세포"), B 림프구 ("B 세포"), 자연 킬러 (NK) 세포, 자연 킬러 T (NKT) 세포, 대식세포, 호

산구, 비만 세포, 수지상 세포 또는 호중구)로부터 선택된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "T 세포" 및 "T 림프구"는 상호교환가능하고, 흥선에 의해 생성되거나 처리되는 임의의 림프구를 지칭한다. T 세포의 비-제한적 부류는 이펙터 T 세포 및 Th 세포 (예컨대 $CD4^{+}$ 또는 $CD8^{+}$ T 세포)를 포함한다. 일부 양태에서, 면역 세포는 Th1 세포이다. 일부 양태에서, 면역 세포는 Th2 세포이다. 일부 양태에서, 면역 세포는 Tc17 세포이다. 일부 양태에서, 면역 세포는 Th17 세포이다. 일부 양태에서, 면역 세포는 중앙-침윤 세포 (TIL)이다. 일부 양태에서, 면역 세포는 T_{reg} 세포이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "면역 세포"는 또한 만능 세포, 예를 들어, 줄기 세포 (예를 들어, 배아 줄기 세포 또는 조혈 줄기 세포) 또는 면역 세포로의 분화가 가능한 유도 만능 줄기 세포를 지칭한다.

[0056] 일부 양태에서, T 세포는 기억 T 세포이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "기억" T 세포는 이전에 그들의 동족 항원을 직면하고 이에 반응한 (예를 들어, 생체내, 시험관내, 또는 생체외) 또는 예를 들어 항-CD3 항체로 자극된 (예를 들어, 시험관내 또는 생체외) T 세포를 지칭한다. 2차 노출시 "기억-유사" 표현형을 갖는 면역 세포, 이러한 기억 T 세포는 1차 노출 동안 보다 빠르고 강한 면역 반응을 일으키기 위해 번식할 수 있다. 일부 양태에서, 기억 T 세포는 중앙 기억 T 세포 (T_{CM} 세포), 이펙터 기억 T 세포 (T_{EM} 세포), 조직 상주 기억 T 세포 (T_{RM} 세포), 줄기 세포-유사 기억 T 세포 (T_{SCM} 세포), 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0057] 일부 양태에서, T 세포는 줄기 세포-유사 기억 T 세포이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "줄기 세포-유사 기억 T 세포", "T 기억 줄기 세포", 또는 " T_{SCM} 세포"는 CD95, CD45RA, CCR7, 및 CD62L을 발현하고 줄기 세포-유사 자가-재생 능력 및 기억 및 이펙터 서브세트의 전체 스펙트럼을 재구성할 수 있는 다능 능력을 부여받은 기억 T 세포를 지칭한다.

[0058] 일부 양태에서, T 세포는 중앙 기억 T 세포이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "중앙 기억 T 세포" 또는 " T_{CM} 세포"는 CD45RO, CCR7, 및 CD62L을 발현하는 기억 T 세포를 지칭한다. 중앙 기억 T 세포는 일반적으로 림프절 내에서, 또한 말초 순환계에서 발견된다.

[0059] 일부 양태에서, T 세포는 이펙터 기억 T 세포이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "이펙터 기억 T 세포" 또는 " T_{EM} 세포"는 CD45RO를 발현하지만 CCR7 및 CD62L의 발현이 결여된 기억 T 세포를 지칭한다. 이펙터 기억 T 세포는 림프절-귀소 수용체 (예를 들어, CCR7 및 CD62L)이기 때문에, 이들 세포는 전형적으로 말초 순환계 및 비-림프성 조직에서 발견된다.

[0060] 일부 양태에서, T 세포는 조직 상주 기억 T 세포이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "조직 상주 기억 T 세포" 또는 " T_{RM} 세포"는 순환하지 않고 말초 조직, 예컨대 피부, 폐, 및 위장관에 상주하여 남아 있는 기억 T 세포를 지칭한다. 특정 양태에서, 조직 상주 기억 T 세포는 또한 이펙터 기억 T 세포이다.

[0061] 일부 양태에서, T 세포는 나이브 T 세포이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "나이브 T 세포" 또는 " T_N 세포"는 CD45RA, CCR7, 및 CD62L을 발현하지만, CD95를 발현하지 않는 T 세포를 지칭한다. T_N 세포는 T 세포 계통에서 가장 미분화된 세포를 나타낸다. T_N 세포 및 항원 제시 세포 (APC) 사이의 상호작용은 T_N 세포의 활성화된 T_{EFF} 세포로의 분화 및 면역 반응을 유도한다. 일부 측면에서, T 세포는 이펙터 T (T_{eff}) 세포이다.

[0062] 본원에서 사용되는 바와 같이, "세포 조작"은 세포, 예를 들어, 본원에 개시된 면역 세포의 표적화된 변형을 지칭한다. 일부 양태에서, 세포 조작은 바이러스 유전 조작, 비-바이러스 유전 조작, T 세포 기능을 개선하는 하나 이상의 내인성 유전자의 중앙 특이적 표적화 (예를 들어, 키메라 결합 단백질) 도입을 허용하는 수용체의 도입, 면역 세포, 예를 들어, T 세포, 기능을 개선하는 하나 이상의 합성 유전자 (예를 들어, 본원에서 제공되는 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열)의 도입, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.

[0063] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "시토카인"은 세포 사이의 상호작용 및 통신에 대한 특정 효과를 갖는 세포에 의해 방출되는 작은 분비 단백질을 지칭한다. 시토카인의 비-제한적 예는 인터류킨 (예를 들어, 인터류킨 (IL)-1, IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-13, IL-15, IL-3, IL-5, IL-6, IL-11, IL-10, IL-20, IL-14, IL-16, IL-17, IL-21 및 IL-23), 인터페론 (IFN; 예를 들어, $IFN\alpha$, $IFN\beta$, 및 $IFN\gamma$), 중앙 괴사 인자 (TNF) 패밀리 구성원, 및 형질전환 성장 인자 (TGF) 패밀리 구성원을 포함한다. 본 개시내용의 특정 양태에서, 숙주 면역 세포에서의 본원에 개시된 키메라 활성화 수용체와 $TGF\beta$ 사이의 상호작용은 하나 이상의 시토카인의 증가된 발현으로 이어진다. 일부 양태에서, 시토카인은 인터류킨이다. 일부 양태에서, 시토카인은 IL-2, IL-7, IL-15, IL-21

및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된다. 특정 양태에서, 시토카인은 IL-2이다. IL-2 (UniProtKB - P60568)는 항원 또는 분열촉진 자극에 대한 반응으로 T 세포에 의해 생성된다. IL-2는 T 세포 증식 및 면역 반응 조절에 중요한 기타 활성을 자극하는 것으로 공지되어 있다.

[0064] 일부 양태에서, 시토카인은 인터페론이다. 일부 양태에서, 인터페론은 $IFN\alpha$, $IFN\beta$, 및 $IFN\gamma$ 로부터 선택된다. 특정 양태에서, 인터페론은 $IFN\gamma$ 이다. $IFN\gamma$ (UniProtKB - P01579)는 활성화된 림프구 촉진된 면역 세포 기능에 의해 생성된다.

[0065] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항원"은 단백질, 펩티드, 또는 합텐과 같은 임의의 천연 또는 합성 면역원성 물질을 지칭한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "동종 항원"은 면역 세포 (예를 들어, T 세포)가 인식함으로써 면역 세포의 활성화 (예를 들어, 세포의 증식을 위한, 및/또는 시토카인 생성과 같은 이펙터 기능을 유도하는 세포내 신호 촉발)를 유도하는 항원을 지칭한다. 특정 양태에서, 항원은 종양 항원을 포함한다. 일부 양태에서, 항원은 신생항원을 포함한다.

[0066] "암"은 체내 비정상 세포의 제어되지 않은 성장을 특징으로 하는 다양한 질환의 광범위한 그룹을 지칭한다. 조절되지 않은 세포 분열 및 성장은 이웃 조직을 침범하는 악성 종양의 형성을 초래하고 림프계 또는 혈류를 통해 신체의 먼 부분으로 전이될 수도 있다. "암"은 본원에서 사용되는 바와 같이 원발성, 전이성 및 재발성 암을 지칭한다.

[0067] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "면역 반응"은 외래 작용제에 대항하는 척추동물 내의 생물학적 반응을 지칭하며, 이 반응은 이들 작용제 및 이들에 의해 야기되는 질환에 대항하여 유기체를 보호한다. 면역 반응은, 침입 병원체, 병원체로 감염된 세포 또는 조직, 암성 또는 기타 비정상 세포, 또는, 자가면역 또는 병리적 염증의 경우, 정상 인간 세포 또는 조직의 선택적 표적화, 그에 대한 결함, 그에 대한 손상, 그의 파괴, 및/또는 척추동물 신체로부터 그의 제거를 제공하는 면역 시스템의 세포 (예를 들어, T 림프구, B 림프구, 자연 킬러 (NK) 세포, NKT 세포, 대식세포, 호산구, 비만 세포, 수지상 세포 또는 호중구) 및 이들 세포 중 임의의 것 또는 간에 의해 생성된 가용성 거대분자 (항체, 시토카인, 및 보체 포함)의 작용에 의해 매개된다. 면역 반응은, 예를 들어, T 세포, 예를 들어, 이펙터 T 세포 또는 Th 세포, 예컨대 $CD4^+$ 또는 $CD8^+$ T 세포의 활성화 또는 억제, 또는 Treg 세포의 억제를 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "T 세포" 및 "T 림프구"는 상호교환가능하고 흉선에 의해 생성되거나 처리되는 임의의 림프구를 지칭한다. 일부 양태에서, T 세포는 $CD4^+$ T 세포이다. 일부 양태에서, T 세포는 $CD8^+$ T 세포이다. 일부 양태에서, T 세포는 NKT 세포이다.

[0068] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "항-종양 면역 반응"은 종양 항원에 대항하는 면역 반응을 지칭한다.

[0069] "대상체"는 임의의 인간 또는 비인간 동물을 포함한다. 용어 "비인간 동물"은 척추동물, 예컨대 비인간 영장류, 양, 개, 및 설치류, 예컨대 마우스, 래트 및 기니피그를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 일부 양태에서, 대상체는 인간이다. 용어 "대상체" 및 "환자"는 본원에서 상호교환가능하게 사용된다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 어구 "~를 필요로 하는 대상체"는, 예를 들어, 종양 성장을 제어하기 위해, 본원에 기재된 바와 같은 면역 세포, 예를 들어, T 세포의 투여로부터 이익을 얻을 대상체, 예컨대 포유동물 대상체를 포함한다.

[0070] 용어 "유효량" 또는 "유효 투여량"은 요망되는 생물학적, 치료적, 및/또는 예방적 결과를 제공하는 작용제 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열 및 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드로 형질도입된 면역 세포)의 양을 지칭한다. 그 결과는 질환의 징후, 증상, 또는 원인 중 하나 이상의 감소, 개선, 완화, 악화, 지연, 및/또는 경감, 또는 생물학적 시스템의 임의의 다른 요망되는 변경일 수 있다. 고형 종양과 관련하여, 유효량은 종양을 축소시키고/시키거나 종양의 성장 속도를 감소시키거나 (예컨대 종양 성장을 억제하거나) 다른 원치 않는 세포 증식을 예방하거나 지연시키기에 충분한 양을 포함한다. 일부 양태에서, 유효량은 종양 발달을 지연시키기에 충분한 양이다. 일부 양태에서, 유효량은 종양 재발을 예방하거나 지연시키기에 충분한 양이다. 유효량은 1회 이상의 투여로 투여될 수 있다. 당업자는, 치료 유효량 등이 단일 용량으로 투여될 수 있거나, 다중 용량 (즉, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10개 또는 그 초과 용량)의 투여에 의해 달성될 수 있음을 이해할 것이다. 질환 퇴행을 촉진하거나 질환의 발달 또는 재발을 억제하는 치료적 작용제의 능력은, 숙련된 실무자에게 공지된 다양한 방법을 사용하여, 예컨대 임상 시험 동안 인간 대상체에서, 인간에서의 효능을 예측하는 동물 모델 시스템에서, 또는 시험관내 검정에서 작용제의 활성을 검정함으로써 평가될 수 있다.

[0071] 유효량의 조성물 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 면역 세포)은, 예를 들어, (i) 암 세포의 수를 감소시키고/시키거나; (ii) 종양 크기를 감소시키고/시키거나; (iii) 말초 기관으로의 암 세포 침윤을 어느 정도 억제,

지연, 둔화시키고 중단할 수 있고/있거나; (iv) 억제하고/하거나 (즉, 종양 전이를 어느 정도 둔화시키고 중단할 수 있음); (v) 종양 성장을 억제하고/하거나; (vi) 종양의 발생 및/또는 재발을 예방하거나 지연시키고/시키거나; (vii) 암과 관련된 증상 중 하나 이상을 어느 정도 완화시킬 수 있다.

[0072] 치료와 관련하여 용어 "효과적인" 및 "유효성"은 약리학적 유효성 및 생리학적 안전성 둘 다를 포함한다. 약리학적 유효성은 환자에서 암 퇴행을 촉진하는 본원에 개시된 조성물 (예를 들어, 본원에 기재된 면역 세포)의 능력을 지칭한다. 생리학적 안전성은 본원에 개시된 조성물 (예를 들어, 본원에 기재된 바와 같은 면역 세포)의 투여로 인한 세포, 기관, 및/또는 유기체 수준에서의 독성, 또는 기타 불리한 생리학적 효과 (부작용)의 수준을 지칭한다.

[0073] 용어 "키메라 항원 수용체" 및 "CAR"은, 본원에서 사용되는 바와 같이, 면역 이펙터 세포에 있을 때 세포에 표적 세포, 전형적으로 암 세포에 대한 특이성, 또한 세포내 신호 생성을 제공하는, 가장 단순한 형태의 전형적으로 2개의 폴리펩티드의 세트를 지칭한다. 일부 양태에서, CAR은 적어도 세포외 항원-결합 도메인, 막횡단 도메인 및 자극 분자 및/또는 하기에 정의되는 공동자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포질 신호전달 도메인 (또한 본원에서 "세포내 신호전달 도메인"으로서 언급됨)을 포함한다. 일부 양태에서, 폴리펩티드의 세트는 동일한 폴리펩티드 사슬 내에 있고, 예를 들어, 키메라 융합 단백질을 포함한다. 일부 양태에서, 폴리펩티드의 세트는 서로 인접하지 않고, 예를 들어 상이한 폴리펩티드 사슬에 있다. 일부 양태에서, 폴리펩티드의 세트는 이량체화 분자의 존재시 폴리펩티드를 서로 커플링할 수 있는, 예를 들어 항원-결합 도메인을 세포내 신호전달 도메인에 커플링할 수 있는 이량체화 스위치를 포함한다. 일부 양태에서, CAR의 자극 분자는 T 세포 수용체 복합체와 회합된 제타 사슬 (예를 들어, CD3 제타)이다. 일부 양태에서, 세포질 신호전달 도메인은 1차 신호전달 도메인 (예를 들어, CD3-제타의 1차 신호전달 도메인)을 포함한다. 일부 양태에서, 세포질 신호전달 도메인은 하기에 정의되는 바와 같은 적어도 하나의 공동자극 분자로부터 유래된 하나 이상의 기능적 신호전달 도메인을 추가로 포함한다. 일부 양태에서, 공동자극 분자는 본원에 기재된 공동자극 분자, 예를 들어, 4-1BB (즉, CD137), CD27, 및/또는 CD28로부터 선택된다.

[0074] 일부 양태에서, CAR은 항원-결합 도메인, 막횡단 도메인, 및 자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 융합 단백질을 포함하며, 여기서 항원-결합 도메인 및 막횡단 도메인은 CAR 스페이스에 의해 연결된다. 일부 양태에서, CAR은 CAR 스페이스를 통해 막횡단 도메인에 연결된 항원-결합 도메인 및 공동자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인 및 자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 융합 단백질을 포함한다. 일부 양태에서, CAR은 CAR 스페이스를 통해 막횡단 도메인에 연결된 항원-결합 도메인 및 하나 이상의 공동자극 분자(들)로부터 유래된 2개의 기능적 신호전달 도메인 및 자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 융합 단백질을 포함한다. 일부 양태에서, CAR은 CAR 스페이스를 통해 막횡단 도메인에 연결된 항원-결합 도메인 및 하나 이상의 공동자극 분자(들)로부터 유래된 적어도 2개의 기능적 신호전달 도메인 및 자극 분자로부터 유래된 기능적 신호전달 도메인을 포함하는 세포내 신호전달 도메인을 포함하는 키메라 융합 단백질을 포함한다. 일부 양태에서, CAR은 CAR의 아미노-말단 (N-말단)에서 임의적 리더 서열을 포함한다. 일부 양태에서, CAR은 항원-결합 도메인의 N-말단에서 리더 서열을 추가로 포함하며, 여기서 리더 서열은 임의로 세포 막에 대한 CAR의 세포 프로세싱 및 국소화 동안 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv)으로부터 절단된다.

[0075] 키메라 항원 수용체는 MHC-독립적 항원에 결합하고 그의 세포내 도메인을 통해 활성화 신호를 변환하는 그의 능력에 의해 다른 항원-결합 작용제와 구별된다.

[0076] 키메라 항원 수용체의 항원-특이적 세포외 도메인은 항원, 전형적으로 악성 종양의 표면-발현 항원을 인식하고 그에 특이적으로 결합한다. 항원-특이적 세포외 도메인은, 예를 들어, 이것이 약 0.1 pM 내지 약 10 μ M, 예를 들어, 약 0.1 pM 내지 약 1 μ M 또는 약 0.1 pM 내지 약 100 nM의 친화도 상수 또는 상호작용 친화도 (K_D)로 항원에 결합할 때, 항원에 특이적으로 결합하는 것이다. 상호작용의 친화도 결정 방법은 당업계에 공지되어 있다. 본 개시내용의 CAR에서의 사용에 적합한 항원-특이적 세포외 도메인은, 폭넓게 다양한 것들이 당업계에 공지되어 있는, 임의의 항원-결합 폴리펩티드일 수 있다. 일부 양태에서, 항원-결합 도메인은 단일 사슬 Fv (scFv)이다. cAb VHH (낙타 항체 가변 도메인) 및 그의 인간화 버전, IgNAR VH (상어 항체 가변 도메인) 및 그의 인간화 버전, sdAb VH (단일 도메인 항체 가변 도메인), 및 "낙타화된" 항체 가변 도메인 등의 기타 항체-기반 인식 도메인 또한 본 개시내용의 CAR에서의 사용에 적합하다.

[0077] 일부 양태에서, T 세포 수용체 (TCR) 기반 인식 도메인, 예컨대 단일 사슬 TCR (scTv, 즉, $V\alpha V\beta$ 를 함유하는

단일 사슬 2-도메인 TCR) 또한 본 개시내용의 키메라 결합 단백질에서의 사용에 적합하다.

[0078] 용어 "핵산", "핵산 분자", "뉴클레오타이드", "뉴클레오타이드(들) 서열", 및 "폴리뉴클레오타이드"는 상호교환가능하게 사용될 수 있고, 단일 가닥 형태, 또는 이중 가닥 나선의, 리보뉴클레오타이드 (아데노신, 구아노신, 우리딘 또는 시티딘; "RNA 분자") 또는 데옥시리보뉴클레오타이드 (데옥시아데노신, 데옥시구아노신, 데옥시티미딘, 또는 데옥시시티딘; "DNA 분자")의 포스페이트 에스테르 중합체 형태, 또는 그의 임의의 포스포에스테르 유사체, 예컨대 포스포로티오에이트 및 티오에스테르를 지칭한다. 단일 가닥 핵산 서열은 단일-가닥 DNA (ssDNA) 또는 단일-가닥 RNA (ssRNA)를 지칭한다. 이중 가닥 DNA-DNA, DNA-RNA 및 RNA-RNA 나선이 가능하다. 용어 핵산 분자, 또한 특히 DNA 또는 RNA 분자는 단지 분자의 1차 및 2차 구조를 지칭하며, 이를 임의의 특정 3차 형태로 제한하지 않는다. 따라서, 이 용어는, 특히, 선형 또는 원형 DNA 분자 (예를 들어, 제한 단편), 플라스미드, 슈퍼코일 DNA 및 염색체에서 발견되는 이중-가닥 DNA를 포함한다. 특정 이중-가닥 DNA 분자의 구조를 논의할 때, 서열은, 전사되지 않은 DNA 가닥 (즉, mRNA와 상동성인 서열을 갖는 가닥)을 따라 5'에서 3' 방향으로만 서열을 제공하는 통상적 관례에 따라 본원에서 기재될 수 있다. "재조합 DNA 분자"는 분자 생물학적 조작을 거친 DNA 분자이다. DNA는 cDNA, 게놈 DNA, 플라스미드 DNA, 합성 DNA, 및 반-합성 DNA를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 개시내용의 "핵산 조성물"은 본원에 기재된 바와 같은 하나 이상의 핵산을 포함한다. 본원에 기재된 바와 같이, 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드는 단일 단백질을 인코딩하는 단일 뉴클레오타이드 서열 (예를 들어, 코돈-최적화된 c-Jun 뉴클레오타이드 서열)을 포함한다 ("모노시스트론"). 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드는 폴리시스트론이다 (즉, 2개 이상의 시스트론을 포함함). 특정 양태에서, 폴리시스트론 폴리뉴클레오타이드의 시스트론 각각은 본원에 개시된 단백질 (예를 들어, AP-1 전사 인자, 키메라 결합 단백질, 또는 EGFRt)을 인코딩할 수 있다. 일부 양태에서, 시스트론 각각은 서로 독립적으로 번역될 수 있다.

[0079] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "폴리펩티드"는 달리 지시되지 않는 한 펩티드 및 단백질 둘 다를 포함한다.

[0080] 본원에서 사용되는 바와 같이, "코딩 영역", "코딩 서열", 또는 "번역가능 서열"은 아미노산으로 번역가능한 코돈으로 이루어진 폴리뉴클레오타이드의 일부이다. "정지 코돈" (TAG, TGA 또는 TAA)은 전형적으로 아미노산으로 번역되지 않음에도 불구하고, 이는 코딩 영역의 부분으로 간주될 수 있지만, 임의의 플랭킹 서열, 예를 들어 프로모터, 리보솜 결합 부위, 전사 종결자, 인트론 등은 코딩 영역의 부분이 아니다. 코딩 영역의 경계는 전형적으로 생성된 폴리펩티드의 아미노 말단을 인코딩하는 5' 말단에서의 시작 코돈, 및 생성된 폴리펩티드의 카르복실 말단을 인코딩하는 3' 말단에서의 번역 정지 코돈에 의해 결정된다.

[0081] 용어 "상보적인" 및 "상보성"은 왓슨-크릭(Watson-Crick) 염기-쌍 규칙에 의해 서로 관련된 2개 이상의 올리고머 (즉, 각각 핵염기 서열을 포함함), 또는 올리고머와 표적 유전자 사이를 지칭한다. 예를 들어, 핵염기 서열 "T-G-A (5'에서 3')", 핵염기 서열 "A-C-T (3'에서 5')에 대해 상보적이다. 상보성은 "부분적"일 수 있고, 여기서는 주어진 핵염기 서열의 전체 미만의 핵염기가 염기 쌍 규칙에 따라 다른 핵염기 서열에 매칭된다. 예를 들어, 일부 양태에서, 주어진 핵염기 서열과 다른 핵염기 서열 사이의 상보성은 약 70%, 약 75%, 약 80%, 약 85%, 약 90%, 또는 약 95%일 수 있다. 따라서, 특정 양태에서, 용어 "상보적인"은 표적 핵산 서열 (예를 들어, c-Jun-인코딩 핵산 서열)에 대한 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 매치 또는 상보성을 지칭한다. 또는, 계속 예를 들자면 주어진 핵염기 서열과 다른 핵염기 서열 사이에 "완전한" 또는 "완벽한" (100%) 상보성이 존재할 수 있다. 일부 양태에서, 핵염기 서열 사이의 상보성의 정도는 서열 사이의 하이브리드화의 효율 및 강도에 상당한 영향을 미친다.

[0082] 용어 "발현"은 본원에서 사용되는 바와 같이 폴리뉴클레오타이드가 유전자 생성물, 예를 들어, AP-1 전사 인자를 생성하는 과정을 지칭한다. 이는, 제한 없이, 메신저 RNA (mRNA)로의 폴리뉴클레오타이드의 전사 및 폴리펩티드로의 mRNA의 번역을 포함한다. 발현은 "유전자 생성물"을 생성한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 유전자 생성물은 핵산, 예를 들어, 유전자의 전사에 의해 생성된 메신저 RNA, 또는 전사로부터 번역된 폴리펩티드일 수 있다. 본원에 기재된 유전자 생성물은 전사후 변형, 예를 들어, 폴리아데닐화 또는 스플라이싱을 갖는 핵산, 또는 번역후 변형, 예를 들어 메틸화, 글리코실화, 지질의 첨가, 다른 단백질 서브유닛과의 회합, 또는 단백질분해 절단을 갖는 폴리펩티드를 추가로 포함한다.

[0083] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "동일성"은 중합체 분자 사이, 예를 들어, 폴리뉴클레오타이드 분자 사이의 전체적 단량체 보존을 지칭한다. 임의의 추가 수식어가 없는 "동일한"이라는 용어, 예를 들어, 폴리뉴클레오타이드 A는 폴리뉴클레오타이드 B와 동일함은, 폴리뉴클레오타이드 서열이 100% 동일함 (100% 서열 동일성)을 의미한다.

예를 들어 "70% 동일한"으로 2개의 서열을 기재하는 것은, 이들을, 예를 들어 "70% 서열 동일성"을 갖는 것으로 기재하는 것과 동등하다. "참조 뉴클레오타이드 서열"은, 본원에서 개시내용의 뉴클레오타이드 서열과의 비교로서 사용되는 경우, 서열이 최적화되지 않은 것을 제외하고 개시내용의 뉴클레오타이드 서열과 본질적으로 동일한 폴리뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 예를 들어, 일부 양태에서, 참조 뉴클레오타이드 서열은 서열 번호: 11에 기재된 야생형 *JUN* 핵산 서열을 포함한다.

[0084] 2개의 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오타이드 서열의 퍼센트 동일성의 계산은, 예를 들어, 최적 비교를 위해 2개의 서열을 정렬시킴으로써 수행될 수 있다 (예를 들어, 최적 정렬을 위해 제1 및 제2 폴리펩티드 또는 폴리뉴클레오타이드 서열 중 하나 또는 둘 다에 갭이 도입될 수 있고 동일하지 않은 서열은 비교 목적상 무시될 수 있음). 특정 양태에서, 비교를 위해 정렬된 서열의 길이는 참조 서열의 길이의 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100%이다. 이어서, 상응하는 아미노산 위치에서의 아미노산, 또는 폴리뉴클레오타이드의 경우에는 염기가 비교된다.

[0085] 제1 서열에서의 위치가 제2 서열에서의 상응하는 위치와 동일한 아미노산 또는 뉴클레오타이드에 의해 점유되는 경우, 분자는 그 위치에서 동일하다. 2개의 서열 사이의 퍼센트 동일성은, 2개의 서열의 최적 정렬을 위해 도입되어야 하는 갭의 수, 및 각각의 갭의 길이를 고려하여, 서열에 의해 공유된 동일한 위치의 수의 함수이다. 서열의 비교 및 2개의 서열 사이의 퍼센트 동일성의 결정은 수학적 알고리즘을 사용하여 달성될 수 있다.

[0086] 상이한 서열 (예를 들어, 폴리뉴클레오타이드 서열)을 정렬하는 데 사용될 수 있는 적합한 소프트웨어 프로그램은 다양한 공급원으로부터 이용가능하다. 퍼센트 서열 동일성을 결정하기 위한 하나의 적합한 프로그램은 미국 정부의 국립 생명공학 정보 센터 BLAST 웹 사이트 (blast.ncbi.nlm.nih.gov)로부터 이용가능한 프로그램의 BLAST 제품군의 부분인 b12seq이다. B12seq는 BLASTN 또는 BLASTP 알고리즘을 사용하여 두 서열 사이의 비교를 수행한다. BLASTN은 핵산 서열을 비교하는 데 사용되는 반면, BLASTP는 아미노산 서열을 비교하는 데 사용된다. 다른 적합한 프로그램은, 예를 들어, 생물정보학 프로그램의 EMBOSS 제품군의 부분이며, worldwideweb.ebi.ac.uk/Tools/psa에서 유럽 생물정보학 연구소 (EBI)로부터 또한 이용가능한 Needle, Stretcher, Water, 또는 Matcher이다.

[0087] 서열 정렬은 MAFFT, Clustal (ClustalW, Clustal X 또는 Clustal Omega), MUSCLE 등과 같은 당업계에 공지된 방법을 사용하여 수행될 수 있다.

[0088] 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩티드 참조 서열과 정렬되는 단일 폴리뉴클레오타이드 또는 폴리펩티드 표적 서열 내의 상이한 영역은 각각 그들 자체의 퍼센트 서열 동일성을 가질 수 있다. 퍼센트 서열 동일성 값은 소수점 첫째 자리까지 반올림됨을 인지한다. 예를 들어, 80.11, 80.12, 80.13, 및 80.14는 80.1로 반올림되며, 80.15, 80.16, 80.17, 80.18, 및 80.19는 80.2로 반올림된다. 또한, 길이 값은 항상 정수임을 인지한다.

[0089] 특정 양태에서, 제2 아미노산 서열 (또는 핵산 서열)에 대한 제1 아미노산 서열 (또는 핵산 서열)의 백분율 동일성 (%ID)은 $\%ID = 100 \times (Y/Z)$ 로서 계산되며, 여기서 Y는 제1 및 제2 서열의 정렬 (육안 검사 또는 특정 서열 정렬 프로그램에 의해 정렬됨)에서 동일한 매치로 점수화된 아미노산 잔기 (또는 핵염기)의 수이고 Z는 제2 서열 내의 잔기의 총 수이다. 제1 서열의 길이가 제2 서열보다 더 긴 경우, 제1 서열과 제2 서열의 퍼센트 동일성은 제1 서열에 대한 제2 서열의 퍼센트 동일성보다 더 높을 것이다.

[0090] 당업자는, 퍼센트 서열 동일성의 계산을 위한 서열 정렬의 생성이 1차 서열 데이터에 의해 배타적으로 구동되는 이원 서열-서열 비교로 제한되지 않음을 이해할 것이다. 구조적 데이터 (예를 들어, 결정학적 단백질 구조), 기능적 데이터 (예를 들어, 돌연변이의 위치), 또는 계통발생 데이터와 같은 이중 공급원으로부터의 데이터와 서열 데이터를 통합함으로써 서열 정렬이 생성될 수 있음을 또한 이해할 것이다. 다중 서열 정렬을 생성하기 위해 이중 데이터를 통합하는 적합한 프로그램은 worldwideweb.tcoffee.org에서 이용가능한, 또한 대안적으로, 예를 들어, EBI로부터 이용가능한 T-Coffee이다. 또한, 퍼센트 서열 동일성을 계산하는 데 사용되는 최종 정렬은 자동 또는 수동으로 엄선될 수 있음을 이해할 것이다.

[0091] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "단리된", "정제된", "추출된", 및 그의 문법적 변형은 상호교환가능하게 사용되고, 정제의 하나 이상의 과정을 거친, 본 개시내용의 요망되는 조성물의 제제, 예를 들어, 코돈 최적화된 폴리뉴클레오타이드 또는 코돈 최적화된 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩되는 조작된 세포 발현 단백질의 상태를 지칭한다. 일부 양태에서, 단리 또는 정제는 본원에서 사용되는 바와 같이 오염물을 함유하는 샘플로부터 본 개시내용의 조성물, 예를 들어, 본 개시내용의 코돈 최적화된 폴리뉴클레오타이드의 제거, 부분적 (예를 들어, 분획) 제거 과정이다.

- [0092] 일부 양태에서, 단리된 조성물은 검출가능한 요망되지 않는 활성을 갖지 않거나, 또는 대안적으로, 요망되지 않는 활성의 수준 또는 양이 허용가능한 수준 또는 양이거나 그 미만이다. 다른 양태에서, 단리된 조성물은 허용가능한 양 및/또는 농도 및/또는 활성으로 또는 그 초과로, 본 개시내용의 요망되는 조성물의 양 및/또는 농도를 갖는다. 다른 양태에서, 단리된 조성물은 조성물이 수득되는 출발 물질과 비교하여 풍부하다. 이러한 풍부는 출발 물질과 비교하여 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 적어도 약 99.9%, 적어도 약 99.99%, 적어도 약 99.999%, 적어도 약 99.9999%, 또는 그 초과만큼일 수 있다.
- [0093] 일부 양태에서, 단리된 제제는 생물학적 잔류 생성물을 실질적으로 갖지 않는다. 일부 양태에서, 단리된 제제는 임의의 생물학적 오염 물질을 100% 갖지 않거나, 적어도 약 99% 갖지 않거나, 적어도 약 98% 갖지 않거나, 적어도 약 97% 갖지 않거나, 적어도 약 96% 갖지 않거나, 적어도 약 95% 갖지 않거나, 적어도 약 94% 갖지 않거나, 적어도 약 93% 갖지 않거나, 적어도 약 92% 갖지 않거나, 적어도 약 91% 갖지 않거나, 또는 적어도 약 90% 갖지 않는다. 생물학적 잔류 생성물은 비생물적 물질 (화학물질 포함) 또는 원치않는 핵산, 단백질, 지질, 또는 대사를 포함할 수 있다.
- [0094] 용어 "연결된"은 본원에서 사용되는 바와 같이, 각각, 제2 아미노산 서열 또는 폴리뉴클레오타이드 서열에 공유 또는 비-공유 결합된 제1 아미노산 서열 또는 폴리뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 제1 아미노산 또는 폴리뉴클레오타이드 서열은 제2 아미노산 또는 폴리뉴클레오타이드 서열에 직접 연결되거나 병치될 수 있거나, 또는 대안적으로 개재 서열이 제1 서열을 제2 서열에 공유 결합시킬 수 있다. 용어 "연결된"은 5'-말단 또는 3'-말단에서의 제2 폴리뉴클레오타이드 서열에 대한 제1 폴리뉴클레오타이드 서열의 융합뿐만 아니라 제2 폴리뉴클레오타이드 서열 (또는 각각 제1 폴리뉴클레오타이드 서열) 내의 임의의 2개의 뉴클레오타이드로의 전체 제1 폴리뉴클레오타이드 서열 (또는 제2 폴리뉴클레오타이드 서열)의 삽입도 포함한다. 제1 폴리뉴클레오타이드 서열은 포스포디에스테르 결합 또는 링커에 의해 제2 폴리뉴클레오타이드 서열에 연결될 수 있다. 링커는, 예를 들어, 폴리뉴클레오타이드일 수 있다.
- [0095] "투여"는, 당업자에게 공지된 다양한 방법 및 전달 시스템 중 임의의 것을 사용한, 대상체에 대한 치료적 작용제 (예를 들어, 본원에 기재된 핵산 분자)의 물리적 도입을 지칭한다. 예시적 투여 경로는 정맥내, 근육내, 동맥내, 척수강내, 림프내, 병변내, 피막내, 안와내, 심장내, 폐내, 복강내, 기관내, 피하, 표피하, 관절내, 피막하, 지주막하, 척수내, 경막외, 흉골내, 경구, 직장, 국소, 상피, 점막, 비내, 질, 직장, 설하 투여 및 이들의 조합을 포함한다. 투여는 또한, 예를 들어, 1회, 복수회, 및/또는 하나 이상의 연장된 기간에 걸쳐 수행될 수 있다.
- [0096] 대상체의 "치료" 또는 "요법"은, 질환과 관련된 증상, 합병증, 병태, 또는 생화학적 징후의 발병, 진행, 발달, 중증도, 또는 재발의 역전, 경감, 개선, 억제, 둔화, 또는 예방을 목적으로 대상체에 대해 수행되는 임의의 유형의 개입 또는 과정, 또는 그에 대한 활성 작용제의 투여를 지칭한다.
- [0097] 본원에서 사용되는 바와 같이, 뉴클레오타이드 서열과 관련하여 용어 "최적화된"은, 해당 폴리뉴클레오타이드 서열의 특성을 향상시키도록 돌연변이된, 폴리펩티드를 인코딩하는 폴리뉴클레오타이드 서열을 지칭한다. 일부 양태에서, 최적화는 전사 수준을 증가시키거나, 번역 수준을 증가시키거나, 정상-상태 mRNA 수준을 증가시키거나, 일반 전사 인자와 같은 조절 단백질의 결합을 증가 또는 감소시키거나, 스플라이싱을 증가 또는 감소시키거나, 폴리뉴클레오타이드 서열에 의해 생성된 폴리펩티드의 수율을 증가시키기 위해 수행된다. 폴리뉴클레오타이드 서열의 최적화를 위해 그에 대해 이루어질 수 있는 변화의 예는 코돈 최적화, G/C 함량 최적화, 반복 서열의 제거, AT 풍부 요소의 제거, 암호(cryptic) 스플라이스 부위의 제거, 전사 또는 번역을 억제하는 시스-작용 요소의 제거, poly-T 또는 poly-A 서열의 추가 또는 제거, Kozak 컨센서스 서열과 같은 전사를 향상시키는 전사 시작 부위 주변의 서열 추가, 스텝 루프 구조를 형성할 수 있는 서열의 제거, 탈안정화 서열의 제거, 및 이들 둘 이상의 조합을 포함한다. 이러한 최적화에 관한 추가의 개시내용은 본 개시내용 전반에 걸쳐 제공된다.
- [0098] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "프로모터"는 코딩 서열 또는 기능적 RNA의 발현을 제어할 수 있는 DNA 서열을 지칭한다. 일반적으로, 코딩 서열은 프로모터 서열에 대해 3'에 위치한다. 프로모터는 네이티브 유전자로부터 전체적으로 유래될 수 있거나, 자연에서 발견되는 상이한 프로모터로부터 유래된 상이한 요소로 구성되거나, 또는 심지어 합성 DNA 세그먼트를 포함할 수 있다. 상이한 프로모터가 상이한 조직 또는 세포 유형에서, 또는 상이한 발달 단계에서, 또는 상이한 환경적 또는 생리학적 조건에 대한 반응으로, 유전자의 발현을 지시할 수 있음이 당업자에 의해 이해된다. 대부분의 경우 대부분의 세포 유형에서 유전자가 발현되도록 하는 프로모터

는 통상적으로 "구성적 프로모터"로서 언급된다. 유전자가 특정 세포 유형에서 발현되도록 하는 프로모터는 통상적으로 "세포-특이적 프로모터" 또는 "조직-특이적 프로모터"로서 언급된다. 발달 또는 세포 분화의 특정 단계에서 유전자가 발현되도록 하는 프로모터는 통상적으로 "발달-특이적 프로모터" 또는 "세포 분화-특이적 프로모터"로서 언급된다. 프로모터를 유도하는 작용제, 생물학적 분자, 화학물질, 리간드, 빛 등으로의 세포의 노출 또는 처리 후에 유도되어 유전자가 발현되도록 하는 프로모터는 통상적으로 "유도성 프로모터" 또는 "조절가능 프로모터"로서 언급된다. 또한 대부분의 경우, 조절 서열의 정확한 경계가 완전히 정의되지 않았기 때문에, 상이한 길이를 갖는 DNA 단편이 동일한 프로모터 활성을 가질 수 있음이 인식된다.

[0099] 개시내용의 다양한 양태가 하기 하위섹션에서 더욱 상세히 기재된다.

[0100] **c-Jun 발현 뉴클레오티드 서열**

[0101] c-Jun (또한 본원에서 "AP-1 전사 인자" 또는 "AP-1"로서 언급됨)은 활성화 단백질-1 (AP-1) 패밀리에 속하는 종양형성 전사 인자이다. 이는 다양한 단백질 (예를 들어, c-Fos)과 상호작용하여 세포 증식 및 종양 진행을 포함한 다양한 범위의 세포 신호전달 경로를 조절하는 이량체 복합체를 형성한다. 따라서, 증가된 c-Jun 발현이 특정 암에서 관찰되었고, 이러한 암을 치료하기 위한 c-Jun 길항제 개발에 많은 관심이 있어 왔다. 예를 들어, 하기 문헌 참조: Brennan, A., *et al.*, *J Exp Clin Cancer Res* 39(1): 184 (Sep. 2020).

[0102] 인간에서, c-Jun 단백질은 염색체 1 (GenBank 수탁 번호 NC_000001.11의 뉴클레오티드 58,780,791 내지 58,784,047, 마이너스 가닥 배향)에 위치한 *JUN* 유전자에 의해 인코딩된다. *JUN* 유전자, 및 그의 인코딩된 단백질의 동의어가 공지되어 있고, 이는 "Jun 원종양유전자, AP-1 전사 인자 서브유닛", "v-Jun 조류 육종 바이러스 17 종양유전자 상동체", "전사 인자 AP-1", "Jun 종양유전자", "AP-1", "Jun 활성화 도메인 결합 단백질", "p39", 및 "인헨서-결합 단백질 AP1"을 포함한다. 야생형 인간 c-Jun 단백질 서열은 331개 아미노산 길이이다. 야생형 인간 c-Jun의 아미노산 및 핵산 서열이 각각 표 1 및 2에 제공되어 있다.

[0103] **표 1. c-Jun 단백질 서열**

야생형 인간 c-Jun (UniProt: P05412-1) (서열 번호: 13)	MTAKMETTFYDDALNASFLPSESGBPYSNPKILKQSMTLNLADPVGSLKPHLRAKNSDL LTSPDVGLLKLASPELERLIQSSNGHITTTPTPTQFLCPKNVTDEQEGFAEGFVRALAE LHSQNTLPSTSAAPVNGAGMVAAPAVASVAGSGSGGFSASLHSEPPVYANLSNFNPGA LSSGGGAPSYGAAGLAFFAQPQQQQPPHLPQQMPVQHPRLQALKEEPQTVPEMPGETP PLSPIDMESQERIKAEKRMRNRRIAASKCRKRKLERIARLEEKVKTLKAQNSELASTANM LREQVAQLKQKVMNHVNSGCQLMLTQQLQTF
--	---

[0104]

[0105] 표 2. c-Jun 핵산 서열

야생형 JUN (GenBank 수탁 번호 NM_00222 8.4) (서열 번호: 12) * 코딩 영역은 굵게 나타나 있고 대문자로 표시됨 (서열 번호: 11)	gctcagagttgcaactgagtggtggaagcagcagggcgggagtgagggtgcgcggagtcaggcagacagacacagccagccagccaggtcgccagctatagtcggaactgcaaa ctctattttttttttacattctcttaactgcccagagctagcgcctgtggctcccggtg ctgggtgtttcgggagtggtccagagagcctggtctccagccgccccgggagggagagcc tgctgcccagggcgtgttgacagcggcggaagacagcgggtaccacgcgcgcgcggg gaagtgcggcagcggctgcagcagcaagaactttcccggtgggaggaccggagagaaa gtggcagagtcgggagccaaacttttgaagcctttctcgctcttaggtctctccacg gcggtaagaccagaaggcggcgagagccacgcaagagaagaaggacgtgcgtcagc ttcgctgcacccggtgttgaaacttgggcagcgcgagccgcggctgcccgggcgcgc tccccctagcagcgggaggggacaagtgcgcggagtcgggcccgaagaccgcgcg ccggccggccactgcagggtccgcactgatccgctccgggggagagccgctgctctgg gaagtgtggttcgctgcggactccgaggaaccgctgcgcacgaagagcgtcagtgagt gacccgcgacttttcaaagccgggtagcgcgcgcgagtcgacaagtaagagtgcgggagg catcttaattaacccctgcgtccctggagcgcgagctggtagggaggggcgcagcgggacg acagccagcgggtgcgtgcgtcttagagaaaactttccctgtcaaaagctccggggggc gcgggtgtcccccgcgttgcacagccctgttgggccccgaaaacttgtgcgcgcagccc aaactaacctcacgtgaagtgcggactgttctATGACTGCAAAAGATGGAAACGACCTT CTATGACGATGCCCTCAACGCCCTCGTTCCTCCCGTCCGAGAGCGGACCTTATGGCTACA GTAACCCCAAGATCCTGAAACAGAGCATGACCTGAACTGGCCGACCCAGTGGGGAGC CTGAAGCCGCACCTCCCGGCCAAGAAGCTCGGACCTCCTACCTCGCCCGACGTGGGGCT GCTCAAGCTGGCGTCGCCCGAGCTGGAGCGCCTGATAATCCAGTCCAGCAACGGGCACA TCACCACACGCCGACCCCAACCCAGTTCCTGTGCCCCAAGAACGTGACAGATGAGCAG GAGGGCTTCGCCGAGGGCTTCGTGCGCGCCCTGGCCGAAGTGCACAGCCAGAACACGCT GCCCAGCGTCACGTCCGGCGGCAGCCGGTCAACGGGGCAGGCATGGTGGCTCCCGCGG TAGCCTCGGTGGCAGGGGGCAGCGGCAGCGCGGCTTCAGCGCCAGCCTGCACAGCGAG CCGCCGGTCTACGCAAACTCAGCAACTCAACCCAGGCGCGCTGAGCAGCGCGCGG GGCGCCCTCTACGGCGCGCGCGCCCTGGCCTTTCCCGCGCAACCCAGCAGCAGCAGC AGCGCCGCGCACCACTGCCCGAGCAGATGCCCGTGCAGCACCCGCGGCTGCAGGCGCTG AAGGAGGAGCCTCAGACAGTGGCCGAGATGCCCGGCGAGACACCGCCCTGTCCCCAT CGACATGGAGTCCAGGAGCGGATCAAGCGGAGAGGAAGCGCATGAGGAACCGCATCG CTGCCTCCAAGTGC CGAAAAGGAAGCTGGAGAGAATCGCCCGGCTGGAGGAAAAGTG AAAACCTTGAAAGCTCAGAACTCGGAGCTGGCGTCCACGGCCACATGCTCAGGGAACA GGTGGCACAGCTTAAACAGAAAGTCATGAACACGTTAACAGTGGGTGCCAACTCATGC TAACGCAGCAGTTGCAACATTTgaagagagacgcgtcgggggctgaggggcaacgaag aaaaaaaaataacacagagagacagacttgagaacttgacaagttgcgacggagagaaaa aagaagtgtccgagaactaaagccaaagggtatccaagttggaactgggttgctgctgac ggcgcccccaagtgtgcacagtgagggaaggacttggcgccctcccttggcgtggagcc agggagcggccgcctgcgggtgcccgccttgcggacgggctgtcccgcgcgaaagg aacgttggacttttcttaacattgaccaagaactgcattggacctaacattcgatctca ttcagtattaaaggggggaggggggaggggttacaaactgcaatagagactgtagattg ctctgtgtactccttaagaacacaaagcgggggaggggttggggagggggcgagga gggaggttgtgagagcgaggtgagccctacagatgaactcttctggcctgccttcgt taactgtgtatgtacatatatatatttttaatttgatgaaagctgattactgtcaata aacagcttcatgcctttgttaagttatttctgtttgtttgtttgggtatcctgccaggt gttgtttgtaataagagatttggagcactctgagtttaaccatttgaataaagtatat aatttttttatgttttgtttctgaaaattccagaaaggatatttaagaaaatacaataa actattgaaagtactccctaacctctttctgcacatctgttagatactagctatct aggtggagttgaaagagtttaagaatgtcgattaaaatcactctcagtgcttcttactat taagcagtaaaaactgttctctattagactttagaataaatgtacctgatgtacctga tgctatggtcagggtatactcctcctccccagctatctatatggaattgcttaccaaa ggatagtgcgagtgttcaggaggtggagggaagggggttcagtgaggagggacagcc cactgagaagtcaaacatttcaaagtgttgattgtatcaagtggcattgtgctgtgaoca tttataagttagtagaaattttacaataggtgcttattctcaagcagggaattggtgg cagattttacaaaagatgtatccttccaatttggaaattctctctttgacaattcctaga taaaaagatggccttggcttatgaattattataacagcattcttgtcacaataaagtga ttcaataaccacaa
---	--

[0106]

[0107] 코돈 최적화

[0108] 본원에 기재된 바와 같이, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드는 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 여기서 뉴클레오티드 서열은 코돈-최적화된 것이다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 기재된 c-Jun 단백질을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 야생형 c-Jun 뉴클레오티드 서열 (예를 들어, 서열 번호: 11)의 것과 상이하다.

[0109] 일부 양태에서, AP-1 전사 인자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 서열 번호: 1 내지 10에 기재된 핵산 서열 중 어느 하나와 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는다. 특정 양태에서, AP-1 전사 인자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 서열 번호: 1 내지 10 중 어느 하나에 기재된 핵산 서열을 포함한다.

[0110] 일부 양태에서, AP-1 전사 인자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 서열 번호: 1에 기재된 핵산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는다. 특정 양태에서, AP-1 전사 인자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 서열

- [0118] 일부 양태에서, AP-1 전사 인자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 서열 번호: 9에 기재된 핵산 서열과 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는다. 특정 양태에서, AP-1 전사 인자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 서열 번호: 9에 기재된 핵산 서열과 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는다. 일부 양태에서, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호: 9에 기재된 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0119] 일부 양태에서, AP-1 전사 인자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 서열 번호: 10에 기재된 핵산 서열과 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는다. 특정 양태에서, AP-1 전사 인자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 서열 번호: 10에 기재된 핵산 서열과 적어도 85%, 적어도 86%, 적어도 87%, 적어도 88%, 적어도 89%, 적어도 90%, 적어도 91%, 적어도 92%, 적어도 93%, 적어도 94%, 적어도 95%, 적어도 96%, 적어도 97%, 적어도 98%, 또는 적어도 99% 서열 동일성을 갖는다. 일부 양태에서, 뉴클레오티드 서열은 서열 번호: 10에 기재된 뉴클레오티드 서열을 포함한다.
- [0120] 예시적 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열이 표 3 (하기)에 제공되어 있다.

[0121]

표 3. 코돈-최적화된 c-Jun 뉴클레오타이드 서열

코돈-최적화된 c-Jun 뉴클레오타이드 서열 #1 (서열 번호: 1)	atgacagccaaagatggaaccacattctacgacgacgcctgaacgcctcattcctgc cttctgagagcggaccttacggctacagcaatcctaaagatcctgaaacagagcatgac ccttaacctggctgatcctgttgggaagcctgaaacctcaactgagagccaaaaacagc gacctgtctaccagccctgatgtgggctgctgaagctggcctctccagagctggaac ggctgatcatccagagcagcaacggccacatcacaaacacccctacccctacacaatt cctgtgcccctaagaaactgacccagcagcaggagggttcgcgaaggctttgtgcgg gcccgtggcagaactgcactctcagaacacccctgcctagcgtgacctccgcgcgcagc ctgtcaacggcgccggaatgggtggcccctgcctggcttctgtggcggcgccagcgg cagcggcggtatcagcgcctctctgcactctgagcctcctgtctacgccaatctgtct aatttcaaccccgagccctgtccagcggcgccggagctcctagctacggcgctgtctg gactggccttccccgcccagccccagcaacagcagcagcctccacaccacctgcccga ccagatgcccgtgcagcaccctagactgcaggcctgaaggaaagaaacccaaacagt cctgagatgctggcgagacacccactgagcccatcgacatggaagccaggagc ggatcaaggccgagagaaagagaatgcggaaacagaatcgccgtagcaagtgcagaaa ggcgaagctggaaagaaatcgccagactggaagagaaggtgaagaccctgaaagcccaa aatagcgagctggccagcaccgccaacatgctgcgggaacaggtggcccagctgaagc agaaggtgatgaaccacgtgaactctgggtgtcagctgatgctgacccagcagctcca gaccttc
코돈-최적화된 c-Jun 뉴클레오타이드 서열 #2 (서열 번호: 2)	atgacagccaaagatggaaccaccttctacgacgacgcctcaacgcctccttctgc cttctgagagcggctccttacggctacagcaaccccaagatcctgaagcaaaagcatgac cctgaacctggccgaccccgttggctcctgaaacctcaactgagagccaaaaacagc gacctgtgacccagccctgatgtgggctgctgaagctggcctctccagagctggaaa gactgattatccagagcagcaacggccacatcacccaaacacctacccctacacagtt cctgtgcccctaagaaactgactgatgagcaggagggtttgcgcagggttctgtgaga gcccgtgctgagctgcattctcagaacacccctgcctagcgtgacctctgcccgcgcgc ctgttaatggcgccggcatgggtggcccctgcctggcctctgtggcggaggcagcgg cagcggcggtatcagcgcctctctgcacagcagcgcgcgcctctacgccaacctgagc aatttcaacccctggcgccctgtccagcggcgccggcgcccccctcatatggcgctgcgc gcccgtgcttccccgcctcagccccagcagcagcaacagcctccacaccacctgcccga gcagatgcccgtgcagcaccacccagactgcaggcctgaaggaaacacccagaccgtg cccagagatgctggcgagacccctcctctgagccctatcgacatggaagccaggaga gaatcaaggcccgagaggaagcggatgcggaaacagaatcgccgcagcaagtgcagaaa aagaaagctggaaaggatcgccagactggaggagaaggtgaagacactgaaagcccaa aattctgaactggcctctacgccaatctgctgcgcgagcaggtggctcaactgaagc agaaggtgatgaaccacgtgaacagcggatgtcagctgatgctgacacagcagctgca gactttt
코돈-최적화된 c-Jun 뉴클레오타이드 서열 #3 (서열 번호: 3)	atgacccgccaagatggaaccaccttctacgacgacgcctgaacgcagcctttctgc cttctgagcttgcccccacggctacagcaaccccaagatcctgaagcagagcatgac cctgaacctggccgatcctgtgggcagcctgaaacctcaactgagagccaaagaaacgc gacctgctgacaagccctgatgtgggctgctgaaactggcctctcctgagctggaac ggctgatcatccagagcagcaacggccacatcacccacacacctacaccaacacagtt tctgtgcccgaagacgtgacccagcagcaagagggttcgcgcagggtttgtttaga gcccgtgcccgaactgcacagccagaataacctgctagcgtgacatctgcgcctcagc ctgttaatggcgccggaatgggtgctcctgcctggccttctgttgcctggcgatctgg atctggcggttttagcgcctctctgcactctgagcctccagtgtacgccaacctgagc aactcaacccctggcgctcttagctctgggtggcgagcaactctttagcgcctgcgc gattggcctttcctgctcagcctcagcagcagcaacagcctcctcatcatctgcccga gcagatgctgtgcagcaccctagactgcaggcctgaagaggaaccccgacagctc cctgagatgcccggcgaaacacctcctctgagcccatcgacatggaagccaaagagc ggatcaaggccgagcgggaagcggatgagaaaatagaatcgccgcctccaagtgcgggaa gaggaagctggaagaatcgcccggtggaagagaagtgaaaacccctgaaggccag aactccgagctggcctctacgccaacatgctgagagaaacaggtggcccagctgaaac agaaagtcatgaaccacgtgaacagcggctgccagctgatgctgacacagcagctgca gaccttc
코돈-최적화된 c-Jun 뉴클레오타이드	atgactgccccaaatggagactacattctatgacgacgcctcaatgccagttttttgc cgagtgaatccggccctacggctattcaaacctaaagatcctcaagcaatcaatgac cctcaattctgtgacccagttggctccctgaaaccccatctcagagctaaaaatagt gacctccttacttcccctgatgttggaactcctcaacttgccttctccgaactcgaa gcttgatcattcaattctccaacggccacatcacaaacacccacacccacccagtt cttttggccccaaaaatgtcaccgatgaacaggaaggttttcgcggaaggattcgtccgc

[0122]

서열 #4 (서열 번호: 4)	gcgctggccgaactgcaactccagaatacaacttcttcaagttacgtcagccgcccagc cagtgaaatgggtgcccgaatgggtgtctctgctgggtgcttctgtgcaggggggtccgg ttctggcggatttagcgctctctgcatcccgagccacctgtatatgtcaatctttct aattttaaccccggaacctgttagcggtgggtgccccagctacgggtgctgcag gactcgcttcccagctcaacctcagcagcagcaacaaccccccatcaccttcccca acagatgcccagtagaacaatccaaaggtccagggccctcaaaaggaggaacacagacgggtg ccgaaatgctggcgaaactccaccactttccctattgatatggaatcccaagagc gcatcaaggccgaaagaaagcgaatgcccgaatagaaatagcagcttcaaaatgtagaaa acggaaattggaacgaatgcacgggttggaagaaaaggtagaagacctgaaagccag aacagtgagctcgccctctacgcgtacacatgctgcccagcagcaagtcgcacaacttaagc agaaggtgatgaacctgtgaatagcggatgtcaacttatgctgaotcaacagttgca aaccttt
코돈-최적화된 c- Jun 뉴클레오타이드 서열 #5 (서열 번호: 5)	atgaccgcaaaaatggagacaacattttacgatgatgcactgaacgcctctttttctgc caagtgaatccggccctacggataactcaaacctcaagattctgaaacagttctatgac tctcaacctggccgacccagttggcagttctgaagcctcatttgcgagccaagaatagt gatctgctgactccccagacgtgggactgctgaaactcgctcacctgaacttgagc gcttgattatacagtcacaaatgggcacatcacacaacacctactcctacccagtt tctgtgcccccaaaaacgtcacgatgagcaggagggatttcgccaaggtttgtgcgc gccccgggtgaattgcatagtcagaacactcttcccagcgttaaccagcgccgcccac cagtgaaatggagccgtatgggtgctcccgcggtggctagtgttgcgggggggtcagg ctctgggtgggttcagtgcttctcttcaactgtgaacccctgtgtatgccaactgtct aactttaacctggggccctctctctgtgtgggggtgccccagctacggagcgcccg gctggcctttctctgcccagcctcagcagcagcagcaacccctcatcatcttcgca gcagatgccagtacagcatccacgcctgcaggctcttaaggaggagccccagacgggtg ccgaaatgccccgggaaactccaccttgtccccattgacatggaggtcccagagc ggatcaaggctgaaagaaagaggatgcccgaatgcacatgcagcctctaaatgccgcaa ggcgaacttgagaggatcgcgcggttgaggaaaaagtaaaaccttgaaaggcacag aacctctgagctggcgagtagtgcacaatgctogagagaacaagtgcacagctgaagc agaaagtgatgaacctgtgaacagcgggtgtcagctgatgctgactcagcagctgca gaccttc
코돈-최적화된 c- Jun 뉴클레오타이드 서열 #6 (서열 번호: 6)	atgaccgcaaaatggagaccacatttctacgatgacgctctgaacgcttctttctgc cttcgagtcggccctacggctactccaatcccaagattctgaagcagagcatgac actgaatctggctgatcccggtgggtatctctgaagcctcatctgagagccaagaatcc gatctgctgacaagccccagctgggactgctcaaaactggccagccccgaactggaga ggctcattatccagagctccaacggccacatcacacaacacctaccctacccagtt tctctgtcccaagaacgtgacagacgagcaagagggatttgcggaaggcttcgtgaga gcctcgccgaactgcatagccagaacacactgcttccgtgaccagcgctgctcaac ccgtgaacggcgctggcatgggtgctcccgccgtcgccagcgtggctggaggaaagcgg atccggaggcttcagcgttccctccacagcgaacctcccggtgtacgctaattctgagc aacttaacccccggcgctctgagcagcggaggaggagctcctagctatggagctgccg gactggcttttccgcccagccccagcagcagcagcagcccccccatcatctgctca gcagatgcccgtgcagcatccagactccaagctctgaaggaggagcctcagacccgtc cccagagatgccccgggaaacccccctctgtcccccatcgacatggaaagccaagaga ggatcaaggccgagaggaagaggatgaggaatagaatcgccgcagcaagtgtagaaa gaggaagctggagaggatcgccagactggaggagaaggtgaagacccctcaaggctcag aattccgagctggccagcacagccaacatgctgagagagcaagtggcccagctcaagc agaaggtgatgaacctgtgaacagcgggtgtcagctgatgctcaccagcagctgca gaccttc
코돈-최적화된 c- Jun 뉴클레오타이드 서열 #7 (서열 번호: 7)	atgaccgctaaaaatggaaacacatttctatgacgatgcctgaacgcctccttcttc cgtccgagtcgggacctacggataactcaaatcccaagattctcaaacagtcgatgac cctcaacctggccgaccccggtgggtacccctgaagccgcacttgcgcgccaagaactcc gacctcctgacgagcccagacgtgggctgctgaagctcgcatccccgaacttgagc gggtgatcattcagtcctccaacggacatataccaccactcccacccccactcagtt tctgtgtccgaagaacgtgaccgatgagcaagagggatttcgcccagggattcgtgcgg gccccggcgagctgcatagccagaacaccttccatccgtgacctcgcgcggtcagc ctgtgaacggcgccggaatgggtgcgcgcccggtggcctcggtggccgggggagcgg cagcgggggattttccgctgctgcactccgagccgcccgggtgtacgccaacctgtca aacttcaacctggggccctgagctccggcggttgagcaccttctgacggcgccgctg gctggcggttccccgcgcaaccacagcagcaacagcagccccctcaccacctcccca acaaatgctgtgagcaccggaggtgagggccctcaaggagaaccccagactgtg ccgaaatgcccggggagactccgcgctgtccctatcgacatggaatcacaggaac gcattaaaggcagacgggaagcgcagtcgggaacccggatttcgcccctcaagtgccgcaa gagaaagctcgaaagaatcgccagattggaagaaaaggtcaagactctgaaggccag

	aactctgagctggcatccaccgctaataatgctgaggggaacaagtggcccagctgaaac agaaggtcatgaaccaagtcacacagcggttgccagctgatgctgaccagcaactcca gacattc
코돈-최적화된 c- Jun 뉴클레오티드 서열 #8 (서열 번호: 8)	atgacggcccaagatggagaccacettctacgacgacgcccgaacgcccagcttctgc ccagcgagagcggaacctacggctactctaaccaccaagatcctgaaacagagcatgac actgaatctggccgaccccgctggcgagcctgaagcctcaccttagagccaagaacagc gacctgctgacacgccccgaagctgggctgctgaagctcgccctctccagagttagaga gactgatcatccagtcacgcaacggccacatcaacaccccccaaccctacccagtt cctgtgcccccaagaacgtgacgacgagcaggagggtcttcgcccagggtcttctgtgaga gcccctggcgagttgcaactctcagaacaccctgcccctccgtgacacagcgccgctcaac ctgtgaacggcgaggaatggttgcctcctgcccgtggccagcggttgacggcgagatctgg aagtggagggtctctccgctcccttcacagcgagcctcccggtgtacgccaacctgagc aacttcaacccccggcgccctgagcagtgaggaggcgctccagctatggagcagctg gattcgaagtcctcccgcccagccacagcagcagcaacagcctcccccacacctgctca gcaaatgcctgtgcagcacctcggctgcaggcccttaaggaggagccccagaccgtt cctgagatgcctggcgagacccctccctgagccctatcgacatggagtgccagagc ggatcaaggccgagcggaagcggtatgcggaacggatcgctgcttccaaagtgcggaa gagaaagctgtgagagaatcgcccggttgaggagaaaggtgaagaccctgaaggccag aaactccgagctggcctccaccgccaacatgctgcccggagcaggttgacacagctgaagc agaaggtcatgaaccaagtgaaacagcggtgcccagctgatgctgaccagcagctgca gaccttc
코돈-최적화된 c- Jun 뉴클레오티드 서열 #9 (서열 번호: 9)	atgacagcggaagatggagacaacettctatgacgatgctcttaacgctccttctgc cttcgaaagcgggccctacgggtactctaactcctaagatacttaagcaatcgatgac tctcaacctcgctgacccggttggtcactgaacccacacctgagagctaagaatagt gacctgctcactagtcccgatgtcggttctgaagctggcctctcccgagctggaga ggcttatcatccaatcatcaaatggccacatcaccactacccccacacccaactcaatt ccttctgccccaaaaacgtgacgacgaacaggaaggttgcgcccagggttttctgcgg gccttggcgagctgcattctcaaaatacactgccaagcgtcacttctgcggcgagc cggttaacggcgagggatggtggtcctccgcttgcctgagcgtggccggcggttcggg ctccggcggtttctctgctccttgcattctgagccaccagctctacggaacctgtcc aactttaatccggggcgctgagtagcgaggcgggcgccctagctatggggcagctg gactggccttcccgccacacccccacacacacagcaacccgcccacacacatcttctca acaaatgccagtgcacacatccacgcttacaagccctcaaggaggaaacccagaccgtg cctgagatgcccgcgcaaacccccgcatattgagccctattgacatggaaagtcaagaga gaattaaggcagagcgcaagagaatgaggaacggatgcgacatctaaagtccgcaa acggaatggagcggtatgcctgccttgaggagaaaggtcaagactctcaaggcccgag aaactccgagcttgcgagcacagctaataatgctgcgagcaggtggcccagttaaaac aaaaggtcatgaacctgtgaacagcggtgtcagctgatgcttacgcaacagctgca aaccttggctccggtgcacgaaccttcagcctgctgaagcaggccggagatggtgag gaaaatccagggtccc
코돈-최적화된 c- Jun 뉴클레오티드 서열 #10 (서열 번호: 10)	atgacggcccaaatggagactacgttctacgatgacgactcaacgctccttctgc cctctgagatggaccctatggctactccaatccaaagatcctgaagcagctctatgac cctcaacctggcgacccggtgggtcctccttaagccgcaacttgccgcccagaactcc gacctgctgacacctccctgatgtgggctcctcgaagctcgctagccctgaattggaga ggctgatcatccagagctcaaatggccacatcaccacacacacctacccccacccagtt cctgtgccccaaaaaacgtgacgacgagcaggaagggttgcgaggaggttgcagaga gctctggcgagctgcaactcaacagacacgctcccttcctgacacctccgctgccagc cggtcaatggcggtggaatggtggtcctcggtgtggtcctgttgccggcggtccgg ctccggagggttttgcagcttctctgcatcttgagccccccagtgatcagctaacctgagc aacttcaacccccggggcgtcagctccggtggcggtgccccgagctacggcgcggtg ggctggcggttccccgctcagcctcagcagcaacagcaacacctcccccacacctgccaca gcagatgcctgtgcagcacccacgctgcaggcctgaaggaggaaacctcagactgtg ccagagatgccccggcgagacccccacctgtccccgattgacatggagagccaggagc gcatcaaggcagagcgcaagcgtatgcgcaacccgcatcgcggtcctcaagtgcggaaa gcgcaagctggagcggtatgctgcctggaggagaaaggtgaagaccctgaaggccag aatccgagctggcctgcacccgccaacatgctacgagaaacaggtgcgagctgaaac agaaggtcatgaacctgtcaacagcggtgcccagctgatgttgaccagcagcttca gaccttc

[0124]

[0125]

본원에 개시된 AP-1 뉴클레오티드 서열은 당업계에 공지된 임의의 방법을 사용하여 코돈-최적화될 수 있다. 예를 들어, 특정 양태에서, 본원에 개시된 AP-1 뉴클레오티드 서열의 코돈은 야생형 뉴클레오티드 서열 (예를 들어, 서열 번호: 11)과 비교하여 하기 파라미터 중 하나 이상을 변형 (예를 들어, 증가 또는 감소)시키기 위해 최적화되었다: (i) 코돈 적응 지수 (즉, 코돈 사용 편향); (ii) 구아닌-시토신 (GC) 뉴클레오티드 함량; (iii) mRNA 2차 구조 및 불안정 모티프; (iv) 반복 서열 (예를 들어, 직접 반복, 역반복, 다이아드 반복); (v) 제한 효소 인식 부위; 또는 (vi) 이들의 조합.

[0126]

어느 하나의 이론에 얽매이지 않으며, 일부 양태에서, 이러한 코돈 최적화는 뉴클레오티드 서열 (예를 들어, c-Jun)에 의해 인코딩된 단백질의 발현을 증가시킬 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, 본 개시내용의 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열은, 야생형 뉴클레오티드 서열 (예를 들어, 서열 번호: 11)로 트랜스펙션된 세포에서의 상응하는 발현과 비교하여, 인간 세포, 예를 들어, 인간 T 세포로의 트랜스펙션, 형질도입 또는 다른 방식의 도입시 인코딩된 AP-1 전사 인자의 발현을 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, AP-1 전사 인자의 발현은 야생형 뉴클레오티드 서열 (예를 들어, 서열 번호: 11)으로 발현하도록 트랜스펙션, 형질도입, 또는 다른 방식으로 유전적으로 변형된 세포 (즉, "참조 세포")에서의 상응하는 발현과 비교하여 적어도 약 1배, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배, 적어도 약 13배, 적어도 약 14배, 적어도 약 15배, 적어도 약 16배, 적어도 약 17배, 적어도 약 18배, 적어도 약 19배, 적어도 약 20배, 적어도 약 25배, 적어도 약 30배, 적

어도 약 35배, 적어도 약 40배, 적어도 약 45배, 적어도 약 50배, 적어도 약 75배, 적어도 약 100배, 적어도 약 200배, 적어도 약 300배, 적어도 약 400배, 적어도 약 500배, 적어도 약 750배, 또는 적어도 약 1,000배 또는 그 초과만큼 증가한다. 일부 양태에서, c-Jun 폴리펩티드의 발현은 참조 세포와 비교하여 약 1배, 약 2배, 약 3배, 약 4배, 약 5배, 약 6배, 약 7배, 약 8배, 약 9배- 또는 약 10배만큼 증가한다.

[0127] 일부 양태에서, AP-1 전사 인자의 증가된 발현은 트랜스펙션된 세포 (예를 들어, 면역 세포, 예를 들어, T 세포, 예컨대 CD4+ 및/또는 CD8+ T 세포)의 하나 이상의 특성을 개선하고/하거나 향상시킬 수 있다. 이러한 특성의 비-제한적 예는 하기를 포함한다: 고갈에 대한 저항성 (예를 들어, PD-1, CD39, TIM-3, 및/또는 LAG-3 등의 고갈 마커의 감소된 발현에 의해 나타남; 증가된 생존; 및/또는 증가된 시토카인 생성), 증가된 지속성/생존, 증가된 확장/증식, 향상된 이펙터 기능 (예를 들어, 항원 자극시 시토카인 생성, 표적 항원을 발현하는 세포의 용해, 또는 이들 둘 다), 또는 이들의 조합.

[0128] 고갈, 세포 표현형, 지속성, 세포독성 및/또는 사멸, 증식, 시토카인 생성/방출, 및 유전자 발현 프로파일의 측정을 위해 유용한 검정은 당업계에 공지되어 있고, 이는, 예를 들어 하기를 포함한다: 유동 세포계측, 세포내 시토카인 염색 (ICS), INCUCYTE[®] 면역 세포 사멸 분석, MSD (Meso Scale Discovery) 또는 유사한 검정, 지속적 항원 자극 검정, 벌크 및 단일 세포 RNAseq (예를 들어, 하기 문헌 참조: *Fron Genet.* 2020; 11:220; 2019 *Bioinformatics* 35:i436-445; 2019 *Annual Review of Biomed. Data Sci.* 2:139-173), 세포독성/사멸 검정, ELISA, 웨스턴 블롯 및 본원에 기재된 것과 같은 또는 예를 들어 하기 문헌 또는 다른 부분에 기재된 바와 같은 다른 표준 분자 및 세포 생물학 방법: *Current Protocols in Molecular Biology* or *Current Protocols in Immunology* (John Wiley & Sons, Inc., 1999-2021).

[0129] 일부 양태에서, AP-1 전사 인자의 증가된 발현은 고갈에 대한 세포의 저항성을 증가시킨다. 일부 양태에서, 고갈에 대한 저항성은 참조 세포 (예를 들어, 증가된 AP-1 발현을 갖도록 변형되지 않은 상응하는 세포)와 비교하여 적어도 약 1배, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배, 적어도 약 13배, 적어도 약 14배, 적어도 약 15배, 적어도 약 16배, 적어도 약 17배, 적어도 약 18배, 적어도 약 19배, 적어도 약 20배, 적어도 약 25배, 적어도 약 30배, 적어도 약 35배, 적어도 약 40배, 적어도 약 45배, 적어도 약 50배, 적어도 약 75배, 적어도 약 100배, 적어도 약 200배, 적어도 약 300배, 적어도 약 400배, 적어도 약 500배, 적어도 약 750배, 또는 적어도 약 1,000배 또는 그 초과만큼 증가한다.

[0130] 일부 양태에서, AP-1 전사 인자의 과발현은 고갈된 세포에서 고갈을 감소시킬 수 있다. 특정 양태에서, AP-1 전사 인자의 증가된 발현은 참조 세포 (예를 들어, 증가된 AP-1 발현을 갖도록 변형되지 않은 상응하는 세포)와 비교하여 고갈을 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 또는 약 100%만큼 감소시킬 수 있다.

[0131] 일부 양태에서, AP-1 전사 인자의 증가된 발현은, 예를 들어, 생체내에서 대상체에게 투여시, 세포의 지속성/생존을 증가시킬 수 있다. 특정 양태에서, 세포의 지속성/생존은 참조 세포 (예를 들어, 증가된 AP-1 발현을 갖도록 변형되지 않은 상응하는 세포)와 비교하여 적어도 약 1배, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배, 적어도 약 13배, 적어도 약 14배, 적어도 약 15배, 적어도 약 16배, 적어도 약 17배, 적어도 약 18배, 적어도 약 19배, 적어도 약 20배, 적어도 약 25배, 적어도 약 30배, 적어도 약 35배, 적어도 약 40배, 적어도 약 45배, 적어도 약 50배, 적어도 약 75배, 적어도 약 100배, 적어도 약 200배, 적어도 약 300배, 적어도 약 400배, 적어도 약 500배, 적어도 약 750배, 또는 적어도 약 1,000배 또는 그 초과만큼 증가한다.

[0132] 일부 양태에서, AP-1 전사 인자의 증가된 발현은, 예를 들어, 항원 자극시, 세포의 확장/증식을 증가시킬 수 있다. 특정 양태에서, 세포의 확장/증식은 참조 세포 (예를 들어, 증가된 AP-1 발현을 갖도록 변형되지 않은 상응하는 세포)와 비교하여 적어도 약 1배, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배, 적어도 약 13배, 적어도 약 14배, 적어도 약 15배, 적어도 약 16배, 적어도 약 17배, 적어도 약 18배, 적어도 약 19배, 적어도 약 20배, 적어도 약 25배, 적어도 약 30배, 적어도 약 35배, 적어도 약 40배, 적어도 약 45배, 적어도 약 50배, 적어도 약 75배, 적어도 약 100배, 적어도 약 200배, 적어도 약 300배, 적어도 약 400배, 적어도 약 500배, 적어도 약 750배, 또는 적어도 약 1,000배 또는 그 초과만큼 증가된다.

[0133] 일부 양태에서, AP-1 전사 인자의 증가된 발현은 세포의 이펙터 기능, 예를 들어, 증가된 시토카인 생성, 그랜자임 방출, 및/또는 세포독성을 증가시킬 수 있다. 특정 양태에서, 세포의 이펙터 기능은 참조 세포 (예를 들어, 증가된 AP-1 발현을 갖도록 변형되지 않은 상응하는 세포)와 비교하여 적어도 약 1배, 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 적어도 약 10배, 적어도 약 11배, 적어도 약 12배, 적어도 약 13배, 적어도 약 14배, 적어도 약 15배, 적어도 약 16배, 적어도 약 17배, 적어도 약 18배, 적어도 약 19배, 적어도 약 20배, 적어도 약 25배, 적어도 약 30배, 적어도 약 35배, 적어도 약 40배, 적어도 약 45배, 적어도 약 50배, 적어도 약 75배, 적어도 약 100배, 적어도 약 200배, 적어도 약 300배, 적어도 약 400배, 적어도 약 500배, 적어도 약 750배, 또는 적어도 약 1,000배 또는 그 초과만큼 증가된다.

[0134] T 세포에서 c-Jun의 과발현은, 예를 들어, T 세포 기능장애 (예를 들어, T 세포 고갈)를 경감시키거나 예방함으로써, 세포의 활성 상태를 지속시키는 것을 돕는다. 본원에 기재된 코돈 최적화된 c-Jun을 사용하여 면역 세포, 예컨대 T 세포를 조작할 수 있고, 이어서 이는 요망되는 표적 세포 (예를 들어, 내인성 TCR의 표적 또는 본원에 기재된 바와 같은 키메라 결합 단백질의 표적)에 대하여 지속적인 강력한 세포독성을 나타낸다. c-Jun을 과발현하지 않는 T 세포와 비교하여, 본원에 개시된 코돈 최적화된 c-Jun을 과발현하는 조작된 T 세포는 T 세포 고갈의 징후를 더 적게 나타낸다.

[0135] 코돈 사용 편향

[0136] 계속 증가하는 발현 시스템 및 재조합 DNA 기술의 지식에도 불구하고, 선택된 세포에서 특정 유전자 (예를 들어, 외래 또는 합성)를 발현하는 데 상당한 장애물이 존재한다. 예를 들어, 합성 유전자의 발현은 강한 프로모터와 커플링된 경우에도 종종 예상되는 것보다 훨씬 낮은 효율 또는 동역학으로 발생한다. 이는 세포에 대해 이질적인 외인성 유전자의 경우에도 빈번히 그러하다. 일부 양태에서, 이러한 예상보다 낮은 발현 효율은 단백질이 발현되고 있는 세포에서의 코돈 사용 패턴과 유사하지 않은 코돈 사용 패턴을 갖는 유전자의 단백질 코딩 영역에 기인한다.

[0137] 따라서, 일부 양태에서, 본원에 개시된 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열은 야생형 뉴클레오티드 서열 (예를 들어, 서열 번호: 11)에 비해 증가된 인간 코돈 적응 지수를 갖는다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "코돈 적응 지수"는 코돈 사용 편향의 척도를 지칭한다. 코돈 적응 지수 (CAI)는 유전자의 참조 세트에 대해 주어진 단백질 코딩 유전자 서열의 편차를 측정한다 (Sharp PM and Li WH, *Nucleic Acids Res.* 15(3):1281-95 (1987)). CAI는 (코돈 단위로 측정된) 유전자 서열의 길이에 걸친 각각의 코돈과 관련된 가중치의 기하 평균을 결정함으로써 계산된다:

$$[0138] \quad CAI = \exp(1/L \sum_{i=1}^L \ln(w_i(l))), \quad (I)$$

[0139] 각각의 아미노산에 대하여, CAI에서 그의 코돈 각각의 가중치는 관찰된 코돈의 빈도 (f_i)와 그 아미노산의 동의어 코돈의 빈도 (f_j) 사이의 비율로서 산출된다:

$$[0140] \quad w_i = \frac{f_i}{\max(f_j)} \quad i, j \in [\text{아미노산의 동의어 코돈}] \quad (II)$$

[0141] 일부 양태에서, 본원에 개시된 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열은 적어도 약 0.75 (75%), 적어도 약 0.76 (76%), 적어도 약 0.77 (77%), 적어도 약 0.78 (78%), 적어도 약 0.79 (79%), 적어도 약 0.80 (80%), 적어도 약 0.81 (81%), 적어도 약 0.82 (82%), 적어도 약 0.83 (83%), 적어도 약 0.84 (84%), 적어도 약 0.85 (85%), 적어도 약 0.86 (86%), 적어도 약 0.87 (87%), 적어도 약 0.88 (88%), 적어도 약 0.89 (89%), 적어도 약 0.90 (90%), 적어도 약 0.91 (91%), 적어도 약 0.92 (92%), 적어도 약 0.93 (93%), 적어도 약 0.94 (94%), 적어도 약 0.95 (95%), 적어도 약 0.96 (96%), 적어도 약 0.97 (97%), 적어도 약 0.98 (98%), 또는 적어도 약 0.99 (99%)의 CAI를 갖는다.

[0142] G/C 함량 최적화

[0143] 인간 유전자는 그들의 G/C 함량에 있어 매우 이질적이며, 일부 유전자는 20%만큼 낮은 G/C 함량을 갖고, 다른 유전자는 95%만큼 높은 G/C 함량을 갖는다. 일반적으로, G/C 풍부 유전자가 보다 고도로 발현된다. 사실상, 유전자의 G/C 함량 증가는, 주로 전사 증가 및 보다 높은 정상 상태 mRNA 수준으로 인해, 유전자의 증가된 발현으로 이어질 수 있음이 입증되었다. 하기 문헌 참조: Kudla *et al.*, *PLoS Biol* 4(6): e180 (2006). 본원에서 사

용되는 바와 같이, 용어 "G/C 함량" (또는 구아닌-시토신 함량) 또는 "G/C 뉴클레오타이드의 백분율"은 구아닌 또는 시토신인 DNA 분자 내의 질소함유 염기의 백분율을 지칭한다. G/C 함량은 하기 식을 사용하여 계산될 수 있다:

$$\frac{G + C}{A + T + G + C} \times 100 \quad \text{(III)}$$

일부 양태에서, 본원에 개시된 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열은 야생형 뉴클레오타이드 서열 (예를 들어, 서열 번호: 11)에서의 G/C 뉴클레오타이드의 백분율과 비교하여 G/C 뉴클레오타이드의 더 높은 백분율을 함유한다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열은 적어도 약 50%, 적어도 약 51%, 적어도 약 52%, 적어도 약 53%, 적어도 약 54%, 적어도 약 55%, 적어도 약 56%, 적어도 약 57%, 적어도 약 58%, 적어도 약 59%, 적어도 약 60%, 적어도 약 61%, 적어도 약 62%, 적어도 약 63%, 적어도 약 64%, 또는 적어도 약 65%인 G/C 함량을 갖는다. 특정 양태에서, 본원에 개시된 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열은 적어도 약 0.60 (60%)인 G/C 함량을 갖는다 (예를 들어, 서열 번호: 1). 일부 양태에서, 본원에 개시된 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열은 적어도 약 0.61 (61%)인 G/C 함량을 갖는다 (예를 들어, 서열 번호: 2). 일부 양태에서, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열은 적어도 약 0.59 (59%)인 G/C 함량을 갖는다 (예를 들어, 서열 번호: 3). 일부 양태에서, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열은 적어도 약 0.52 (52%)인 G/C 함량을 갖는다 (예를 들어, 서열 번호: 4). 일부 양태에서, 본 개시내용의 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열은 적어도 약 0.56 (56%)인 G/C 함량을 갖는다 (예를 들어, 서열 번호: 5). 일부 양태에서, 본원에 기재된 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열은 적어도 약 0.59 (59%)인 G/C 함량을 갖는다 (예를 들어, 서열 번호: 6). 일부 양태에서, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열은 적어도 약 0.61 (61%)인 G/C 함량을 갖는다 (예를 들어, 서열 번호: 7). 일부 양태에서, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열은 적어도 약 0.63 (63%)인 G/C 함량을 갖는다 (예를 들어, 서열 번호: 8). 일부 양태에서, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열은 적어도 약 0.56 (56%)인 G/C 함량을 갖는다 (예를 들어, 서열 번호: 9). 일부 양태에서, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열은 적어도 약 0.62 (62%)인 G/C 함량을 갖는다 (예를 들어, 서열 번호: 10).

추가적 번역가능 서열

일부 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, AP-1 전사 인자를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 발현 작제물)는 추가적 관심 단백질을 인코딩하는 하나 이상의 뉴클레오타이드 서열을 추가로 포함할 수 있다. 따라서, 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드는 임의적 적합한 관심 단백질과 조합되어 AP-1 전사 인자를 발현하기 위해 사용될 수 있다. 이러한 추가적 번역가능 서열의 비-제한적 예는 하기에 기재된다.

리간드 결합 단백질

일부 양태에서, 본원에서 제공되는 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 발현 작제물)는 리간드 결합 단백질을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 추가로 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "리간드 결합 단백질"은 관심 분자 (즉, 리간드) (예를 들어, 종양 세포 또는 펩티드/MHC 복합체 상에서 발현되는 항원)에 결합할 수 있는 임의적 단백질을 지칭한다. 특정 양태에서, 리간드 결합 단백질은 키메라 결합 단백질이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "키메라 결합 단백질"은 하나 이상의 리간드 (예를 들어, 항원 (예를 들어, 항원-결합 모이어티를 포함함))에 결합할 수 있고 원래 별도의 단백질을 코딩하는 2개 이상의 폴리뉴클레오타이드 서열의 결합을 통해 생성되는 단백질을 지칭한다. 달리 지시되지 않는 한, 용어들은 본 개시내용에서 상호교환가능하게 사용될 수 있다.

리간드 결합 단백질 (예를 들어, 키메라 결합 단백질)의 비-제한적 예는 키메라 항원 수용체 (CAR), T 세포 수용체 (TCR), 키메라 항체-T 세포 수용체 (caTCR), 키메라 신호전달 수용체 (CSR), T 세포 수용체 모방체 (TCR 모방체), 및 이들의 조합을 포함한다.

일부 양태에서, 키메라 결합 단백질은 CAR을 포함한다.

일부 양태에서, CAR (예를 들어, AP-1 전사 인자와 조합되어 발현될 수 있음)은 표준 CAR로서 설계된다. "표준 CAR"에서, 상이한 성분 (예를 들어, 세포의 표적화 도메인, 막횡단 도메인, 및 세포내 신호전달/활성화 도메인)은 단일 융합 단백질로서 선형으로 작제된다. 일부 양태에서, CAR은 1세대 CAR이다. "1세대" CAR은 세포외 결합 도메인, 힌지 영역, 막횡단 도메인, 및 하나 이상의 세포내 신호전달 도메인으로 구성된다. 모든 1세대 CAR은 세포내 신호전달 도메인으로서 CD3 ζ 사슬 도메인을 함유한다. 일부 양태에서, CAR은 2세대 CAR로서 설계

된다. "2세대" CAR은 추가로 공동자극 도메인 (예를 들어, CD28 또는 4-1BB)을 함유한다. 일부 양태에서, CAR은 3세대 CAR로서 설계된다. "3세대" CAR은, 이들이 다수의 공동자극 도메인 (예를 들어, CD28-4-1BB 또는 CD28-OX40)을 함유하는 것을 제외하고는 2세대 CAR과 유사하다. 일부 양태에서, CAR은 4세대 CAR로서 설계된다. "4세대" CAR (TRUCK 또는 장갑 CAR이라고도 공지됨)은 기능을 추가로 개선할 수 있는 추가의 인자를 추가로 함유한다. 예를 들어, 일부 양태에서, 4세대 CAR은 표적화된 종양 조직에서 CAR 신호전달시 방출될 수 있는 시토킨을 추가로 함유한다. 특정 양태에서, 4세대 CAR은 귀소 및 자살 유전자와 같은 하나 이상의 추가 요소를 포함하며, 이는 CAR의 활성을 추가로 조절하는 것을 도울 수 있다. 일부 양태에서, CAR은 분할 CAR로서 설계된다. "분할 CAR" 시스템에서, CAR의 하나 이상의 성분 (예를 들어, 세포의 표적화 도메인, 막횡단 도메인, 및 세포내 신호전달/활성화 도메인)은 2개 이상의 부분으로 분할되고, 그에 따라 이는 무손상(intact) 기능적 수용체의 조립을 촉진하는 다수의 입력에 의존한다. 일부 양태에서, CAR은 전환가능 CAR로서 설계된다. "전환가능 CAR"에서, CAR은 자극의 존재 하에 온 (온-스위치 CAR)과 오프 (오프-스위치 CAR)로 전환될 수 있다 (예를 들어, 일시적으로). 본 개시내용에서 사용될 수 있는 CAR의 추가 예는, 예를 들어, US 2020/0172879 A1 및 US 2019/0183932 A1에 기재되어 있고, 이들 각각은 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0153] 일부 양태에서, 본원에서의 작제물은 조작된 T 세포 수용체 (TCR) (또한 당업계에서 "트랜스제닉" TCR로서 언급됨)을 인코딩한다. TCR은 주요 조직적합성 복합체 (MHC) 분자에 결합된 펩티드로서 항원의 단편을 인식하는 역할을 하는 T 세포의 표면 상에서 발견되는 분자이다. TCR은 2개의 상이한 단백질 사슬로 구성된 이종이량체이다. 일부 양태에서, TCR은 알파 (α) 사슬 및 베타 (β) 사슬 (각각 *TRA* 및 *TRE*에 의해 인코딩됨)로 이루어진다. 일부 양태에서, TCR은 감마 및 델타 (γ/δ) 사슬 (각각 *TRG* 및 *TRD*에 의해 인코딩됨)로 이루어진다. TCR이 MHC 분자에 의해 제시된 항원성 펩티드 (펩티드/MHC)와 맞물리면, T 림프구가 신호 변환을 통해 활성화된다. 일부 양태에서, TCR은 조작된 (트랜스제닉) TCR이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "조작된 TCR" 또는 "조작된 T 세포 수용체"는 주요 조직적합성 복합체 (MHC)/펩티드 표적 항원에 요망되는 친화도로 특이적으로 결합하도록 조작된 또는 단리된, 또한 면역 세포, 예를 들어, T 세포, NK 세포, 및/또는 TIL의 집단으로 도입되는 T 세포 수용체 (TCR)를 지칭한다.

[0154] 일부 양태에서, 키메라 결합 단백질은 키메라 항체-T 세포 수용체 (caTCR)를 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, "키메라 항체-T 세포 수용체" 또는 "caTCR"은 (i) 관심 항원에 특이적으로 결합하는 항체 모이어티 및 (ii) 적어도 하나의 TCR-관련 신호전달 분자를 모집할 수 있는 T 세포 수용체 모듈을 포함한다. 일부 양태에서, 항체 모이어티 및 T 세포 수용체 모듈은 함께 융합된다. 일부 양태에서, 키메라 결합 단백질은 키메라 신호전달 수용체 (CSR)를 포함한다. "키메라 신호전달 수용체" 또는 "CSR"은 표적 리간드에 특이적으로 결합하는 리간드-결합 도메인 및 CSR을 발현하는 면역 세포에 자극 신호를 제공할 수 있는 공동자극 신호전달 도메인을 포함한다. caTCR 및 CSR의 비-제한적 예가 추가로 US 10,822,413 B2에 기재되어 있고, 이는 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0155] 일부 양태에서, 키메라 결합 단백질은 T 세포 수용체 모방체 (TCR 모방체)를 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "T 세포 수용체 모방체" 또는 "TCR 모방체"는 종양 항원을 인식하도록 조작된 항체 (또는 그의 단편)를 지칭하며, 여기서 종양 항원은 HLA 분자와 관련하여 표시된다. 당업자에게 명백한 바와 같이, 이들 항체는 TCR의 특이성을 모방할 수 있다. TCR 모방체의 비-제한적 예가, 예를 들어, US 2009/0226474 A1 및 US 2019/0092876 A1에 기재되어 있으며, 이들 각각은 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0156] 일부 양태에서, 키메라 결합 단백질은 유전자 편집 도구 (예를 들어, CRISPR-Cas 시스템)와 연관될 수 있으며, 여기서 키메라 결합 단백질의 활성화는 유전자-편집 도구의 활성화를 유도할 수 있고, 그에 따라 하나 이상의 유전자의 발현 및/또는 활성이 세포에서 조절된다. 예를 들어, 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포 (예를 들어, T 세포)는 프로테아제에 연결된 키메라 결합 단백질 (예를 들어, CAR) 및 관심 유전자의 조절 영역을 표적화하는 단일 가이드 RNA (예를 들어, 프로모터)를 포함하도록 변형된다. 일부 양태에서, 세포는, 예를 들어, 링커를 통해, 유전자-편집 도구에 복합체화된, T 세포의 활성화를 위한 링커 (LAT)를 추가로 포함하도록 변형된다. (예를 들어, 항원 자극을 통한) 키메라 결합 단백질의 활성화는 유전자 발현의 조절 및 핵 국소화를 위한 유전자 편집 도구의 방출을 허용한다. 이러한 키메라 결합 단백질의 추가의 양태가 본 개시내용의 다른 부분에 제공되어 있다. 또한 그 전체가 본원에 참조로 포함되는 하기 문헌 참조: Pietrobon *et al.*, *Int J Mol Sci* 22(19): 10828 (Oct. 2021).

[0157] 본원에 기재된 바와 같이, 본 개시내용에 유용한 키메라 결합 단백질은 항원-결합 도메인, 막횡단 도메인, 공동자극 도메인, 세포내 신호전달 도메인, 또는 이들의 조합을 포함한다. 특정 양태에서, 항원-결합 도메인은 항원을 인식하고 그에 특이적으로 결합한다. 항원의 비-제한적 예는 하기를 포함한다: AFP (알파-태아단백질), αv

$\beta 6$ 또는 또 다른 인테그린, BCMA, Braf, B7-H3, B7-H6, CA9 (탄산 탈수효소 9), CCL-1 (C-C 모티프 케모카인 리간드 1), CD5, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD24, CD30, CD33, CD38, CD40, CD44, CD44v6, CD44v7/8, CD45, CD47, CD56, CD66e, CD70, CD74, CD79a, CD79b, CD98, CD123, CD138, CD171, CD352, CEA (암배아 항원), 클라우딘 18.2, 클라우딘 6, c-MET, DLL3 (델타-유사 단백질 3), DLL4, ENPP3 (엑토뉴클레오티드 피로포스파타제/포스포디에스테라제 패밀리를 구성원 3), EpCAM, EPG-2 (상피 당단백질 2), EPG-40, 에프린B2, EphA2 (에프린 수용체 A2), ERBB 이량체, 에스트로젠 수용체, ETBR (엔도텔린 B 수용체), FAP- α (섬유아세포 활성화 단백질 α), 태아 AchR (태아 아세틸콜린 수용체), FBP (폴레이트 결합 단백질), FCRL5, FR- α (폴레이트 수용체 알파), GCC (구아닐 시클라제 C), GD2, GD3, GPC2 (글리피칸-2), GPC3, gp100 (당단백질 100), GPNMB (당단백질 NMB), GPRC5D (G 단백질 커플링된 수용체 5D), HER2, HER3, HER4, B형 간염 표면 항원, HLA-A1 (인간 백혈구 항원 A1), HLA-A2 (인간 백혈구 항원 A2), HMW-MAA (인간 고분자량-흑색종-관련 항원), IGF1R (인슐린-유사 성장 인자 1 수용체), Ig 카파, Ig 람다, IL-22Ra (IL-22 수용체 알파), IL-13Ra2 (IL-13 수용체 알파 2), KDR (키나제 삽입 도메인 수용체), LI 세포 부착 분자 (LI-CAM), Liv-1, LRRC8A (8개의 패밀리를 구성원 A를 함유하는 류신 풍부 반복), 루이스 Y, 흑색종-관련 항원 (MAGE)-A1, MAGE-A3, MAGE-A6, MART-1 (멜란 A), 뮤진 사이토메갈로바이러스 (MCMV), MCSP (흑색종-관련 콘드로이틴 술페이트 프로테오글리칸), 메소텔린, 뮤신 1 (MUC1), MUC16, MHC/펩티드 복합체 (예를 들어, AFP, KRAS, HPV (예를 들어, HPV E6 또는 E7), NY-ESO, MAGE-A, 및 WT1로부터 유래된 펩티드와 복합체화된 HLA-A), NCAM (신경 세포 부착 분자), 넥틴-4, NKG2D (자연 킬러 그룹 2 구성원 D) 리간드, NY-ESO, 종양태아 항원, PD-1, PD-L1, PRAME (흑색종의 우선 발현 항원), 프로게스테론 수용체, PSA (전립선 특이적 항원), PSCA (전립선 줄기 세포 항원), PSMA (전립선 특이적 막 항원), ROR1, ROR2, SIRP α (신호-조절 단백질 알파), SLIT, SLITRK6 (NTRK-유사 단백질 6), STEAP1 (전립선 1의 6개 막횡단 상피 항원), 서바이빈, TAG72 (종양-관련 당단백질 72), TPBG (영양막 당단백질), Trop-2, VEGFR1 (혈관 내피 성장 인자 수용체 1), VEGFR2, 및 HIV, HBV, HCV, HPV, 및 기타 병원체로부터의 항원, 또는 이들의 조합. 일부 양태에서, 본원에 기재된 키메라 결합 단백질의 항원-결합 도메인은 ROR1에 특이적으로 결합한다. 일부 양태에서, 키메라 결합 단백질의 항원-결합 도메인은 GPC2에 특이적으로 결합한다. 일부 양태에서, 키메라 결합 단백질의 항원-결합 도메인은 종양 항원에 특이적으로 결합하며, 여기서 종양 항원은 하기로부터 유래된다: 알파 태아단백질 (AFP), CD19, BCMA, CLL-1, CS1, CD38, CD19, TSHR, CD123, CD22, CD30, CD171, CD33, EGFRvIII, GD2, GD3, Tn Ag, PSMA, ROR1, ROR2, GPC1, GPC2, FLT3, FAP, TAG72, CD44v6, CEA, EPCAM, B7H3, KIT, IL-13Ra2, 메소텔린, IL-1 lRa, PSCA, PRSS21, VEGFR2, 루이스Y, CD24, PDGFR-베타, SSEA-4, CD20, 폴레이트 수용체 알파, ERBB2 (Her2/neu), MUC1, MUC16, EGFR, NCAM, 프로스타제, PAP, ELF2M, 에프린 B2, IGF-I 수용체, CAIX, LMP2, gp100, bcr-abl, 티로시나제, EphA2, 푸코실 GM1, sLe, GM3, TGS5, HMWMAA, o-아세틸-GD2, 폴레이트 수용체 베타, TEM1/CD248, TEM7R, CLDN6, GPRC5D, CXORF61, CD97, CD179a, ALK, 폴리시알산, PLAC1, GloboH, NY-BR-1, UPK2, HAVCR1, ADRB3, PANX3, GPR20, LY6K, OR51E2, TARP, WT1, NY-ESO-1, LAGE-1a, MAGE-A1, 레구마인, HPV E6,E7, MAGE A1, ETV6-AML, 정자 단백질 17, XAGE1, Tie 2, MAD-CT-1, MAD-CT-2, Fos-관련 항원 1, p53, p53 돌연변이, 프로스테인, 서바이빈, 텔로머라제, PCTA-1/갈렉틴 8, 멜란A/MART1, Ras 돌연변이 (예를 들어, HRAS, KRAS, NRAS), hTERT, 육종 전위 중단점, ML-IAP, ERG (TMPRSS2 ETS 융합 유전자), NA17, PAX3, 안드로젠 수용체, 사이클린 B1, MYCN, RhoC, TRP-2, CYP1B1, BORIS, SART3, PAX5, OY-TES1, LCK, AKAP-4, SSX2, RAGE-1, 인간 텔로머라제 역전사효소, RU1, RU2, 장 카르복실 에스테라제, mut hsp70-2, CD79a, CD79b, CD72, LAIR1, FCAR, LILRA2, CD300LF, CLEC12A, BST2, EMR2, LY75, GPC3, FCRL5, IGLL1, CD2, CD3 ϵ , CD4, CD5, CD7, APRIL 단백질의 세포외 부분, 신생항원, 또는 이들의 임의의 조합.

[0158] 본 개시내용의 다른 부분에 추가로 기재되는 바와 같이, 키메라 결합 단백질의 항원-결합 도메인은 하나 이상의 항원에 결합할 수 있는 임의의 폴리펩티드일 수 있다. 일부 양태에서, 항원-결합 도메인은 하기를 포함하거나 그로부터 유래된다: Ig NAR, Fab 단편, Fab' 단편, F(ab)'2 단편, F(ab)'3 단편, Fv, 단일 사슬 가변 단편 (scFv), 비스-scFv, (scFv)2, 미니바디, 디아바디, 트리아바디, 테트라바디, 인트라바디, 디술퍼드 안정화된 Fv 단백질 (dsFv), 유니바디, 나노바디, 및 관심 단백질, 리간드, 수용체, 수용체 단편, 펩티드 압타머, 또는 이들의 조합 중 임의의 것에 특이적으로 결합할 수 있는 항체로부터 유래된 항원 결합 영역. 일부 양태에서, 항원-결합 도메인은 단일 사슬 Fv (scFv)이다.

[0159] 일부 양태에서, 본원에 기재된 키메라 결합 단백질은 세포외 도메인에 대한 항원의 결합시 이펙터 기능 신호를 변환하고 키메라 결합 단백질을 발현하는 세포 (예를 들어, T 세포)가 특화된 기능을 수행하도록 지시하는 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 세포내 신호전달 도메인의 비-제한적 예는 CD3 제타, FcR 감마, 공통 FcR 감마 (FCER1G), Fc 감마 RIIa, FcR 베타 (Fc ϵ 실론 립), CD3 감마, CD3 델타, CD3 ϵ 실론, CD22, CD79a, CD79b, CD278 ("ICOS"), Fc ϵ RI, CD66d, CD32, DAP10, DAP12, 또는 이들의 임의의 조합으로부터 유래된 세포내 신호전

달 도메인 영역을 포함한다. 특정 양태에서, 세포내 신호전달 도메인은 CD3 제타 세포내 신호전달 도메인을 포함한다. 일부 양태에서, 키메라 결합 단백질은 본원에 개시된 단백질의 전체 세포내 도메인을 포함한다. 일부 양태에서, 세포내 도메인은 절단된 것이다. 세포내 도메인의 절단된 부분은 이것이 이펙터 기능 신호를 여전히 변환하는 한 무손상 사슬 대신에 사용될 수 있다. 그에 따라 용어 세포내 도메인은 이펙터 기능 신호를 변환하기에 충분한 세포내 도메인의 임의의 절단된 부분을 포함하도록 의도된다.

[0160] 일부 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열을 포함함)에서 인코딩될 수 있는 키메라 결합 단백질은 막횡단 도메인을 추가로 포함한다. 특정 양태에서, 항원-결합 도메인은 막횡단 도메인에 의해 키메라 결합 단백질의 세포내 도메인에 연결된다. 일부 양태에서, 항원-결합 도메인은 링커에 의해 키메라 결합 단백질 (예를 들어, CAR)의 막횡단 도메인에 연결된다. 특정 양태에서, 항원-결합 도메인과 막횡단 도메인 사이의 링커의 포함은 항원-결합 도메인의 유연성에 영향을 미치고, 이로써 키메라 결합 단백질 기능을 개선할 수 있다.

[0161] 당업계에서 공지된 임의의 막횡단 도메인이 본원에 기재된 키메라 결합 단백질 (예를 들어, CAR)에서 사용될 수 있다. 일부 양태에서, 막횡단 도메인은 인공적이다 (예를 들어, 조작된 막횡단 도메인). 일부 양태에서, 막횡단 도메인은 자연 발생 폴리펩티드로부터 유래된다. 일부 양태에서, 막횡단 도메인은 자연 발생 폴리펩티드로부터의 막횡단 도메인을 포함한다. 막횡단 도메인의 비-제한적 예는 KIRDS2, OX40, CD2, CD27, LFA-1 (CD11a, CD18), ICOS (CD278), 4-1BB (CD137), GITR, CD40, BAFFR, HVEM (LIGHTR), SLAMF7, Nkp80 (KLRF1), Nkp44, Nkp30, Nkp46, CD160, CD19, IL2R 베타, IL2R 감마, IL7R α, ITGA1, VLA1, CD49a, ITGA4, IA4, CD49D, ITGA6, VLA-6, CD49f, ITGAD, CD11d, ITGAE, CD103, ITGAL, CD11a, LFA-1, ITGAM, CD11b, ITGAX, CD11c, ITGB1, CD29, ITGB2, CD18, LFA-1, ITGB7, TNFR2, DNAM1 (CD226), SLAMF4 (CD244, 2B4), CD84, CD96 (택타일), CEACAM1, CRTAM, Ly9 (CD229), CD160 (BY55), PSGL1, CD100 (SEMA4D), SLAMF6 (NTB-A, Ly108), SLAM (SLAMF1, CD150, IPO-3), BLAME (SLAMF8), SELPLG (CD162), LTBR, PAG/Cbp, NKG2D, NKG2C, CD19, 또는 이들의 임의의 조합의 막횡단 도메인 영역을 포함한다. 특정 양태에서, 막횡단 도메인은 CD28 막횡단 도메인을 포함한다.

[0162] 본원에 기재된 바와 같이, 일부 양태에서, 키메라 결합 단백질 (예를 들어, CAR)은 하나 이상의 공동자극 도메인 (예를 들어, 2세대 및 3세대 CAR)을 포함한다. 어느 하나의 이론에 얽매이지 않으며, 이들 공동자극 도메인은 (예를 들어, AP-1 전사 인자와 조합되어) 키메라 결합 단백질을 발현하도록 조작된 세포의 확장, 활성화, 기억, 지속성, 및/또는 이펙터 기능을 추가로 개선할 수 있다. 일부 양태에서, 막횡단 도메인은 공동자극 도메인에 융합되고, 임의로 공동자극 도메인은 제2 공동자극 도메인에 융합되고, 공동자극 도메인은 신호전달 도메인에 융합되고, 이는 CD3ζ로 제한되지 않는다. 공동자극 도메인의 비-제한적 예는 인터류킨-2 수용체 (IL-2R), 인터류킨-12 수용체 (IL-12R), IL-7, IL-21, IL-23, IL-15, CD2, CD3, CD4, CD7, CD8, CD27, CD28, CD30, CD40, 4-1BB/CD137, ICOS, 림프구 기능-관련 항원-1 (LFA-1), LIGHT, NKG2C, OX40, DAP10, 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다. 특정 양태에서, 공동자극 도메인은 4-1BB/CD137 공동자극 도메인을 포함한다.

[0163] 링커

[0164] 일부 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열을 포함함)는 링커를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 추가로 포함한다. 링커는 본원에서 제공되는 폴리뉴클레오티드의 상이한 성분 중 임의의 것 사이에 존재할 수 있다. 예를 들어, 특정 양태에서, 폴리뉴클레오티드는 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 제1 뉴클레오티드 서열, 링커를 인코딩하는 제2 뉴클레오티드 서열, 및 키메라 결합 단백질 (예를 들어, CAR)을 인코딩하는 제3 뉴클레오티드 서열을 포함하며, 여기서 제2 뉴클레오티드 서열은 제1 및 제3 뉴클레오티드 서열 사이에 존재하고, 그에 따라 AP-1 전사 인자는 링커에 의해 키메라 결합 단백질에 연결된다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드는 링커를 인코딩하는 다수의 뉴클레오티드 서열 (예를 들어, 적어도 2개의 별도의 뉴클레오티드 서열)을 포함할 수 있다. 특정 양태에서, 다수의 링커는 동일하다. 일부 양태에서, 다수의 링커는 상이하다.

[0165] 특정 양태에서, 링커는 펩티드 링커이다. 일부 양태에서, 링커는 적어도 약 1개 아미노산, 적어도 약 2개 아미노산, 적어도 약 3개 아미노산, 적어도 약 4개 아미노산, 적어도 약 5개 아미노산, 적어도 약 6개 아미노산, 적어도 약 7개 아미노산, 적어도 약 8개 아미노산, 적어도 약 9개 아미노산, 적어도 약 10개 아미노산, 적어도 약 11개 아미노산, 적어도 약 12개 아미노산, 적어도 약 13개 아미노산, 적어도 약 14개 아미노산, 적어도 약 15개 아미노산, 적어도 약 16개 아미노산, 적어도 약 17개 아미노산, 적어도 약 18개 아미노산, 적어도 약 19개 아미노산, 적어도 약 20개 아미노산, 적어도 약 25개 아미노산, 또는 적어도 약 30개 아미노산을 포함한다. 일부 양

태에서, 링커는 글리신이 풍부하다 (예를 들어, 유연성을 위해). 일부 양태에서, 링커는 세린 및/또는 트레오닌을 포함한다 (예를 들어, 가용성을 위해). 일부 양태에서, 링커는 Gly/Ser 링커이다.

[0166] 일부 양태에서, 링커는 비-절단가능 링커이고, 그에 따라 링커 및 본원에서 제공되는 폴리뉴클레오티드의 상이한 성분 (예를 들어, AP-1 전사 인자 및 키메라 결합 단백질)은 단일 폴리펩티드로서 발현된다. 특정 양태에서, 링커는 절단가능 링커이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "절단가능 링커"는 절단 부위를 포함하며, 그에 따라 발현시 선택적으로 절단되어 2개 이상의 생성물을 생성할 수 있는 링커를 지칭한다. 일부 양태에서, 링커는 P2A 링커, T2A 링커, F2A 링커, E2A 링커, 푸린 절단 부위, 또는 이들의 임의의 조합 (하기 표 4 참조)으로부터 선택된다. 일부 양태에서, 링커는 GSG 링커 서열을 추가로 포함한다. 일부 양태에서, 본 개시내용에 유용한 링커는 내부 리보솜 진입 부위 (IRES)를 포함하고, 그에 따라 제1 및 제2 유전자에 의해 인코딩되는 별도의 폴리펩티드가 번역 동안 생성된다. 본 개시내용에서 사용될 수 있는 링커의 추가의 기재는, 예를 들어, WO 2020/223625 A1 및 US 2019/0276801 A1에 제공되어 있으며, 이들 각각은 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0167] **표 4: 링커 서열**

P2A	ATNFSLLKQAGDVEENPGP (서열 번호: 14)
T2A	EGRGSLTTCGDVEENPGP (서열 번호: 15)
F2A	VKQTLNFDLLKLAGDVESNPGP (서열 번호: 16)
E2A	QCTNYALLKLAGDVESNPGP (서열 번호: 17)
푸린 절단 부위	RAKR (서열 번호: 18)

[0168]

[0169] 일부 양태에서, 링커는 P2A 링커를 포함한다. 일부 양태에서, 링커는 서열 번호: 14에 기재된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 링커는 서열 번호: 14에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.

[0170] 일부 양태에서, 링커는 T2A 링커를 포함한다. 일부 양태에서, 링커는 서열 번호: 15에 기재된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 링커는 서열 번호: 15에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.

[0171] 일부 양태에서, 링커는 F2A 링커를 포함한다. 일부 양태에서, 링커는 서열 번호: 16에 기재된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 링커는 서열 번호: 16에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.

[0172] 일부 양태에서, 링커는 E2A 링커를 포함한다. 일부 양태에서, 링커는 서열 번호: 17에 기재된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 링커는 서열 번호: 17에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.

[0173] 일부 양태에서, 링커는 푸린 절단 부위를 포함하는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 링커는 서열 번호: 18에 기재된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 링커는 서열 번호: 18에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.

[0174] **절단 EGFR**

[0175] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열을 포함함)는 절단된 상피 성장 인자 수용체 (EGFRt)를 인코딩하는 추가의 뉴클레오티드 서열을 포함하고, 그에 따라 EGFRt는 전장 EGFR 단백질 (예를 들어, 서열 번호: 19)의 단지 부분적 서열을 포함한다. 일부 양태에서, EGFRt는 EGFR 세포외 도메인 III 및 IV 및 EGFR 막횡단 도메인을 포함하나, EGFR 세포외 도메인 I 및 II 및 EGFR 세포내 서열이 결여된다.

[0176] EGFR은 큰 세포외 영역, 단일 스페닝 막횡단 도메인, 세포내 막근접 영역, 티로신 키나제 도메인, 및 C-말단 조절 영역을 포함하는 180 kDa 단백질 당단백질이다. 세포외 영역은 하기 4개의 도메인을 포함한다: 도메인 I 및 III은 상동성 리간드 결합 도메인이고, 도메인 II 및 IV는 시스테인 풍부 도메인이다 (Ferguson, *Annu Rev*

Biophys. (2008) 37:353-3). 달리 지시되지 않는 한, EGFR은 본원에서 사용되는 바와 같이 인간 EGFR을 지칭한다. 대안적 스플라이싱으로 인해, 인간 EGFR의 적어도 4개의 공지된 이소형이 존재한다. 상이한 EGFR 이소형에 대한 서열이 표 5 (하기)에 제공되어 있다.

표 5: 인간 EGFR 서열

이소형 1 (정식 서열) ("p170"이라고도 공지됨) (UniProt: P00533-1)	MRPSGTAGAALLALLAALCPASRALEEKKVCQGTSNKLTQLGTFEDHFLSLQRMFNNECV VLGNLEITYVQRNYDLSFLKTIQEVAGYVLIALNTVERIPLNLQIIRGNMYEENSAYALA VLSNYDANKTGLKELPMRNLQEILHGAVRFSNNPALCNVESIQWRDIVSSDFLSNMSMDF QNHLSGSCQKCDPSCPNWSCWGAGEENCQKLTIIICAQCCSGRCRGKSPSDCCCHNQCAAGC TGPRESDCLVCRKFRDEATCKDTCPLMLYNPTTYQMDVNPPEGKYSFGATCVKKCPRNYV VTDHGSCVRACGADSYEMEEDGVRKCKKCEGPCRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFK NCTSIGDLHILPVAFRGDSFHTHTPPLDPQELDLKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAF ENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIIISGNKNLCYANTINWKKL FGTSGQKTKIISNRGENSKATGQVCHALCSPEGCGWPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCN LLEGEPRFEVENSECICQHPCECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCFAGVM GENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGTCTGPGLEGCPNTPKIPSIATGMVGALLLLLVV ALGIGLFMRRRHIVRKRTLRLRLQERELVEPLTPSGEAPNQALLRLKETEFKKIKVLGS GAFGIVYKGLWIPEGEKVKIPVAIKELREATSPKANKEILDEAYVMASVDNPHVCRLGI CLTSTVQLITQLMPFGCLLDYVREHKDNIGSQYLLNWCVQIAKGMNYLEDRLVHRDLAA RNVLVKTPQHVKITDFGLAKLLGAEKEYHAEGGKVPKIMMALESILHRIYTHQSDVWSY GVTWELMTFGSKPYDGPASEISSILEKGERLPQPPICTIDVYIMVVKCWMIDADSRPK FRELIIEFSKMARDPQRYLVIQGERMHLPSPTDSNFYRALMDEEDMDVDVDADEYLIPO QGFFSSPSTSRTPLLSSLSATSNSTVACIDRNLQSCPIKEDSFLQRYSSDPTGALTED SIDDTFLVPVEYINQSVPKRPAGSVQNPVYHNQPLNPAPSRDPHYQDPHSTAVGNPEYLN TVQPTCVNSTFDSPAHWAQKSGHSQISLDNPDYQQDFFPEKAKPENGIFKGSTAENAEYLRV APQSSEFIGA (서열 번호: 19)
이소형 2 ("p60"이라고도 공지됨) (UniProt: P00533-2)	MRPSGTAGAALLALLAALCPASRALEEKKVCQGTSNKLTQLGTFEDHFLSLQRMFNNECV VLGNLEITYVQRNYDLSFLKTIQEVAGYVLIALNTVERIPLNLQIIRGNMYEENSAYALA VLSNYDANKTGLKELPMRNLQEILHGAVRFSNNPALCNVESIQWRDIVSSDFLSNMSMDF QNHLSGSCQKCDPSCPNWSCWGAGEENCQKLTIIICAQCCSGRCRGKSPSDCCCHNQCAAGC TGPRESDCLVCRKFRDEATCKDTCPLMLYNPTTYQMDVNPPEGKYSFGATCVKKCPRNYV VTDHGSCVRACGADSYEMEEDGVRKCKKCEGPCRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFK NCTSIGDLHILPVAFRGDSFHTHTPPLDPQELDLKTVKEITGLS (서열 번호: 20)
이소형 3 ("p110"이라고도 공지됨) (UniProt: P00533-3)	MRPSGTAGAALLALLAALCPASRALEEKKVCQGTSNKLTQLGTFEDHFLSLQRMFNNECV VLGNLEITYVQRNYDLSFLKTIQEVAGYVLIALNTVERIPLNLQIIRGNMYEENSAYALA VLSNYDANKTGLKELPMRNLQEILHGAVRFSNNPALCNVESIQWRDIVSSDFLSNMSMDF QNHLSGSCQKCDPSCPNWSCWGAGEENCQKLTIIICAQCCSGRCRGKSPSDCCCHNQCAAGC TGPRESDCLVCRKFRDEATCKDTCPLMLYNPTTYQMDVNPPEGKYSFGATCVKKCPRNYV VTDHGSCVRACGADSYEMEEDGVRKCKKCEGPCRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFK NCTSIGDLHILPVAFRGDSFHTHTPPLDPQELDLKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAF ENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIIISGNKNLCYANTINWKKL FGTSGQKTKIISNRGENSKATGQVCHALCSPEGCGWPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCN LLEGEPRFEVENSECICQHPCECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCFAGVM GENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGTGPNESLKAMLFCLFKLSSCNQSDNGSVSHQSGS PAAQESCLGWIPSLPSEFQLGWGGCSHLHAWPSASVITASSCH (서열 번호: 21)
이소형 4 (UniProt: P00533-4)	MRPSGTAGAALLALLAALCPASRALEEKKVCQGTSNKLTQLGTFEDHFLSLQRMFNNECV VLGNLEITYVQRNYDLSFLKTIQEVAGYVLIALNTVERIPLNLQIIRGNMYEENSAYALA VLSNYDANKTGLKELPMRNLQEILHGAVRFSNNPALCNVESIQWRDIVSSDFLSNMSMDF QNHLSGSCQKCDPSCPNWSCWGAGEENCQKLTIIICAQCCSGRCRGKSPSDCCCHNQCAAGC TGPRESDCLVCRKFRDEATCKDTCPLMLYNPTTYQMDVNPPEGKYSFGATCVKKCPRNYV VTDHGSCVRACGADSYEMEEDGVRKCKKCEGPCRKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFK NCTSIGDLHILPVAFRGDSFHTHTPPLDPQELDLKTVKEITGFLLIQAWPENRTDLHAF ENLEIIRGRTKQHGQFSLAVVSLNITSLGLRSLKEISDGDVIIISGNKNLCYANTINWKKL FGTSGQKTKIISNRGENSKATGQVCHALCSPEGCGWPEPRDCVSCRNVSRGRECVDKCN LLEGEPRFEVENSECICQHPCECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCFAGVM GENNTLVWKYADAGHVCHLCHPNCTYGS (서열 번호: 22)

EGFR에 대한 상기 정식 서열 (즉, 이소형 1)에서, 다양한 EGFR 도메인이 하기와 같이 기술된다. 신호 펩티드는 아미노산 1-24에 걸쳐 있다. 세포외 서열은 아미노산 25-645에 걸쳐 있으며, 여기서 도메인 I, 도메인 II, 도메인 III, 및 도메인 IV는 각각 아미노산 25-188, 189-333, 334-504, 및 505-645에 걸쳐 있다. 막횡단 도메인은 아미노산 646-668에 걸쳐 있다. 세포내 도메인은 아미노산 669-1,210에 걸쳐 있으며, 여기서 막근접 도메인은 아미노산 669-703에 걸쳐 있고, 티로신 키나제 도메인은 아미노산 704-1,210에 걸쳐 있다.

일부 양태에서, 본 개시내용에 유용한 EGFRt는 서열 번호: 19에 기재된 아미노산 서열과 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다.

일부 양태에서, 본 개시내용에서 사용될 수 있는 EGFRt는 서열 번호: 23에 기재된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 특정 양태에서, EGFRt는 서열 번호: 23에 기재된 아미노산 서열 (표 6 참조)을 포함한다. 일부 양태에서, 본 개시내용에서 사용될 수 있는 EGFRt는 서열 번호:

24에 기재된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 특정 양태에서, EGFRt는 서열 번호: 24에 기재된 아미노산 서열 (표 6 참조)을 포함한다.

표 6: 절단 EGFR 서열

EGFRt	RKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLD PQELDILKTVEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRITKQHGQFSLAVVSL NITSLGLRSLKEISDGDVVISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENS CKATGQVCHALCSPGCGWGPEDRCVSCRNVSRGRCVDCNLLGEPREFVENS ECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVW KYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPINGPKIPSIATGMVGALLLLLVVALG IGLFM (서열 번호: 23)
EGFRt + 인간 EGFR의 세포내 도메인의 처음 3개 아미노산	RKVCNGIGIGEFKDSLSINATNIKHFKNCTSGDLHILPVAFRGDSFTHTPPLD PQELDILKTVEITGFLLIQAWPENRTDLHAFENLEIIRGRITKQHGQFSLAVVSL NITSLGLRSLKEISDGDVVISGNKNLCYANTINWKKLFGTSGQKTKIISNRGENS CKATGQVCHALCSPGCGWGPEDRCVSCRNVSRGRCVDCNLLGEPREFVENS ECIQCHPECLPQAMNITCTGRGPDNCIQCAHYIDGPHCVKTCPAGVMGENNTLVW KYADAGHVCHLCHPNCTYGCTGPGLEGCPINGPKIPSIATGMVGALLLLLVVALG IGLFMRRR (서열 번호: 24)

일부 양태에서, 본원에 기재된 EGFRt는 막근접 도메인을 추가로 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "막근접 도메인"은 막횡단 도메인에 대해 바로 C-말단에 있는 세포 표면 단백질 (예를 들어, EGFR)의 세포내 부분을 지칭한다. 어느 하나의 이론에 얽매이지 않으며, 일부 양태에서, 막근접 도메인의 첨가는 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드에 의해 코딩되는 단백질의 발현을 증가시킬 수 있다.

일부 양태에서, 막근접 도메인은 약 1 내지 약 20 (예를 들어, 2-20, 3-20, 4-20, 5-20, 2-18, 3-18, 4-18, 또는 5-18)개 아미노산 길이일 수 있다. 특정 양태에서, 막근접 도메인은 20개 초과 아미노산일 수 있다. 일부 양태에서, 막근접 도메인의 최초 1개 이상 (예를 들어, 최초 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 또는 20개)의 아미노산은 순(net)-중성 또는 순-양전하 서열이다 (예를 들어, 아르기닌 및 리신 잔기의 수가 아스파르트산 및 글루탐산 잔기의 수 이상임). 특정 양태에서, 이들 최초 아미노산은 약 30% 초과 (예를 들어, 40, 50, 60, 70, 80, 또는 90%)의 친수성 아미노산을 함유한다. 본 개시내용에서 유용한 막근접 도메인의 비-제한적 예가 표 7 (하기)에 제공되어 있다.

표 7: 막근접 도메인 서열

순전하	서열
+1	K
+2	KR
+3	KRK
+2	KSR
+1	KSGSGS (서열 번호: 25)
+2	SKR
+1	KRSD (서열 번호: 26)
+2	KRSDK (서열 번호: 27)
0	SGGGG (서열 번호: 28)
0	SGAGG (서열 번호: 29)
+2	KRADK (서열 번호: 30)
+3	RRRSGGGSGGGGS (서열 번호: 31)
0	SGGGSGGGGS (서열 번호: 32)
0	(GGGGS) _n , n >1 (서열 번호: 33)

일부 양태에서, 본 개시내용에서 사용될 수 있는 막근접 도메인은, 포스파티딜콜린 (PC), 포스파티딜세린 (PS), 또는 포스파티딜이노시톨-4,5-비스포스페이트 (PIP2)와 상호작용하는 인간 수용체 티로신 키나제의 막근접 영역 (예를 들어, 최초 20개 막근접 아미노산의 전체 또는 부분 서열)과 같은, 천연 세포 표면 단백질의 막근접 영역 으로부터 유래될 수 있다 (예를 들어, 하기 문헌 참조: Hedger *et al.*, *Sci Rep.* (2015) 5: 9198). 수용체 티로신 키나제의 비-제한적 예는 ERBB1 (EGFR), ERBB2 (HER2), ERBB3 (HER3), ERBB4 (HER4), INSR, IGF1R, INSR, PGFRA, PGFRB, KIT, CSF1R, FLT3, VGFR1, VGFR2, VGFR3, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGFR4, PTK7, NTRK1, NTRK2, NTRK3, ROR1, ROR2, MUSK, MET, RON, UFO, TYRO3, MERTK, TIE1, TIE2, EPHA1, EPHA2, EPHA3, EPHA4, EPHA5, EPHA6, EPHA7, EPHA8, EPAA, EPHB1, EPHB2, EPHB3, EPHB4, EPHB6, RET, RYK, DDR1, DDR2, ROS1, LMTK1, LMTK2, LMTK3, LTK, ALK, 및 STYK1이다. 특정 양태에서, 막근접 도메인은 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드에 의해 인코딩되는 단백질의 임의의 의도되지 않은 신호 변환 능력을 회피하기 위해 인산화되는 것으로 공

지된 잔기를 제거하는 하나 이상의 돌연변이 (예를 들어, 치환 또는 결실)를 포함할 수 있다.

[0189] 일부 양태에서, 막근접 도메인은 EGFR의 막근접 영역으로부터 유래된다. EGFR-유래된 막근접 도메인의 비-제한적 예는 표 8 (하기)에 제공된 서열 중 하나를 포함한다. 특정 양태에서, 막근접 도메인은 아미노산 서열 RRR을 포함한다. 특정 양태에서, 이러한 막근접 도메인을 포함하는 EGFRt는 서열 번호: 22에 기재된 서열을 포함한다.

[0190] 표 8: EGFR-유래된 막근접 도메인 서열

순전하	서열
+6	RRRHIVRKRR (서열 번호: 34)
+5	RRRHIVRK (서열 번호: 35)
+4	RRRHIVR (서열 번호: 36)
+3	RRRHIV (서열 번호: 37)
+3	RRRHI (서열 번호: 38)
+3	RRRH (서열 번호: 39)
+3	RRR
+2	RR
+1	R

[0191]

[0192] 본 개시내용으로부터 명백한 바와 같이, EGFRt를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열의 포함은 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, 코돈-최적화된 c-Jun 뉴클레오타이드 서열 및 키메라 결합 단백질을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함함)에 특정 이점을 제공한다. 예를 들어, 일부 양태에서, EGFRt는 사멸 스위치로서 기능할 수 있다. 조작된 세포 (예를 들어, 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드로 형질도입된 CAR T 세포)가 신체에서 더 이상 필요하지 않을 때, 세특시맵, 파니투무맵, 니모투주맵, 또는 네시투무맵과 같은 제약 등급 항-EGFR 항체를 조작된 세포를 수용한 대상체에게 투여함으로써, 예를 들어, 항체-의존적 세포 세포독성 (ADCC), 보체-의존적 세포 독성 (CDC), 및/또는 항체-의존적 세포 식세포작용 (ADCP)을 통해, 조작된 세포를 제거할 수 있다.

[0193] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드는 AP-1 전사 인자를 인코딩하는 제1 뉴클레오타이드 서열, 키메라 결합 단백질 (예를 들어, CAR)을 인코딩하는 제2 뉴클레오타이드 서열, 및 EGFRt를 인코딩하는 제3 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 특정 양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 제1 링커를 인코딩하는 제4 뉴클레오타이드 서열을 추가로 포함하며, 여기서 제4 뉴클레오타이드 서열은 제1 및 제2 뉴클레오타이드 서열 사이에 있고, 그에 따라 AP-1 전사 인자는 제1 링커에 의해 키메라 결합 단백질에 연결된다. 특정 양태에서, 폴리뉴클레오타이드는 제2 링커를 인코딩하는 제5 뉴클레오타이드 서열을 추가로 포함하며, 여기서 제5 뉴클레오타이드 서열은 제2 및 제3 뉴클레오타이드 서열 사이에 있고, 그에 따라 키메라 결합 단백질은 제2 링커에 의해 EGFRt에 연결된다. 일부 양태에서, 제1 링커 및 제2 링커는 동일하다. 특정 양태에서, 제1 및 제2 링커는 상이하다. 본원에 기재된 링커 중 임의의 것 (예를 들어, P2A 링커)이 제2 링커로서 사용될 수 있다.

[0194] **스페이서**

[0195] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열을 포함함)는 스페이서를 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함한다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "스페이서"는 2개의 이격된 모이어티 (예를 들어, P2A 링커 및 키메라 결합 단백질)를 함께 공유 연결할 수 있는 폴리펩티드 서열을 지칭한다.

[0196] 특정 양태에서, 스페이서는 면역글로불린으로부터 유래된다 (예를 들어, 힌지 영역 또는 루프 영역으로부터 유래됨). 일부 양태에서, 스페이서는 IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgE, 또는 IgM 힌지 영역, 그의 단편 (단독 또는 추가의 서열, 예를 들어, CH1 또는 CH2 영역 서열에 의해 캡핑됨), 또는 IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgE, 또는 IgM 힌지 영역으로부터의 단편의 조합을 포함한다 (본원에서 "힌지 영역 유래 스페이서"로서 언급됨). 일부 양태에서, 스페이서는 IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgE, 또는 IgM 불변 도메인 루프 영역, 그의 단편 (단독 또는 예를 들어 인접 β-가닥으로부터의 추가 서열에 의해 캡핑됨), IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgD, IgE, 또는 IgM 루프 영역으로부터의 단편의 조합을 포함한다 (본원에서 "루프 영역 유래 스페이서"로서 언급됨). 특정 양태에서, 스페이서는 힌지 영역 유래 스페이서, 루프 영역 유래 스페이서, 또는 이들 둘 다 (예를 들어, 2개 이상의 연쇄 힌지 영역 유래 스페이서 및 루프 영역 유래 스페이서)를 포함한다.

[0197] 따라서, 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오타이드는 하기를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩한다: (i) AP-1 전사 인자, (ii) 제1 링커 (예를 들어, P2A 링커), (iii) 신호 펩티드 (예를 들어, hI κ), (iv) 항원-결합

도메인 (예를 들어, scFv), (v) 제2 링커 (예를 들어, GGGSG; 서열 번호: 40), (vi) 스페이서 (예를 들어, IgG2 힌지 유래 스페이서), (vii) 막횡단 도메인 (예를 들어, CD28), (viii) 공동자극 도메인 (예를 들어, 4-1BB), (ix) 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, CD3 ζ), (x) 제3 링커 (예를 들어, P2A 링커), 및 (xi) EGFRt.

[0198] 일부 양태에서, 본 개시내용에 유용한 스페이서는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 면역글로불린 중쇄의 하위서열을 포함한다: 인간 IgA1 (Uniprot: P01876, IGHA1_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 알파 1; 서열 번호: 41), 인간 IgA2 (Uniprot P01877, IGHA2_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 알파 2; 서열 번호: 42), 무린 IgG2A (Uniprot P01665, GCAM_MOUSE, 면역글로불린 감마 2A 사슬 C 영역; 서열 번호: 43), 인간 IgG1 (Uniprot P01857, IGHG1_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 감마 1; 서열 번호: 44), 인간 IgG2 (Uniprot P01859, IGHG2_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 감마 2; 서열 번호: 45), 인간 IgG3 (Uniprot P01860, IGHG3_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 감마 3; 서열 번호: 46), 인간 IgG4 (Uniprot P01861, IGHG4, 면역글로불린 중질 불변 감마 4; 서열 번호: 47), 인간 IgD (Uniprot P01880, IGHD_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 델타; 서열 번호: 48), 인간 IgE (Uniprot P01854, IGHE_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 사슬 엡실론; 서열 번호: 49), 또는 IgM (Uniprot P01871, IGHM_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 뮤; 서열 번호: 50), 여기서 하위서열은 CH1-CH2 힌지 영역 또는 그의 일부를 포함한다. 일부 양태에서, 하위서열은 CH1 및/또는 CH2 불변 도메인의 인접 부분을 추가로 포함한다.

[0199] 일부 양태에서, 스페이서는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된 면역글로불린 중쇄의 하위서열을 포함한다: 인간 IgA1 (Uniprot: P01876, IGHA1_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 알파 1; 서열 번호: 41), 인간 IgA2 (Uniprot P01877, IGHA2_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 알파 2; 서열 번호: 42), 무린 IgG2A (Uniprot P01665, GCAM_MOUSE, 면역글로불린 감마 2A 사슬 C 영역; 서열 번호: 43), 인간 IgG1 (Uniprot P01857, IGHG1_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 감마 1; 서열 번호: 44), 인간 IgG2 (Uniprot P01859, IGHG2_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 감마 2; 서열 번호: 45), 인간 IgG3 (Uniprot P01860, IGHG3_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 감마 3; 서열 번호: 46), 인간 IgG4 (Uniprot P01861, IGHG4, 면역글로불린 중질 불변 감마 4; 서열 번호: 47), 인간 IgD (Uniprot P01880, IGHD_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 델타; 서열 번호: 48), 인간 IgE (Uniprot P01854, IGHE_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 사슬 엡실론; 서열 번호: 49), 또는 IgM (Uniprot P01871, IGHM_HUMAN, 면역글로불린 중질 불변 뮤; 서열 번호: 50), 여기서 하위서열은 불변 도메인 또는 그의 일부로부터의 루프 영역을 포함한다. 일부 양태에서, 하위서열은 β -가닥의 인접 부분을 추가로 포함한다.

[0200] 일부 양태에서, 본 개시내용에 유용한 스페이서는 IgG, 예를 들어, IgG1, IgG2, IgG3, 또는 IgG4로부터 유래된다. 특정 양태에서, 스페이서는 IgG2 힌지로부터 유래된다. 일부 양태에서, IgG2 힌지 유래 스페이서는 서열 번호: 51 (KPCPPCKCP)의 적어도 5, 6, 또는 7개의 연속 아미노산을 포함한다. 일부 양태에서, 스페이서는 서열 번호: 51 (KPCPPCKCP)에 기재된 서열과 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 적어도 약 99%, 또는 약 100% 동일한 아미노산 서열을 포함한다. 특정 양태에서, 스페이서는 서열 번호: 51 (KPCPPCKCP)에 기재된 서열을 포함하거나, 이것으로 이루어지거나, 본질적으로 이것으로 이루어진다. 추가의 양태에서, 스페이서는 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 또는 10개 아미노산 치환을 제외하고는 서열 번호: 51 (KPCPPCKCP)에 기재된 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 아미노산 치환은 보존적 아미노산 치환이다. 일부 양태에서, 아미노산 치환은 적어도 하나의 비-보존적 아미노산 치환을 포함한다.

[0201] 일부 양태에서, 본 개시내용의 스페이서는 서열 번호: 51에 기재된 서열을 포함하며, 여기서 스페이서 서열은 임의적 유연성 링커 (예를 들어, GGGSG (서열 번호: 40)의 링커)를 추가로 포함한다. 따라서, 일부 양태에서, 본 개시내용의 스페이서는 스페이서 서열 (예를 들어, 서열 번호: 51) 및 임의적 C-말단 또는 N-말단 유연성 링커를 포함한다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 임의의 임의적 유연성 링커 (예를 들어, gly/ser 풍부 링커)는 스페이서의 C-말단 및/또는 N-말단에 부착될 수 있다.

[0202] **신호 펩티드**

[0203] 본원에 기재된 바와 같이, 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열을 포함함)는 또한 신호 펩티드를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 신호 펩티드는 인코딩된 단백질의 세포 표면 발현을 용이하게 할 수 있고, 이어서 성숙 단백질로부터 후속 절단될 수 있다.

[0204] 당업계에 공지된 임의의 적합한 신호 펩티드가 본 개시내용에서 사용될 수 있다. 신호 펩티드의 비-제한적 예가 표 9 (하기)에 제공되어 있다. 특정 양태에서, 신호 펩티드는 인간 Ig 카파로부터 유래된다. 일부 양태에서, 신

호 펩티드는 서열 번호: 54 (MVLQTQVFISLLWISGAYG)에 기재된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 특정 양태에서, 신호 펩티드는 서열 번호: 54 (MVLQTQVFISLLWISGAYG)에 기재된 아미노산 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 신호 펩티드는 GM-CSF로부터 유래된다. 특정 양태에서, 이러한 신호 펩티드는 서열 번호: 53 (MLLLVTSLLLCELPHPAFLIP)에 기재된 아미노산 서열과 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 서열 동일성을 갖는 아미노산 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 신호 펩티드는 서열 번호: 53 (MLLLVTSLLLCELPHPAFLIP)에 기재된 아미노산 서열을 포함한다.

표 9: 신호 펩티드 서열

공급원	서열
EGFR	MRPSGTAGAALLALLAALCPASRA (서열 번호: 52)
GM-CSF	MLLLVTSLLLCELPHPAFLIP (서열 번호: 53)
인간 Ig kappa	MVLQTQVFISLLWISGAYG (서열 번호: 54)
인간 CD33	MPLLLLLLPLLWAGALA (서열 번호: 55)

일부 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드는 단일 신호 펩티드 (예를 들어, 서열 번호: 53 또는 54)를 포함한다. 일부 양태에서, 폴리뉴클레오티드는 다수의 신호 펩티드 (예를 들어, 적어도 2, 3, 4개, 또는 그 초과)를 포함한다. 따라서, 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드는 하기를 포함하는 폴리펩티드를 인코딩한다: (i) AP-1 전사 인자, (ii) 제1 링커 (예를 들어, P2A 링커), (iii) 제1 신호 펩티드 (예를 들어, hIgκ), (iv) 항원-결합 도메인 (예를 들어, scFv), (v) 제2 링커 (예를 들어, GGGSG; 서열 번호: 40), (vi) 스페이스 (예를 들어, IgG2 힌지 유래 스페이스), (vii) 막횡단 도메인 (예를 들어, CD28), (viii) 공동자극 도메인 (예를 들어, 4-1BB), (ix) 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, CD3ζ), (x) 제3 링커 (예를 들어, P2A 링커), (xi) 제2 신호 펩티드 (예를 들어, GM-CSF), 및 (xii) EGFRt.

백터

일부 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, AP-1 전사 인자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열, 예를 들어, 코돈-최적화된 뉴클레오티드 서열을 포함함)를 포함하는 백터 (예를 들어, 발현 백터)가 본원에서 제공된다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 백터는 다수 (예를 들어, 2, 3, 또는 4개 또는 그 초과)의 폴리뉴클레오티드를 포함하며, 여기서 다수의 폴리뉴클레오티드는 각각 본원에 기재된 단백질 (예를 들어, AP-1 전사 인자, 리간드 결합 단백질 (예를 들어, 키메라 결합 단백질, 예를 들어, CAR), 또는 EGFRt)을 인코딩한다. 따라서, 특정 양태에서, 백터는 폴리시스트론 백터 (예를 들어, 비시스트론 백터 또는 트리시스트론 백터)를 포함한다. 특정 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드는 동일한 백터 상에 (예를 들어, 멀티시스트론 발현 백터 상에) 있다. 특정 양태에서, 본원에 기재된 단백질 (예를 들어, AP-1 전사 인자, 리간드 결합 단백질 (예를 들어, 키메라 결합 단백질, 예를 들어, CAR), 또는 EGFRt)을 인코딩하는 폴리뉴클레오티드는 하나 이상의 별도의 백터 상에 제공된다.

본원에 기재된 바와 같이, 이러한 백터는 숙주 세포 및 치료적 개입에 대하여 표적화된 세포에서의 재조합 발현에 유용하다. 용어 "백터"는, 본원에서 사용되는 바와 같이, 그것이 연결된 또 다른 핵산을 수송할 수 있는 핵산 분자; 또는 또 다른 핵산을 수송할 수 있는 이러한 핵산 분자를 포함하는 엔티티를 지칭하도록 의도된다. 일부 양태에서, 백터는 추가의 DNA 세그먼트가 결합될 수 있는 원형 이중 가닥 DNA 루프를 지칭하는 "플라스미드"이다. 일부 양태에서, 백터는 바이러스 백터이며, 여기서는 추가의 DNA 세그먼트가 바이러스 게놈으로 결합될 수 있다. 특정 백터, 또는 백터의 부분인 폴리뉴클레오티드는, 이들이 도입되는 숙주 세포에서 자율 복제가 가능하다 (예를 들어, 박테리아 복제 기점을 갖는 박테리아 백터, 및 에피솜 포유동물 백터). 다른 백터 (예를 들어, 비-에피솜 포유동물 백터)는 숙주 세포로의 도입시 숙주 세포의 게놈으로 통합될 수 있고, 이로써 숙주 게놈과 함께 복제된다. 또한, 특정 백터는 이들이 작동가능하게 연결된 유전자의 발현을 지시할 수 있다. 이러한 백터는 본원에서 "재조합 발현 백터" (또는 간단히, "발현 백터")로서 언급된다. 일반적으로, 재조합 DNA 기술에서 유용성을 갖는 발현 백터는 종종 플라스미드 형태이다. 본 개시내용에서, "플라스미드" 및 "백터"는 문맥에 따라 때때로 상호교환가능하게 사용될 수 있는데, 이는 플라스미드가 백터의 가장 통상적으로 사용되는 형태이기 때문이다. 그러나, 동등한 기능을 제공하는 다른 형태의 발현 백터, 예컨대 바이러스 백터 (예를 들어, 렌티바이러스, 복제 결합 레트로바이러스, 폭스바이러스, 헤르페스바이러스, 바칼로바이러스, 아데노바이러스, 및 아데노-관련 바이러스)가 본원에 또한 개시된다.

- [0211] 일부 양태에서, 벡터는 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열을 포함함) 및 조절 요소를 포함한다. 예를 들어, 특정 양태에서, 벡터는, 프로모터에 작동가능하게 연결된 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열을 포함함)를 포함한다. 일부 양태에서, 벡터는 다수의 프로모터 (예를 들어, 적어도 2, 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5개 이상)를 포함할 수 있다. 예를 들어, 일부 양태에서, AP-1 전사 인자를 인코딩하는 뉴클레오티드 서열 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열)은 제1 프로모터의 제어 하에 있을 것이고, 폴리뉴클레오티드의 추가의 성분 중 하나 이상 (예를 들어, 키메라 결합 단백질)을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열은 제2 프로모터의 제어 하에 있을 수 있다. 특정 양태에서, 다수의 프로모터 각각은 동일하다. 일부 양태에서, 다수의 프로모터 중 하나 이상은 상이하다.
- [0212] 당업계에 공지된 임의의 적합한 프로모터가 본 개시내용에서 사용될 수 있다. 일부 양태에서, 본 개시내용에 유용한 프로모터는 포유동물 또는 바이러스 프로모터, 예컨대 구성적 또는 유도성 프로모터를 포함한다. 일부 양태에서, 본 개시내용에서의 프로모터는 적어도 하나의 구성적 프로모터 및 적어도 하나의 유도성 프로모터, 예를 들어, 조직 특이적 프로모터를 포함한다.
- [0213] 구성적 포유동물 프로모터는 하기 유전자에 대한 프로모터를 포함하나 이에 제한되지는 않는다: 하이포크산틴 포스포리보실 트랜스퍼라제 (HPRT), 아데노신 데아미나제, 피루베이트 키나제, 베타-액틴 프로모터, 및 다른 구성적 프로모터. 진핵 세포에서 구성적으로 기능하는 예시적 바이러스 프로모터는, 예를 들어, 사이토메갈로바이러스 (CMV), 유인원 바이러스 (예를 들어, SV40), 파필로마 바이러스, 아데노바이러스, 인간 면역결핍 바이러스 (HIV), 라우스 육종 바이러스, 사이토메갈로바이러스, 모로니 백혈병 바이러스의 긴 말단 반복 (LTR), 및 다른 레트로바이러스로부터의 프로모터, 및 단순 헤르페스 바이러스의 티미딘 키나제 프로모터를 포함한다. 본원에 기재된 바와 같이, 일부 양태에서, 본 개시내용에서 사용될 수 있는 프로모터는 유도성 프로모터이다. 유도성 프로모터는 유도 작용제의 존재 하에 발현된다. 예를 들어, 메탈로티오네인 프로모터는 특정 금속 이온의 존재 하에 전사 및 번역을 촉진하도록 유도된다. 다수의 유도성 프로모터가 존재하는 경우, 이들은 동일한 유도자 분자 또는 상이한 유도자에 의해 유도될 수 있다.
- [0214] 일부 양태에서, 프로모터는 골수증식성 육종 바이러스 인핸서, 결실된 음성 대조군 영역, dl587rev 프라이머-결합 부위 치환 (MND) 프로모터, EF1a 프로모터, 또는 둘 다를 포함한다.
- [0215] 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열을 포함함) 중 임의의 것을 포함하는 벡터는 하나 이상의 추가의 조절 요소를 추가로 포함한다. 조절 요소의 비-제한적 예는 번역 인핸서 요소 (TEE), 번역 개시 서열, 마이크로RNA 결합 부위 또는 그의 시드, 연결된 뉴클레오티드의 3' 테일링 영역, AU 풍부 요소 (ARE), 전사 후 제어 조절자, 5' UTR, 3' UTR, 국소화 서열 (예를 들어, 막-국소화 서열, 핵 국소화 서열, 핵 배제 서열, 또는 프로테아솜 표적화 서열), 번역 후 변형 서열 (예를 들어, 유비퀴틴화, 인산화, 또는 탈인산화), 또는 이들의 조합을 포함한다.
- [0216] 일부 양태에서, 벡터는 전이성 요소를 추가로 포함할 수 있다. 따라서, 특정 양태에서, 벡터는 적어도 2개의 트랜스포존-특이적 역위 말단 반복 (ITR)에 의해 플랜킹된 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열을 포함함)를 포함한다. 일부 양태에서, 트랜스포존-특이적 ITR은 DNA 트랜스포존에 의해 인식된다. 일부 양태에서, 트랜스포존-특이적 ITR은 레트로트랜스포존에 의해 인식된다. 당업계에 공지된 임의의 트랜스포존 시스템은 숙주 세포, 예를 들어, 면역 세포의 게놈으로 핵산 분자를 도입하기 위해 사용될 수 있다. 일부 양태에서, 트랜스포존은 hAT-유사 Tol2, 슬리핑 뷰티(Sleeping Beauty; SB), 프로그 프린스 (Frog Prince), 피기백(piggyBac; PB), 및 이들의 임의의 조합으로부터 선택된다. 일부 양태에서, 트랜스포존은 슬리핑 뷰티를 포함한다. 일부 양태에서, 트랜스포존은 피기백을 포함한다. 예를 들어, 그 전체가 본원에 참조로 포함되는 하기 문헌 참조: Zhao et al., *Transl. Lung Cancer Res.* 5(1):120-25 (2016).
- [0217] 일부 양태에서, 벡터는 전이 벡터이다. 용어 "전이 벡터"는 단리된 핵산 (예를 들어, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드)을 포함하고 단리된 핵산을 세포의 내부로 전달하기 위해 사용될 수 있는 물질의 조성물을 지칭한다. 선형 폴리뉴클레오티드, 이온성 또는 양친매성 화합물과 회합된 폴리뉴클레오티드, 플라스미드, 및 바이러스를 포함하나 이에 제한되지 않는 수많은 벡터가 당업계에 공지되어 있다. 따라서, 용어 "전이 벡터"는 자가 복제 플라스미드 또는 바이러스를 포함한다. 용어는 또한, 예를 들어, 폴리리신 화합물, 리포솜 등과 같이 핵산의 세포로의 전이를 용이하게 하는 비-플라스미드 및 비-바이러스 화합물을 추가로 포함하는 것으로 해석되어야 한다. 바이러스 전이 벡터의 예는 아데노바이러스 벡터, 아데노-관련 바이러스 벡터, 레트로바이러스 벡터, 렌티바이러스 벡터 등을 포함하나 이에 제한되지는 않는다.

- [0218] 일부 양태에서, 벡터는 발현 벡터이다. 용어 "발현 벡터"는 발현될 뉴클레오티드 서열에 작동가능하게 연결된 발현 제어 서열을 포함하는 재조합 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 본 개시내용의 폴리캡티드)를 포함하는 벡터를 지칭한다. 발현 벡터는 발현을 위해 충분한 시스-작용 요소를 포함하고; 발현을 위한 다른 요소는 숙주 세포에 의해 또는 시험관내 발현 시스템에서 공급될 수 있다. 발현 벡터는 재조합 폴리뉴클레오티드를 혼입한 코스미드, 플라스미드 (예를 들어, 네이키드이거나 리포솜에 함유됨) 및 바이러스 (예를 들어, 렌티바이러스, 레트로바이러스, 아데노바이러스, 및 아데노-관련 바이러스)를 포함한 당업계에 공지된 모든 것들을 포함한다.
- [0219] 일부 양태에서, 벡터는 바이러스 벡터, 포유동물 벡터, 또는 박테리아 벡터이다. 일부 양태에서, 벡터는 아데노바이러스 벡터, 렌티바이러스, 센다이 바이러스 벡터, 바콜로바이러스 벡터, 엡스타인 바 바이러스 벡터, 파포바바이러스 벡터, 백시니아 바이러스 벡터, 단순 헤르페스 바이러스 벡터, 하이브리드 벡터, 및 아데노 관련 바이러스 (AAV) 벡터로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0220] 일부 양태에서, 아데노바이러스 벡터는 3세대 아데노바이러스 벡터이다. ADEASY™는 아데노바이러스 벡터 작제물을 생성하는 데 가장 널리 사용되는 방법이다. 시스템은 하기 두 가지 유형의 플라스미드로 이루어진다: 서틀 (또는 전이) 벡터 및 아데노바이러스 벡터. 관심 이식유전자는 서틀 벡터로 클로닝되고, 검증되고, 제한 효소 PmeI로 선형화된다. 이어서 이 작제물은 PADEASY™를 함유하는 BJ5183 대장균(*E. coli*) 세포인 ADEASIER-1 세포로 형질전환된다. PADEASY™는 바이러스 생성을 위해 필수적인 아데노바이러스 유전자를 함유하는 약 33Kb 아데노바이러스 플라스미드이다. 서틀 벡터 및 아데노바이러스 플라스미드는 아데노바이러스 플라스미드로의 이식 유전자의 상동 재조합을 용이하게 하는 매칭되는 좌측 및 우측 상동성 아암(arm)을 갖는다. 또한 표준 BJ5183을 슈퍼코일 PADEASY™ 및 서틀 벡터와 공동-형질전환할 수 있지만, 이 방법은 비-재조합 아데노바이러스 플라스미드의 보다 높은 백그라운드를 초래한다. 이어서 재조합 아데노바이러스 플라스미드는 이식유전자가 아데노바이러스 플라스미드에 삽입되었고 다른 패턴의 재조합이 발생하지 않았는지를 결정하기 위해 크기 및 적절한 제한 분해 패턴에 대해 검증된다. 일단 검증되면, 재조합 플라스미드는 PacI로 선형화되어 ITR에 의해 플랭킹된 선형 dsDNA 작제물을 생성한다. 293 또는 911 세포는 선형화된 작제물로 트랜스펙션되고, 바이러스는 약 7-10일 후에 수확될 수 있다. 이 방법에 추가로, 본 출원이 출원된 당시 당업계에 공지된 아데노바이러스 벡터 작제물을 생성하는 다른 방법을 사용하여 본원에 개시된 방법을 실행할 수 있다.
- [0221] 일부 양태에서, 바이러스 벡터는 레트로바이러스 벡터, 예를 들어, 렌티바이러스 벡터 (예를 들어, 3 또는 4세대 렌티바이러스 벡터)이다. 용어 "렌티바이러스"는 레트로바이러스(Retroviridae) 과의 속을 지칭한다. 렌티바이러스는 비-분할 세포를 감염시킬 수 있다는 점에서 레트로바이러스 중에서 독특하고; 이들은 상당량의 유전 정보를 숙주 세포의 DNA로 전달할 수 있어, 이들은 유전자 전달 벡터의 가장 효율적인 방법 중 하나이다. HIV, SIV, 및 FIV는 모두 렌티바이러스의 예이다. 용어 "렌티바이러스 벡터"는, 특히 문헌 [Milone et al., *Mol. Ther* 17(8): 1453-1464 (2009)]에 제공된 바와 같은 자가-불활성화 렌티바이러스 벡터를 포함한, 렌티바이러스 계통의 적어도 일부로부터 유래된 벡터를 지칭한다. 임상에서 사용될 수 있는 렌티바이러스 벡터의 다른 예는 하기를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다: 예를 들어, Oxford BioMedica로부터의 LENTIVECTOR® 유전자 전달 기술, Lentigen으로부터의 LENTIMAX™ 벡터 시스템 등. 비임상 유형의 렌티바이러스 벡터 또한 이용가능하며 당업자에게 공지되어 있다.
- [0222] 렌티바이러스 벡터는 통상적으로 세포주가 3개의 별도의 플라스미드 발현 시스템으로 트랜스펙션되는 일시적 트랜스펙션 시스템에서 생성된다. 이들은 전이 벡터 플라스미드 (HIV 프로바이러스의 부분), 패키징 플라스미드 또는 작제물, 및 상이한 바이러스의 이중 외피 유전자 (*env*)를 갖는 플라스미드를 포함한다. 벡터의 3개의 플라스미드 성분을 패키징 세포에 넣은 다음 HIV 셀에 삽입한다. 벡터의 바이러스 부분은 바이러스가 세포 시스템 내부에서 복제할 수 없도록 삽입 서열을 함유한다. 현재의 3세대 렌티바이러스 벡터는 9개 중 단지 3개의 HIV-1 단백질 (Gag, Pol, Rev)을 인코딩하며, 이들은 복제-유능 바이러스의 재조합-매개 생성을 피하기 위해 별도의 플라스미드로부터 발현된다. 4세대 렌티바이러스 벡터에서, 레트로바이러스 계통은 더욱 감소되었다 (예를 들어, TAKARA® 렌티-X™ 4세대 패키징 시스템 참조).
- [0223] 일부 양태에서는, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열 및 키메라 결합 단백질을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함함)를 대상체의 세포 또는 조직으로 전달하기 위해 비-바이러스 방법이 사용될 수 있다. 일부 양태에서, 비-바이러스 방법은 트랜스포존의 사용을 포함한다. 일부 양태에서, 전달의 비-바이러스 방법의 사용은 세포, 예를 들어, T 또는 NK 세포의 재프로그래밍 및 대상체 내로의 세포의 직접적인 주입을 가능하게 한다. 일부 양태에서, 본 개시내용의 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열 및 키메라 결합 단백질을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함함)는 CRISPR/Cas 시스템 및 게놈 에디션 대안, 예컨대 징크-핑거 뉴클레아제 (ZFN), 전사 활성화제-유사 이펙터 뉴클

레아제 (TALEN), 및 메가뉴클레아제 (MN)의 사용에 의해 표적 세포 (예를 들어, T 세포) 또는 숙주 세포 (예를 들어, 인코딩된 단백질의 재조합 발현을 위한 세포)의 게놈에 삽입될 수 있다.

[0224] 일부 양태에서, 본원에 개시된 벡터 (예를 들어, 렌티바이러스 벡터)는 (i) AP-1 전사 인자 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열) 및 (ii) 항원-결합 도메인 (예를 들어, 항-ROR1 scFv)을 인코딩하는 하나 이상의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 양태에서, 벡터는 (i) AP-1 전사 인자 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열), (ii) 항원-결합 도메인 (예를 들어, 항-ROR1 scFv), 및 (iii) EGFRt를 인코딩하는 하나 이상의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 일부 양태에서, 벡터는 (i) AP-1 전사 인자 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열), (ii) 항원-결합 도메인 (예를 들어, 항-ROR1 scFv), (iii) 막횡단 도메인 (예를 들어, CD28), (iv) 공동자극 도메인 (4-1BB), (v) 세포내 신호전달 도메인 (CD3 ζ), 및 (vi) EGFRt를 인코딩하는 하나 이상의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 특정 양태에서, 하나 이상의 뉴클레오티드 서열은 링커, 스페이서, 신호 펩티드, 또는 이들의 조합을 추가로 인코딩한다. 예를 들어, 일부 양태에서, 본원에 기재된 벡터는 (5'에서 3'으로) 하기를 포함하는 폴리뉴클레오티드를 포함한다: (i) AP-1 전사 인자를 인코딩하는 제1 뉴클레오티드 서열 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열), (ii) 제1 링커 (예를 들어, P2A 링커)를 인코딩하는 제2 뉴클레오티드 서열, (iii) 제1 신호 펩티드 (예를 들어, hIg κ)를 인코딩하는 제3 뉴클레오티드 서열, (iv) 항원-결합 도메인 (예를 들어, 항-ROR1 scFv)을 인코딩하는 제4 뉴클레오티드 서열, (v) 제2 링커 (예를 들어, GGGSG; 서열 번호: 40)를 인코딩하는 제5 뉴클레오티드 서열, (vi) 스페이서 (예를 들어, IgG2 힌지 유래 스페이서)를 인코딩하는 제6 뉴클레오티드 서열, (vii) 막횡단 도메인 (예를 들어, CD28)을 인코딩하는 제7 뉴클레오티드 서열, (viii) 공동자극 도메인 (예를 들어, 4-1BB)을 인코딩하는 제8 뉴클레오티드 서열, (ix) 세포내 신호전달 도메인 (예를 들어, CD3 ζ)을 인코딩하는 제9 뉴클레오티드 서열, (x) 제3 링커 (예를 들어, P2A 링커)를 인코딩하는 제10 뉴클레오티드 서열, (xi) 제2 신호 펩티드 (예를 들어, GM-CSF)를 인코딩하는 제11 뉴클레오티드 서열, 및 (xii) EGFRt를 인코딩하는 제12 뉴클레오티드 서열.

[0225] 일부 양태에서, 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오티드 서열을 포함함)는 DNA (예를 들어, DNA 분자 또는 그의 조합), RNA (예를 들어, RNA 분자 또는 그의 조합), 또는 이들의 임의의 조합이다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 폴리뉴클레오티드는 게놈 또는 cDNA 형태의 단일 가닥 또는 이중 가닥 RNA 또는 DNA (예를 들어, ssDNA 또는 dsDNA), 또는 DNA-RNA 하이브리드를 포함하는 핵산 서열을 포함하며, 이들 각각은 화학적으로 또는 생화학적으로 변형된, 비-천연 또는 유도체화된 뉴클레오티드 염기를 포함할 수 있다. 본원에 기재된 바와 같이, 이러한 핵산 서열은, polyA 서열, 변형된 Kozak 서열, 및 에피토프 태그, 수출 신호, 및 분비 신호, 핵 국소화 신호, 및 원형질 막 국소화 신호를 인코딩하는 서열을 포함하나 이에 제한되지는 않는 인코딩된 폴리펩티드의 발현 및/또는 정제를 촉진하는 데 유용한 추가의 서열을 포함할 수 있다. 본원의 교시에 기초하여, 어떤 뉴클레오티드 서열이 본원에 기재된 상이한 폴리펩티드 (예를 들어, AP-1 전사 인자 또는 키메라 결합 단백질)를 인코딩할 것인지는 당업자에게 명백할 것이다.

[0226] 세포

[0227] 일부 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것을 포함하도록 변형된 (예를 들어, 유전적으로) 세포 (예를 들어, 면역 세포, 예를 들어, T 세포)가 본원에서 제공된다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 기재된 변형된 세포는 AP-1 전사 인자를 과발현한다. 본 개시내용에서 다른 부분에 기재된 바와 같이, AP-1 전사 인자의 과발현은 세포의 하나 이상의 특성 (예를 들어, 고갈에 대한 저항성, 지속성/생존, 확장/증식, 이펙터 기능 (예를 들어, 항원 자극시 시토카인 생성, 표적 항원을 발현하는 세포의 용해, 또는 이들 둘 다), 또는 이들의 조합)을 개선하고/하거나 향상시킬 수 있다. 일부 양태에서, 변형된 세포는 본원에 기재된 추가의 변형 서열에 의해 인코딩되는 하나 이상의 단백질 (예를 들어, 키메라 결합 단백질, 링커, EGFRt, 스페이서, 신호 펩티드, 또는 이들의 조합)을 추가로 발현한다.

[0228] 일부 양태에서, 본원에 개시된 변형된 세포는 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 또는 벡터로 트랜스펙션된 것이다. 용어 "트랜스펙션된" (또는 동등한 용어 "형질전환된" 및 "형질도입된")은 외인성 핵산, 예를 들어, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 또는 벡터가, 숙주 세포, 예를 들어, T 세포의 게놈으로 전이되거나 도입되는 과정을 지칭한다. "트랜스펙션된" 세포는 외인성 핵산, 예를 들어, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드 또는 벡터로 트랜스펙션된, 형질전환된 또는 형질도입된 것이다. 세포는 1차 대상체 세포 및 그의 자손을 포함한다.

[0229] 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포는 전사 활성화제로 변형된 것이고, 이는 세포에서 관심 단백질 (예를 들어, c-Jun)의 내인성 발현을 유도하고/하거나 증가시킬 수 있다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "전사 활성화

제"는 유전자 또는 유전자 세트의 전사를 증가시키는 (예를 들어, 핵산 서열의 인헨서 또는 프로모터-근위 요소에 결합하고, 이로써 그의 전사를 유도함으로써) 단백질을 지칭한다. 본 개시내용에서 사용될 수 있는 이러한 전사 활성화제의 비-제한적 예는 하기를 포함한다: 전사 활성화제-유사 이펙터 (TALE) 기반 전사 활성화제, 징크 핑거 단백질 (ZFP) 기반 전사 활성화제, CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats)/CRISPR-관련 단백질 (Cas) 시스템 기반 전사 활성화제, 또는 이들의 조합. 예를 들어, 그 전체가 본원에 참조로 포함되는 하기 문헌 참조: Kabadi *et al.*, *Methods* 69(2): 188-197 (Sep. 2014).

[0230] 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포는 CRISPR/Cas-시스템 기반 전사 활성화제, 예컨대 CRISPR 활성화 (CRISPRa)로 변형된 것이다. 예를 들어, 그 전체가 본원에 참조로 포함되는 하기 문헌 참조: Nissim *et al.*, *Molecular Cell* 54: 1-13 (May 2014). CRISPRa는 엔도뉴클레아제 활성이 없지만 그의 가이드 RNA 및 표적 DNA 핵산 서열에 결합하는 능력을 보유하는 변형된 Cas 단백질의 사용을 포함하는 CRISPR 도구의 유형이다. 본 개시내용에서 사용될 수 있는 이러한 변형된 Cas 단백질의 비-제한적 예는 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 그 전체가 본원에 참조로 포함되는 하기 문헌 참조: Pandelakis *et al.*, *Cell Systems* 10(1): 1-14 (Jan. 2020). 일부 양태에서, 변형된 Cas 단백질은 변형된 Cas9 단백질 (또한 당업계에서 "dCas9"로서 언급됨)을 포함한다. 일부 양태에서, 변형된 Cas 단백질은 변형된 Cas12a 단백질을 포함한다. 일부 양태에서, 본 개시내용에 유용한 변형된 Cas 단백질은 가이드 폴리뉴클레오티드 (예를 들어, 작은 가이드 RNA)에 결합되며 ("변형된 Cas-가이드 복합체"), 여기서 가이드 폴리뉴클레오티드는 관심 단백질 (예를 들어, c-Jun)을 인코딩하는 핵산 서열의 영역에 대해 상보적인 인식 서열을 포함한다. 일부 양태에서, 하나 이상의 전사 활성화제는 변형된 Cas-가이드 복합체 (예를 들어, 변형된 Cas 단백질의 N- 및/또는 C-말단)에 부착되고, 그에 따라 변형된 Cas-가이드 복합체가 세포에 도입될 때, 하나 이상의 전사 활성화제가 핵산 서열의 조절 요소에 결합하고, 이로써 인코딩된 단백질 (예를 들어, c-Jun)의 발현을 유도하고/하거나 증가시킬 수 있다. 일부 양태에서, 하나 이상의 전사 억제자 (예를 들어, 크루펠(Kruppel)-관련 박스 도메인 (KRAB))는 변형된 Cas-가이드 복합체 (예를 들어, 변형된 Cas 단백질의 N- 및/또는 C-말단)에 부착될 수 있고, 그에 따라 세포에 도입될 때, 하나 이상의 전사 억제자가, 예를 들어, c-Jun의 발현을 방해할 수 있는 것들 (예를 들어, Bach2)과 같은 유전자의 전사를 억제하거나 감소시킬 수 있다. 예를 들어, 각각 그 전체가 본원에 참조로 포함되는 하기 문헌 참조: US20200030379A1 및 Yang *et al.*, *J Transl Med* 19:459 (2021). 일부 양태에서, 본 개시내용에 유용한 변형된 Cas 단백질은 하나 이상의 전사 활성화제 및 하나 이상의 전사 억제자 둘 다에 부착될 수 있다.

[0231] 어느 하나의 이론에 얽매이지 않으며, 일부 양태에서, 이러한 변형된 Cas 단백질의 사용은 관심 유전자의 조건부 전사 및 발현을 가능하게 할 수 있다. 예를 들어, 일부 양태에서, 세포 (예를 들어, T 세포)는 c-Jun의 프로모터 영역을 표적화하는 단일 가이드 RNA (sgRNA) 및 프로테아제 (예를 들어, 담배 에치 바이러스 (TEV))에 연결된 키메라 항원 수용체 (CAR) (예를 들어, 항-ROR1 CAR)를 포함하도록 변형된다. 일부 양태에서, 세포는 링커 (예를 들어, TEV-절단가능 링커)를 통해 전사 활성화제 (예를 들어, dCas9-VP64-p65-Rta 전사 활성화제 (VP R))에 부착된 변형된 Cas 단백질에 복합체화된 T 세포의 활성화를 위한 링커 (LAT)를 추가로 포함하도록 변형된다. CAR의 활성화시, 변형된 Cas 단백질이 핵 국소화를 위해 방출되고 c-Jun의 발현을 조건부로 가역적으로 유도한다. 그 전체가 본원에 참조로 포함되는 하기 문헌 참조: Yang *et al.*, *J Immunother Cancer* 9(Suppl2): A164 (2021).

[0232] 당업자에게 명백한 바와 같이, 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포는 다수의 접근의 조합을 사용하여 변형되었다. 예를 들어, 일부 양태에서, 세포는, 예를 들어, 단독으로 또는 다른 관심 단백질 (예를 들어, 리간드-결합 단백질)을 인코딩하는 하나 이상의 뉴클레오티드 서열과 조합하여, 본원에 기재된 코돈-최적화된 c-Jun 뉴클레오티드 서열을 포함하도록 변형되었다. 일부 양태에서, 이러한 세포는 내인성 c-Jun 단백질의 발현을 증가시킬 수 있는 외인성 전사 활성화제 (예를 들어, CRISPRa)로 추가로 변형된다. 어느 하나의 이론에 얽매이지 않으며, 일부 양태에서, 이러한 조합 접근은 면역 세포가 훨씬 더 높은 수준의 c-Jun 단백질 발현 (예를 들어, 외인성 뉴클레오티드 서열에 의해 인코딩되고 또한 면역 세포에 의해 내인성으로 발현됨)을 갖는 것을 가능하게 할 수 있다.

[0233] 달리 지시되지 않는 한, 하나 이상의 외인성 뉴클레오티드 서열 및/또는 전사 활성화제는 당업계에 공지된 임의의 적합한 방법을 사용하여 세포로 도입될 수 있다. 하나 이상의 외인성 뉴클레오티드 서열을 세포로 전달하기에 적합한 방법의 비-제한적 예는 하기를 포함한다: 트랜스펙션 (형질전환 및 형질도입이라고도 공지됨), 전기천공, 비-바이러스 전달, 바이러스 형질도입, 지질 나노입자 전달, 및 이들의 조합.

[0234] 일부 양태에서, 세포는 면역 세포이다. 일부 양태에서, 면역 세포는 인간 대상체로부터 단리된다. 일부 양태에서, 면역 세포는 T 세포이다. 일부 양태에서, T 세포는 Th1 세포, Th2 세포, Th17 세포, Tc17 세포, 또는 이들

의 조합이다. 일부 양태에서, 면역 세포는 NK 세포이다. 일부 양태에서, 면역 세포는 중앙 침윤 림프구 (TIL)이다. 일부 양태에서, 면역 세포는 조절 T 세포 (Treg)이다. 일부 양태에서, 면역 세포는 자연 킬러 T (NKT) 세포이다. 일부 양태에서, 면역 세포는 B 세포이다.

[0235] 일부 양태에서, 세포는 면역 이펙터 세포이다. 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "면역 이펙터 세포"는 면역 반응에, 예를 들어, 면역 이펙터 반응의 촉진에 관여하는 세포를 지칭한다. "면역 이펙터 기능" 또는 "면역 이펙터 반응"은, 예를 들어, 표적 세포의 면역 공격을 향상시키거나 촉진하는, 면역 이펙터 세포의 기능 또는 반응을 지칭한다. 예를 들어, 면역 이펙터 기능 또는 반응은 표적 세포의 사멸 또는 성장 또는 증식의 억제를 촉진하는 T 또는 NK 세포의 특성을 지칭한다. T 세포의 경우, 일차 자극 및 공동 자극이 면역 이펙터 기능 또는 반응의 예이다.

[0236] 용어 "이펙터 기능"은 세포의 특화된 기능을 지칭한다. T 세포의 이펙터 기능은, 예를 들어, 시토카인의 분비를 포함한 세포용해 활성 또는 헬퍼 활성일 수 있다. 키메라 결합 단백질 (예를 들어, CAR)의 세포내 신호전달 도메인은 키메라 결합 단백질 함유 세포, 예를 들어 CAR T 세포의 면역 이펙터 기능을 촉진하는 신호를 생성할 수 있다. 예를 들어, CAR T 세포에서, 면역 이펙터 기능의 예는, 시토카인의 분비를 포함한 세포용해 활성 및 헬퍼 활성을 포함한다. 일부 양태에서, 세포내 신호 도메인은 이펙터 기능 신호를 변환하고 세포가 특화된 기능을 수행하도록 지시하는 키메라 결합 단백질 (예를 들어, CAR)의 부분이다. 전체 세포내 신호전달 도메인이 사용될 수 있지만, 많은 경우에 전체 사슬을 사용할 필요는 없다. 세포내 신호전달 도메인의 절단된 부분이 사용되는 경우, 이러한 절단된 부분은 이것이 이펙터 기능 신호를 변환하는 한 무손상 사슬 대신에 사용될 수 있다. 따라서 용어 세포내 신호전달 도메인은 이펙터 기능 신호를 변환하기에 충분한 세포내 신호전달 도메인의 임의의 절단된 부분을 포함하도록 의도된다.

[0237] 일부 양태에서, 면역 세포는 만능 또는 다능 전구 세포로부터 분화된다. 이와 같이, 본원에서 사용되는 바와 같이, "면역 세포"는 성숙 면역 세포를 발생시킬 수 있는 만능 또는 다능 세포를 추가로 포함한다. 일부 양태에서, 세포 (예를 들어, 면역 세포)는 유도 만능 줄기 세포 (iPSC)이다. 일부 양태에서, 세포 (예를 들어, 면역 세포)는 배아 줄기 세포이다. 일부 양태에서, 세포는 조혈 줄기 세포이다.

[0238] 일부 양태에서, T 세포는 $CD4^{+}$ T 세포이다. 일부 양태에서, T 세포는 $CD8^{+}$ T 세포이다. 일부 양태에서, T 세포는 나이브 T (T_N) 세포이다. 일부 양태에서, T 세포는 $CD95^{-}/CD45RA^{+}/CD62L^{+}/CCR7^{+}$ 이다. 일부 양태에서, T 세포는 $CD95^{+}/CD45RA^{+}/CD62L^{+}/CCR7^{+}$ 이다. 일부 양태에서, T 세포는 $CD45RO^{+}/CCR7^{-}/CD62L^{-}$ 이다. 일부 양태에서, T 세포는 $CD45RO^{+}/CCR7^{-}/CD62L^{-}$ 이다.

[0239] 본 개시내용으로부터 명백한 바와 같이, 일부 양태에서, 증가된 AP-1 발현을 갖는 세포 (예를 들어, 면역 세포)는 키메라 결합 단백질을 추가로 발현한다. 일부 양태에서, 키메라 결합 단백질은 키메라 항원 수용체 (CAR)이다. 따라서, 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포 (예를 들어, 면역 세포)는 단일 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, 본원에 기재된 것들)로부터 AP-1 전사 인자 및 CAR을 발현하도록 조작되었다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포 (예를 들어, 면역 세포)는 제1 폴리뉴클레오타이드로부터 AP-1 전사 인자를 발현하도록, 또한 제2 폴리뉴클레오타이드로부터 CAR을 발현하도록 조작되었다. 당업계에 공지된 임의의 CAR은, 섹션 5.5.1에 기재된 것들과 같은, 본 개시내용의 세포에서 사용될 수 있다. 특정 양태에서, CAR은 ROR1에 특이적으로 결합한다. 일부 양태에서, CAR은 GPC2에 특이적으로 결합한다. 일부 양태에서, CAR-발현 세포는 CAR T 세포, 예를 들어, 모노 CAR T 세포, 게놈-편집 CAR T 세포, 이중 CAR T 세포, 또는 턴덤 CAR T 세포이다. 이러한 CAR T 세포의 예는 국제 출원 번호 PCT/US2019/044195 (US20210299223A1에 대응됨)에 제공되어 있으며, 이는 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0240] 일부 양태에서, 키메라 결합 단백질은 TCR (예를 들어, 조작된 TCR)을 포함한다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포 (예를 들어, 면역 세포)는 단일 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, 본원에 기재된 것들)로부터 AP-1 전사 인자 및 TCR을 발현하도록 조작되었다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포 (예를 들어, 면역 세포)는 제1 폴리뉴클레오타이드로부터 AP-1 전사 인자, 또한 제2 폴리뉴클레오타이드로부터 TCR을 발현하도록 조작되었다. 섹션 5.4.1에 기재된 것들과 같은, 당업계에 공지된 임의의 TCR이 본 개시내용의 세포에서 사용될 수 있다.

[0241] 일부 양태에서, 키메라 결합 단백질은 키메라 항체-T 세포 수용체 (CaTCR)를 포함한다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포 (예를 들어, 면역 세포)는 단일 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, 본원에 기재된 것들)로부터 AP-1 전사 인자 및 caTCR을 발현하도록 조작되었다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포 (예를 들어, 면역 세포)는 제1

폴리뉴클레오타이드로부터 AP-1 전사 인자, 또한 제2 폴리뉴클레오타이드로부터 caTCR을 발현하도록 조작되었다. 섹션 5.4.1에 기재된 것들과 같은 당업계에 공지된 임의의 caTCR이 본 개시내용의 세포에서 사용될 수 있다.

[0242] 일부 양태에서, 키메라 결합 단백질은 키메라 신호전달 수용체 (CSR)를 포함한다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포 (예를 들어, 면역 세포)는 단일 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, 본원에 기재된 것들)로부터 AP-1 전사 인자 및 CSR을 발현하도록 조작되었다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포 (예를 들어, 면역 세포)는 제1 폴리뉴클레오타이드로부터 AP-1 전사 인자, 또한 제2 폴리뉴클레오타이드로부터 CSR을 발현하도록 조작되었다. 섹션 5.4.1에 기재된 것들과 같은 당업계에 공지된 임의의 CSR이 본 개시내용의 세포에서 사용될 수 있다.

[0243] 일부 양태에서, 키메라 결합 단백질은 TCR 모방체를 포함한다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포 (예를 들어, 면역 세포)는 단일 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, 본원에 기재된 것들)로부터 AP-1 전사 인자 및 TCR 모방체를 발현하도록 조작되었다. 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포 (예를 들어, 면역 세포)는 제1 폴리뉴클레오타이드로부터 AP-1 전사 인자, 또한 제2 폴리뉴클레오타이드로부터 TCR 모방체를 발현하도록 조작되었다. 섹션 5.4.1에 기재된 것들과 같은 당업계에 공지된 임의의 TCR 모방체가 본 개시내용의 세포에서 사용될 수 있다.

[0244] 일부 양태에서, 본원에 기재된 세포 (예를 들어, AP-1 전사 인자 및 키메라 결합 단백질을 발현함)는 본원에 기재된 추가의 번역 서열에 의해 인코딩되는 하나 이상의 단백질을 추가로 발현하도록 변형될 수 있다 (예를 들어, 섹션 5.4 참조).

[0245] 본 개시내용의 특정 양태는, 세포, 예를 들어, 면역 세포를 본원에 개시된 폴리뉴클레오타이드 (예를 들어, 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열 및 키메라 결합 단백질을 인코딩하는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리시스트론 폴리뉴클레오타이드)로 트랜스펙션시키고, 세포를 적합한 조건 하에 배양함으로써 본원에 개시된 키메라 결합 단백질을 제조하는 방법에 관한 것이다.

[0246] 조성물

[0247] 일부 양태에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 세포, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것을 포함하는 조성물을 추가로 포함한다. 특정 양태에서, 조성물은 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드에 의해 인코딩된 단백질, 예컨대 키메라 결합 단백질 (예를 들어, CAR) 및 AP-1 전사 인자를 발현하도록 조작된 T 세포 (예를 들어, CAR T 세포, 예를 들어, 항-ROR1 CAR T 세포)를 포함한다. 일부 양태에서, 조성물은 제약 조성물이다. 따라서, (i) AP-1 전사 인자를 발현하도록 변형된 세포 (예를 들어, 면역 세포), 및 (ii) 제약상 허용되는 담체를 포함하며, 예를 들어, 여기서 AP-1 전사 인자의 발현은 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드로 형질도입되지 않은 상응하는 세포에서의 발현과 비교하여 증가된 것인, 제약 조성물이 본원에 개시된다. 일부 양태에서, (i) AP-1 전사 인자 및 키메라 결합 단백질 (예를 들어, CAR)을 발현하도록 변형된 세포 (예를 들어, 면역 세포), 및 (ii) 제약상 허용되는 담체를 포함하며, 예를 들어, 여기서 AP-1 전사 인자의 발현은 코돈-최적화된 AP-1 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 폴리뉴클레오타이드로 형질도입되지 않은 상응하는 세포에서의 발현과 비교하여 증가된 것인, 제약 조성물이 본원에서 제공된다. 본원에 기재된 바와 같이, 이러한 제약 조성물은 질환 또는 장애 (예를 들어, 암)의 예방 및/또는 치료에 사용될 수 있다. 일부 양태에서, 본원에 개시된 제약 조성물 중에 존재하는 세포는 T 세포 또는 NK 세포이다.

[0248] 본원에서 사용되는 바와 같이, 용어 "제약 조성물"은, 예를 들어, 하나 이상의 다른 화학 성분, 예컨대 제약상 허용되는 담체 및 부형제와 혼합된 또는 섞인, 또는 그에 현탁된, 키메라 결합 단백질 (예를 들어, CAR)을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 T 세포와 같은 본원에 기재된 화합물 중 하나 이상을 지칭한다. 어느 하나의 이론에 얽매이지 않으며, 일부 양태에서, 제약 조성물의 목적은, 예를 들어, 본 개시내용의 AP-1 전사 인자 및 키메라 결합 단백질 (예를 들어, CAR)을 발현하는 세포의 제제를 대상체에게 투여하는 것을 용이하게 하는 것이다.

[0249] 용어 "부형제" 및 "담체"는 상호교환가능하게 사용되고 화합물, 예를 들어, 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 세포, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것의 투여를 더욱 용이하게 하기 위해 제약 조성물에 첨가되는 불활성 물질을 지칭한다.

[0250] 용어 "제약상 허용되는 담체", "제약상 허용되는 부형제", 및 이들의 문법적 변형어는 미국 연방 정부의 규제 기관에 의해 승인된 또는 인간을 포함한 동물에서의 사용을 위한 미국 약전에 열거된 작용제 중 임의의 것, 뿐만 아니라 대상체에 대한 조성물의 투여를 금지하는 정도로 바람직하지 않은 생리학적인 효과의 생성을 유발하지 않고 투여된 화합물의 생물학적 활성 및 특성을 무효화하지 않는 임의의 담체 또는 희석제를 포함한다. 제약 조성물을 제조하는 데 유용하고 일반적으로 안전하고 비-독성이며 바람직한 부형제 및 담체가 포함된다.

- [0251] 허용가능한 담체, 부형제, 또는 안정화제는 사용되는 투여량 및 농도에서 수용자에게 비독성이고, 완충제, 예컨대 포스페이트, 시트레이트, 및 다른 유기 산; 아스코르브산 및 메티오닌을 포함한 항산화제; 보존제 (예컨대 옥타데실디메틸벤질 암모늄 클로라이드; 헥사메토늄 클로라이드; 벤즈알코늄 클로라이드, 벤제토늄 클로라이드; 페놀, 부틸 또는 벤질 알코올; 알킬 파라벤, 예컨대 메틸 또는 프로필 파라벤; 카테콜; 레조르시놀; 시클로헥산올; 3-펜탄올; 및 m-크레졸); 저분자량 (약 10개 미만 잔기) 폴리펩티드; 단백질, 예컨대 혈청 알부민, 젤라틴, 또는 면역글로불린; 친수성 중합체, 예컨대 폴리비닐피롤리돈; 아미노산, 예컨대 글리신, 글루타민, 아스파라긴, 히스티딘, 아르기닌, 또는 리신; 모노사카라이드, 디사카라이드, 및 글루코스, 만노스, 또는 텍스트린을 포함한 기타 탄수화물; 킬레이팅 작용제, 예컨대 EDTA; 당, 예컨대 수크로스, 만니톨, 트레할로스 또는 소르비톨; 염-형성 반대이온, 예컨대 나트륨; 금속 착물 (예를 들어, Zn-단백질 착물); 및/또는 비-이온성 계면활성제, 예컨대 TWEEN[®], PLURONICS[®] 또는 폴리에틸렌 글리콜 (PEG)을 포함한다.
- [0252] 제약 조성물은 대상체에 대한 임의의 투여 경로를 위해 제형화될 수 있다. 투여 경로의 구체적 예는 근육내, 피하, 안과, 정맥내, 복강내, 피내, 안와내, 뇌내, 두개내, 척수내, 심실내, 경막내, 수조내, 피막내, 또는 중앙내를 포함한다. 피하, 근육내 또는 정맥내 주사를 특징으로 하는 비경구 투여도 본원에서 고려된다. 주사제는 통상적 형태로, 액체 용액 또는 현탁액, 주사 전에 액체 중 용해 또는 현탁에 적합한 고체 형태로서, 또는 에멀전으로서 제조될 수 있다. 주사제, 용액 및 에멀전은 또한 하나 이상의 부형제를 함유한다. 적합한 부형제는, 예를 들어, 물, 식염수, 텍스트로스, 또는 글리세롤이다. 추가로, 요망되는 경우, 투여될 제약 조성물은 또한 소량의 비-독성 보조 물질, pH 완충제, 안정화제, 및 예를 들어 아세트산나트륨, 소르비탄 모노라우레이트, 트리에탄올아민 올레이트, 및 시클로텍스트린 등의 기타 작용제를 함유할 수 있다.
- [0253] 정맥내 투여되는 경우, 적합한 담체는 생리 식염수 또는 인산염 완충 식염수 (PBS), 및 증점제 및 가용화제, 예컨대 글루코스, 폴리에틸렌 글리콜, 및 폴리프로필렌 글리콜 및 이들의 혼합물을 함유하는 용액을 포함한다.
- [0254] 생체내 투여를 위해 사용될 조성물 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 T 세포)은 멸균될 수 있다. 이는, 예를 들어, 멸균 여과 막을 통한 여과에 의해 달성될 수 있다.
- [0255] **키트**
- [0256] 또한, 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 조성물, 세포 (예를 들어, AP-1 전사 인자를 과발현하는 CAR T 세포), 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것을 포함하는 키트가 개시된다. 일부 양태에서, 키트는 질환 또는 장애 (예를 들어, 암)에 대항하는 면역요법에서의 사용 및/또는 질환 또는 장애 (예를 들어, 암)의 치료 또는 그의 위험 감소를 위한 것이다. 특정 양태에서, 키트는 본원에 기재된 폴리뉴클레오타이드, 벡터, 조성물, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것을 포함하는 하나 이상의 용기를 포함한다.
- [0257] 일부 양태에서, 키트는 본원에 기재된 방법 중 임의의 것에 따른 사용을 위한 지시를 포함한다. 예를 들어, 포함된 지시는, 표적 질환의 치료, 발병 지연, 또는 경감을 위한 본원에 기재된 제약 조성물의 투여에 대한 설명을 포함할 수 있다. 일부 양태에서, 지시는 표적 질환/장애 (예를 들어, 암)의 위험이 있는 대상체에 대한 본원에 기재된 조성물의 투여에 대한 설명을 포함한다.
- [0258] 일부 양태에서, 지시는 투여량 정보, 투여 스케줄, 및 투여 경로를 포함한다. 일부 양태에서, 용기는 단위 용량, 벌크 패키지 (예를 들어, 다중 용량 패키지) 또는 서브유닛 용량이다. 일부 양태에서, 지시는 라벨 또는 패키지 삽입물 (예를 들어, 키트에 포함된 종이 시트) 상의 서면 지시이다. 일부 양태에서, 지시는 기계-판독가능 지시 (예를 들어, 자기 또는 광학 저장 디스크 상에 담긴 지시)이다.
- [0259] 일부 양태에서, 라벨 또는 패키지 삽입물은 본원에 개시된 조성물이 본원에 기재된 것들과 같은 암과 관련된 질환 또는 장애의 치료, 발병 지연, 및/또는 경감을 위해 사용됨을 나타낸다. 본원에 기재된 방법 중 임의의 것을 실행하기 위해 지시가 제공될 수 있다.
- [0260] 일부 양태에서, 본원에 기재된 키트는 적합한 패키징 내에 있다. 일부 양태에서, 적합한 패키징은 바이알, 병, 단지, 유연성 포장 (예를 들어, 밀봉 마일라(Mylar) 또는 플라스틱 백), 또는 이들의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 패키징은 흡입기, 비강 투여 장치 (예를 들어, 분무기), 또는 미니펌프 등의 주입 장치와 같은 특정 장치와 조합하여 사용하기 위한 패키지를 포함한다. 일부 양태에서, 키트는 멸균 액세스 포트를 포함한다 (예를 들어, 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 스톱퍼를 갖는 바이알일 수 있음). 일부 양태에서, 용기는 또한 멸균 액세스 포트를 가질 수 있다 (예를 들어, 용기는 정맥내 용액 백 또는 피하 주사 바늘로 뚫을 수 있는 스톱퍼를 갖는 바이알일 수 있음). 일부 양태에서, 적어도 하나의 활성 작용제는 본원에 기재된 바와 같은 조성물 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 T 세

포)이다.

[0261] 일부 양태에서, 키트는 완충제 및 해석 정보와 같은 추가의 구성요소를 추가로 포함한다. 일부 양태에서, 키트는 용기 및 용기 상에 있거나 용기와 연합된 라벨 또는 패키지 삽입물(들)을 포함한다. 일부 양태에서, 본 개시내용은 본원에 기재된 키트의 내용물을 포함하는 제조품을 제공한다.

[0262] 치료적 용도

[0263] 본 개시내용의 특정 양태는 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것 (예를 들어, AP-1 전사 인자 및 키메라 결합 단백질)을 투여하는 방법에 관한 것이다. 본 개시내용의 특정 양태는, 질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것 (예를 들어, AP-1 전사 인자 및 키메라 결합 단백질)을 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서의 질환 또는 장애의 치료 방법에 관한 것이다. 예를 들어, 특정 양태에서, 질환 또는 장애의 치료를 필요로 하는 대상체에게 키메라 결합 단백질 (예를 들어, CAR)을 발현하고 AP-1 전사 인자를 과발현하도록 조작된 세포를 투여하는 것을 포함하는, 상기 대상체에서의 질환 또는 장애의 치료 방법이 본원에 개시된다. 일부 양태에서, 질환 또는 병태는 종양, 즉, 암을 포함한다. 일부 양태에서, 방법은, 유효량의 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드 세트 중 임의의 것 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 세포)을 투여하는 것을 포함하는, 대상체에서의 표적 세포 집단 또는 조직에 대한 T 세포-매개 면역 반응을 자극하는 것을 포함한다. 일부 양태에서, 표적 세포 집단은 종양을 포함한다. 일부 양태에서, 종양은 고형 종양이다.

[0264] 일부 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 세포)의 투여는 대상체에서의 종양 부피를 참조 종양 부피와 비교하여 감소시킨다. 일부 양태에서, 참조 종양 부피는 투여 전 대상체에서의 종양 부피이다. 추가의 양태에서, 참조 종양 부피는 투여를 수용하지 않은 상응하는 대상체에서의 종양 부피이다. 일부 양태에서, 대상체에서의 종양 부피는 참조 종양 부피와 비교하여 투여 후에 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 100%만큼 감소한다.

[0265] 일부 양태에서, 종양의 치료는 대상체에서의 종양 중량 감소를 포함한다. 특정 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 세포)의 투여는 대상체에게 투여시 대상체에서의 종양 중량을 감소시킬 수 있다. 일부 양태에서, 종양 중량은 참조 종양 중량과 비교하여 투여 후에 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 60%, 적어도 약 70%, 적어도 약 80%, 적어도 약 90%, 또는 적어도 약 100%만큼 감소한다. 일부 양태에서, 참조 종양 중량은 투여 전 대상체에서의 종양 중량이다. 추가의 양태에서, 참조 종양 중량은 투여를 수용하지 않은 상응하는 대상체에서의 종양 중량이다.

[0266] 일부 양태에서, 예를 들어, 종양을 앓고 있는 대상체에 대한 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 세포)의 투여는, 대상체의 종양 및/또는 종양 미세환경 (TME)에서의 TIL (예를 들어, $CD4^+$ 또는 $CD8^+$)의 수 및/또는 백분율을 증가시킬 수 있다. 특정 양태에서, 종양 및/또는 TME에서의 TIL의 수 및/또는 백분율은 참조 (예를 들어, 투여를 수용하지 않은 대상체 또는 투여 전의 동일한 대상체에서의 상응하는 값)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 95%, 적어도 약 100%, 적어도 약 110%, 적어도 약 120%, 적어도 약 130%, 적어도 약 140%, 적어도 약 150%, 적어도 약 160%, 적어도 약 170%, 적어도 약 180%, 적어도 약 190%, 적어도 약 200%, 적어도 약 210%, 적어도 약 220%, 적어도 약 230%, 적어도 약 240%, 적어도 약 250%, 적어도 약 260%, 적어도 약 270%, 적어도 약 280%, 적어도 약 290%, 또는 적어도 약 300% 또는 그 초과만큼 증가한다.

[0267] 일부 양태에서, 예를 들어, 종양을 앓고 있는 대상체에 대한 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 세포)의 투여는, 투여를 수용하지 않은 (예를 들어, AP-1 전사 인자 발현이 결여된 상응하는 세포로 처리된) 상응하는 대상체에서의 면역 반응의 지속기간에 비해 대상체에서의 면역 반응의 지

속기간을 증가시킬 수 있다. 특정 양태에서, 면역 반응의 지속기간은 참조 (예를 들어, 투여를 수용하지 않은 반응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 20%, 적어도 약 30%, 적어도 약 40%, 적어도 약 50%, 적어도 약 75%, 적어도 약 100%, 적어도 약 150%, 적어도 약 200%, 적어도 약 300%, 적어도 약 400%, 적어도 약 500%, 또는 적어도 약 1000% 또는 그 초과만큼 증가한다. 특정 양태에서, 면역 반응의 지속기간은 참조 (예를 들어, 투여를 수용하지 않은 반응하는 대상체)와 비교하여 적어도 약 2배, 적어도 약 3배, 적어도 약 4배, 적어도 약 5배, 적어도 약 6배, 적어도 약 7배, 적어도 약 8배, 적어도 약 9배, 또는 적어도 약 10배 또는 그 초과만큼 증가한다.

[0268] 본원에 기재된 바와 같이, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 세포)은 다양한 암의 치료에 사용될 수 있다. 치료될 수 있는 암의 비-제한적 예는 부신피질암, 진행 암, 항문암, 재생불량성 빈혈, 담관암, 방광암, 골암, 골전이, 뇌종양, 뇌암, 유방암, 소아암, 원발성 불명 암, 캐슬만병, 자궁경부암, 결장/직장암, 자궁내막암, 식도암, 유방계 종양, 눈암, 담낭암, 위장 카르시노이드 종양, 위장관 기질 종양, 임신 용모성 질환, 호지킨병, 카포시 육종, 신세포암종, 후두암 및 하인두암, 급성 림프구성 백혈병, 급성 골수성 백혈병, 만성 림프구성 백혈병, 만성 골수성 백혈병, 만성 골수단구성 백혈병, 간암, 비소세포 폐암, 소세포 폐암, 폐 카르시노이드 종양, 피부의 림프종, 악성 중피종, 다발성 골수종, 골수이형성 증후군, 비강 및 부비동암, 비인두암, 신경모세포종, 비호지킨 림프종, 구강 및 구인두암, 골육종, 난소암, 췌장암, 음경암, 뇌하수체 종양, 전립선암, 망막모세포종, 횡문근육종, 침샘암, 성인 연조직 육종, 기저 및 편평 세포 피부암, 흑색종, 소장암, 위암, 고환암, 인후암, 흉선암, 갑상선암, 자궁 육종, 질암, 외음부암, 발덴스트롬 마크로글로불린혈증, 윌름스 종양, 암 치료로 인한 2차 암, 및 이들의 조합을 포함한다. 일부 양태에서, 암은 고형 종양과 관련된다.

[0269] 일부 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 세포)은 다른 치료적 작용제 (예를 들어, 항암제 및/또는 면역조절제)와 조합되어 사용된다. 따라서, 특정 양태에서, 본원에 개시된 질환 또는 장애 (예를 들어, 종양)의 치료 방법은 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 세포)을 하나 이상의 추가의 치료적 작용제와 조합하여 투여하는 것을 포함한다. 이러한 작용제는, 예를 들어, 화학요법 약물, 표적화 항암 요법, 종양용해 약물, 세포독성 작용제, 면역 기반 요법, 시토키인, 수술, 방사선요법, 공동자극 분자의 활성화제, 면역 체크포인트 억제제, 백신, 세포 면역요법, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다.

[0270] 일부 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 세포)은 추가의 치료적 작용제의 투여 전 또는 후에 대상체에게 투여된다. 다른 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 세포)은 추가의 치료적 작용제와 동시에 대상체에게 투여된다. 특정 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 세포) 및 추가의 치료적 작용제는 제약상 허용되는 담체 중에서 단일 조성물로서 동시에 투여될 수 있다. 다른 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 세포) 및 추가의 치료적 작용제는 별도의 조성물로서 동시에 투여된다.

[0271] 일부 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 세포)은 관리 표준 치료 (예를 들어, 수술, 방사선, 및 화학 요법)와 조합되어 사용된다. 본원에 기재된 방법은 또한 유지 요법, 예를 들어, 종양의 발생 또는 재발을 예방하도록 의도된 요법으로서 사용될 수 있다.

[0272] 일부 양태에서, 본원에 기재된 폴리뉴클레오티드, 벡터, 조성물, 세포, 폴리펩티드, 또는 폴리펩티드의 세트 중 임의의 것 (예를 들어, 키메라 결합 단백질을 포함하고 AP-1 전사 인자를 과발현하는 조작된 세포)은 하나 이상의 항암제와 조합되어 사용되고, 그에 따라 면역 경로의 다수의 요소가 표적화될 수 있다. 이러한 조합의 비-제한적 예는 하기를 포함한다: 종양 항원 제시를 향상시키는 요법 (예를 들어, 수지상 세포 백신, GM-CSF 분비 세포 백신, CpG 올리고뉴클레오티드, 이미퀴모드); 예를 들어, CTLA-4 및/또는 PD1/PD-L1/PD-L2 경로를 억제하고/

하거나 Treg 또는 다른 면역 억제 세포 (예를 들어, 골수-유래 억제제 세포)를 고갈시키거나 차단함으로써, 음성 면역 조절을 억제하는 방법; 예를 들어, CD-137, OX-40, 및/또는 CD40 또는 GITR 경로를 자극하고/하거나 T 세포 이펙터 기능을 자극하는 효능제로, 양성 면역 조절을 자극하는 방법; 항-종양 T 세포의 빈도를 전신적으로 증가시키는 방법; 예를 들어, CD25의 길항제 (예를 들어, 다클리주맙)를 사용하여 또는 생체의 항-CD25 비드 고갈에 의해, Treg, 예컨대 종양에서의 Treg를 고갈시키거나 억제하는 방법; 종양에서 억제제 골수 세포의 기능에 영향을 주는 방법; 종양 세포의 면역원성을 향상시키는 방법 (예를 들어, 안트라사이클린); 유전적으로 조작된 세포, 예를 들어, 키메라 항원 수용체를 발현하도록 조작된 세포를 포함한 입양 T 세포 또는 NK 세포 전이 (CAR-T 방법); 인돌아민 디옥시게나제 (IDO), 디옥시게나제, 아르키나제, 또는 산화질소 신타타제 등의 대사 효소를 억제하는 방법; T 세포 무반응 또는 고갈을 역전/예방하는 방법; 종양 부위에서 선천적 면역 활성화 및/또는 염증을 촉발하는 방법; 면역 자극 시토카인의 투여; 면역 억제성 시토카인의 차단; 또는 이들의 임의의 조합.

[0273] 일부 양태에서, 항암제는 면역 체크포인트 억제제 (즉, 특정 면역 체크포인트 경로를 통한 신호전달을 차단함)를 포함한다. 본 발명의 방법에서 사용될 수 있는 면역 체크포인트 억제제의 비-제한적 예는 CTLA-4 길항제 (예를 들어, 항-CTLA-4 항체), PD-1 길항제 (예를 들어, 항-PD-1 항체, 항-PD-L1 항체), TIM-3 길항제 (예를 들어, 항-TIM-3 항체), 또는 이들의 조합을 포함한다. 이러한 면역 체크포인트 억제제의 비-제한적 예는 하기를 포함한다: 항-PD1 항체 (예를 들어, 니볼루맙 (OPDIVO[®]), 펌브롤리주맙 (KEYTRUDA[®]; MK-3475), 피딜리주맙 (CT-011), PDR001, MEDI0680 (AMP-514), TSR-042, REGN2810, JS001, AMP-224 (GSK-2661380), PF-06801591, BGB-A317, BI 754091, SHR-1210, 및 이들의 조합); 항-PD-L1 항체 (예를 들어, 아테졸리주맙 (TECENTRIQ[®]; RG7446; MPDL3280A; R05541267), 두르발루맙 (MEDI4736, IMFINZI[®]), BMS-936559, 아벨루맙 (BAVENCIO[®]), LY3300054, CX-072 (Proclaim-CX-072), FAZ053, KN035, MDX-1105, 및 이들의 조합); 및 항-CTLA-4 항체 (예를 들어, 이필리무맙 (YERVOY[®]), 트레멜리무맙 (티실리무맙; CP-675,206), AGEN-1884, ATOR-1015, 및 이들의 조합).

[0274] 일부 양태에서, 항암제는 면역 체크포인트 활성화제를 포함한다 (즉, 특정 면역 체크포인트 경로를 통한 신호전달을 촉진함). 특정 양태에서, 면역 체크포인트 활성화제는 OX40 효능제 (예를 들어, 항-OX40 항체), LAG-3 효능제 (예를 들어 항-LAG-3 항체), 4-1BB (CD137) 효능제 (예를 들어, 항-CD137 항체), GITR 효능제 (예를 들어, 항-GITR 항체), TIM3 효능제 (예를 들어, 항-TIM3 항체), 또는 이들의 조합을 포함한다.

[0275] 본 개시내용의 실행은, 달리 지시되지 않는 한, 당업계에 기술 내에 있는 세포 생물학, 세포 배양, 분자 생물학, 트랜스제닉 생물학, 미생물학, 재조합 DNA, 및 면역학의 종래 기술을 사용할 것이다. 이러한 기술은 문헌에 충분히 설명되어 있다. 예를 들어, 하기 문헌을 참조한다: Sambrook *et al.*, ed. (1989) Molecular Cloning A Laboratory Manual (2nd ed.; Cold Spring Harbor Laboratory Press); Sambrook *et al.*, ed. (1992) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, (Cold Springs Harbor Laboratory, NY); D. N. Glover ed., (1985) DNA Cloning, Volumes I and II; Gait, ed. (1984) Oligonucleotide Synthesis; Mullis *et al.* 미국 특허 번호 4,683,195; Hames and Higgins, eds. (1984) Nucleic Acid Hybridization; Hames and Higgins, eds. (1984) Transcription And Translation; Freshney (1987) Culture Of Animal Cells (Alan R. Liss, Inc.); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press) (1986); Perbal (1984) A Practical Guide To Molecular Cloning; the treatise, Methods In Enzymology (Academic Press, Inc., N.Y.); Miller and Calos eds. (1987) Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells, (Cold Spring Harbor Laboratory); Wu *et al.*, eds., Methods In Enzymology, Vols. 154 and 155; Mayer and Walker, eds. (1987) Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Academic Press, London); Weir and Blackwell, eds., (1986) Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV; Manipulating the Mouse Embryo, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., (1986); Crooks, Antisense drug Technology: Principles, strategies and applications, 2nd Ed. CRC Press (2007) 및 Ausubel *et al.* (1989) Current Protocols in Molecular Biology (John Wiley and Sons, Baltimore, Md.).

[0276] 상기 인용된 모든 참조문헌뿐만 아니라 본원에 인용된 모든 참조문헌 및 아미노산 또는 뉴클레오타이드 서열 (예를 들어, GenBank 번호 및/또는 Uniprot 번호)은 그 전체가 본원에 참조로 포함된다.

[0277] 하기 실시예는 제한이 아닌 예시로서 제공된 것이다.

- [0278] 실시예
- [0279] 실시예 1-코돈-최적화된 c-Jun 서열을 갖는 작제물의 생성
- [0280] 이식유전자 발현을 증가시키기 위해, 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 포함하는 R12-EGFRt 작제물 (즉, 항-ROR1 scFv + 절단된 EGFR을 포함함)을 상이한 최적화 접근을 사용하여 생성하였다. 코돈-최적화된 c-Jun 서열은 서열 번호:1-10에 제공되어 있다. 대조군으로서, c-Jun 서열이 결여된 비시스트론 R12-EGFRt 작제물을 사용하였다 (도 1에서 작제물 #1). 추가의 대조군으로서, c-Jun 대신에 절단된 CD19 (CD19t)를 포함하는 트리스토톤 R12-EGFRt 작제물을 또한 사용하였다 (도 1에서 작제물 #2). 서열 번호: 1에서, 코돈 최적화는 인간 세포에서의 코돈 사용 편향을 모방하도록 맞춤화되었고 (도 1에서 작제물 #3), 서열 번호: 2에서, 코돈 최적화 사용은 인간 T 세포에서의 코돈 사용 편향을 모방하도록 맞춤화되었다 (도 1에서 작제물 #4).
- [0281] 코돈-최적화된 c-Jun이 항-ROR1 작제물에서 c-Jun의 발현을 개선할 수 있는지의 여부를 평가하기 위해, 도 1에 나타난 항-ROR1 작제물의 세트를 사용하여 상이한 감염 다중도 (MOI 2, 5, 10, 및 20)로 T 세포를 형질도입하였다. 이어서, 유동 세포계측을 사용하여 상이한 작제물의 c-Jun 및 R12 CAR 및 EGFRt의 발현 수준을 결정하였다.
- [0282] 도 2a에 나타난 바와 같이, 각각 서열 번호: 1 및 10에 제공된 c-Jun 코돈 최적화된 서열을 함유하는 항-ROR1 작제물 3 및 12는, 대조군 항-ROR1 작제물 (즉, R12-EGFRt 및 CD19t-R12-EGFRt)과 비교하여 EGFRt⁺ c-Jun⁺ 세포의 최고 백분율을 나타내었다. 예상과 같이, c-Jun이 결여된 항-ROR1 작제물 (즉, R12-EGFRt 및 CD19t-R12-EGFRt)로 형질도입된 세포는 EGFRt 및 c-Jun 둘 다를 발현하는 세포를 무시할만한 백분율로 가졌다. 형질도입된 세포를 EGFRt 및 항-ROR1 scFv (R12) 둘 다의 발현에 대해 분석하였을 때, 세포가 작제물 3 및 12 코돈-최적화된 c-Jun 항-ROR1 작제물로 형질도입된 경우, 서열 번호: 9의 코돈 최적화된 c-Jun 서열을 함유하는 작제물 11을 포함하는 항-ROR1 작제물 (도 2b) 및 대조군 CD19t-R12-EGFRt 작제물과 비교하여, 훨씬 더 높은 백분율의 EGFRt+R12+ 세포가 존재하였다.
- [0283] 단일 세포 수준에서, c-Jun 발현은 또한, 서열 번호: 9의 작제물 11 코돈 최적화된 c-Jun 서열을 포함하는 항-ROR1 작제물과 비교하여 작제물 3 및 작제물 12 코돈-최적화된 c-Jun-항-ROR1 작제물로 형질도입된 세포에서 상당히 더 높았다 (도 2c). 또한, 항-ROR1 CAR 발현은, 단일 세포 수준에서, 서열 번호: 9의 코돈 최적화된 c-Jun 서열의 작제물 11을 포함하는 항-ROR1 작제물 (도 2d) 및 대조군 CD19t-R12-EGFRt 작제물과 비교하여 작제물 3 및 작제물 12 코돈-최적화된 c-Jun-항-ROR1 작제물로 형질도입된 세포에서 또한 더 높았다.
- [0284] 이들 결과는, 작제물 3 및 12 항-ROR1-EGFRt 작제물에 함유된 서열 번호: 1 및 10의 코돈 최적화된 c-Jun 서열의 포함이 표적 세포에서 c-Jun 이식유전자 발현을 상당히 증가시킬 수 있었음을 입증하였다. 전체적 형질도입 효율은 R12-EGFRt 작제물 (즉, c-Jun 결여)의 경우와 유사하였고, 코돈-최적화된 c-Jun-항-ROR1 CAR 작제물은 높은 벡터 카피 수와 관련되지 않았다 (데이터는 나타내지 않음).
- [0285] 또 다른 실험에서, 상기에 기재된 추가의 코돈-최적화된 c-Jun 서열을 사용하여 다양한 감염 다중도로 T 세포를 형질도입하고, 유동 세포계측을 사용하여 상이한 작제물의 이식유전자의 발현 수준을 결정하였다. 작제물 각각에 대하여, 항-ROR1 CAR 및 EGFRt의 공동-발현에 의해 측정된, 유사한 수준의 형질도입을 제공하는 MOI를 T 세포에 의한 이식유전자 발현의 비교를 위해 선택하였다.
- [0286] 제1 실험을 수행하였다 (티어(Tier) 1; 도 3a). 이 실험에서, 작제물 3은, 또한 약간 더 낮은, 그러나 여전히 우수한 c-Jun 발현을 나타낸 작제물 5, 및 CD19t 대조군과 비교하여, 형질도입 효율의 단지 약간의 감소와 함께 항-ROR1 CAR 및 EGFRt 이식유전자의 우수한 발현을 유지하면서 최고 c-Jun 발현을 갖는 것으로 나타났다. 작제물 3을 선택하고, 이어서 도 3b에 나타난 바와 같이 티어 2 실험에서 추가의 코돈 최적화된 c-Jun 작제물과 비교하였다. 티어 2 비교에서, 작제물 3 및 8은 항-ROR1 CAR 및 EGFRt 이식유전자의 우수한 발현을 유지하면서 높은 c-Jun 발현을 나타내었으며, 작제물 3이 최고 c-Jun 발현을 가졌다. 작제물 7 또한 우수한 c-Jun 발현을 나타내었지만 보다 낮은 형질도입 효율, 및 ROR1 CAR 및 EGFRt 발현을 나타내었다.
- [0287] 요약하면, 수많은 코돈-최적화된 c-Jun 서열이 생성되었고 형질도입 효율 및 c-Jun, R12 및 EGFRt 이식유전자 발현에 대한 이들의 영향에 대해 스크리닝되었다. 이들 실험은, 작제물 3, 8 및 12 (각각 서열 번호: 1, 6 및 10에 나타난 바와 같은 코돈 최적화된 c-Jun 서열을 가짐)가 형질도입 효율 및 이식유전자 (R12 및 EGFRt) 발현에 대하여 허용가능한 영향을 미치면서 높은 c-Jun 발현을 가졌음을 보여주었다. 작제물 7은 또한 우수한 c-Jun 및 R12 발현, 및 형질도입 효율 및 EGFRt 발현에서 약간의 감소를 가졌다. 이들 후보 코돈-최적화된 c-Jun 서열은, 특히, 입양 세포 면역요법을 위한 조작된 면역 세포에서의 고갈 감소에 사용될 수 있다.

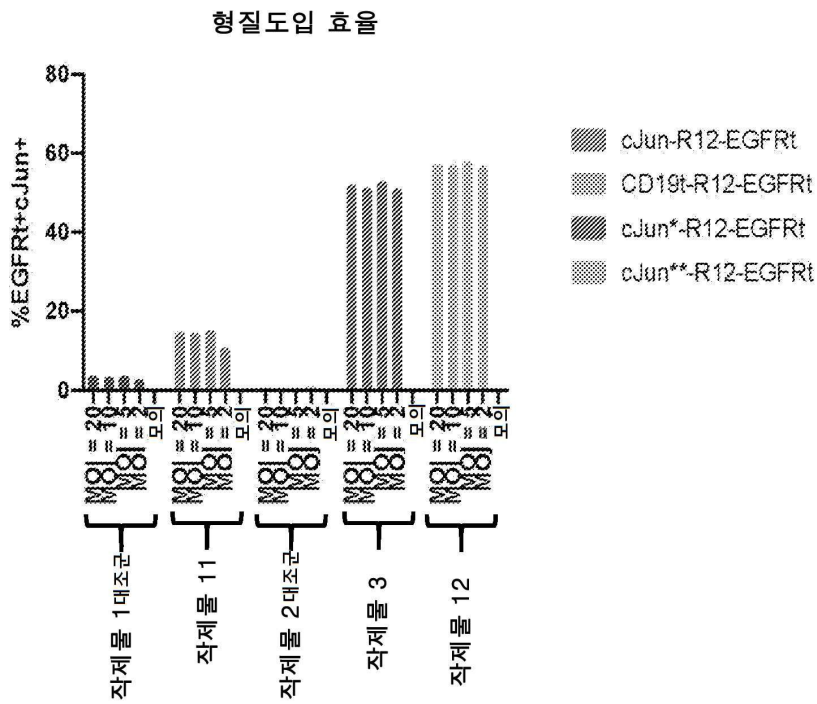
도면

도면1

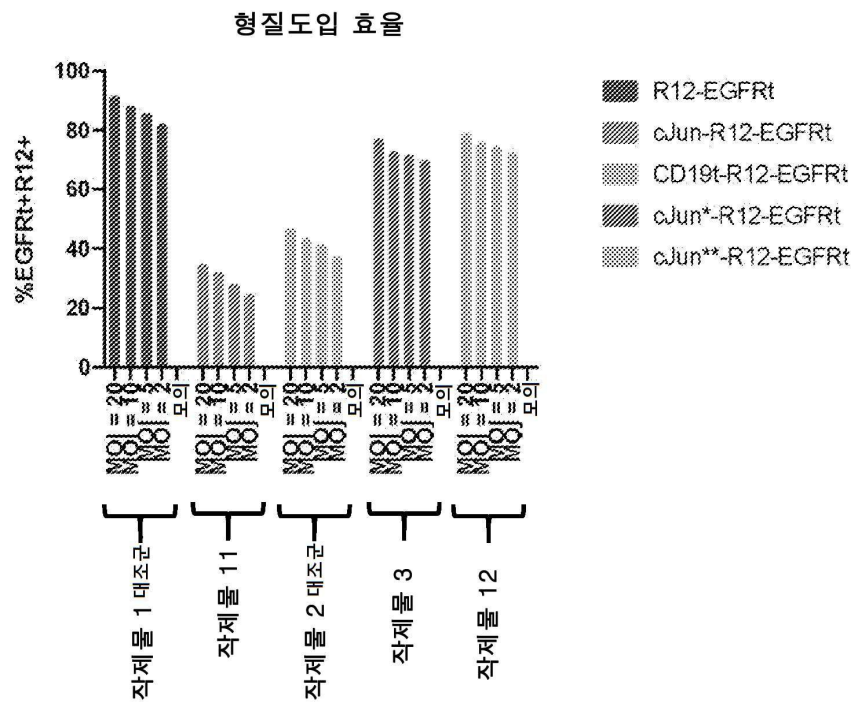
작제물 #

		hlg K	R12	P2 A	EGFRt	1
Cd19t	P2A	hlg K	R12	P2 A	EGFRt	2
cJun SEQ 1	P2A	hlg K	R12	P2 A	EGFRt	3
cJun SEQ 2	P2A	hlg K	R12	P2 A	EGFRt	4
cJun SEQ 3	P2A	hlg K	R12	P2 A	EGFRt	5
cJun SEQ 4	P2A	hlg K	R12	P2 A	EGFRt	6
cJun SEQ 5	P2A	hlg K	R12	P2 A	EGFRt	7
cJun SEQ 6	P2A	hlg K	R12	P2 A	EGFRt	8
cJun SEQ 7	P2A	hlg K	R12	P2 A	EGFRt	9
cJun SEQ 8	P2A	hlg K	R12	P2 A	EGFRt	1
cJun SEQ 9	P2A	hlg K	R12	P2 A	EGFRt	0
cJun SEQ 10	P2A	hlg K	R12	P2 A	EGFRt	1
WTcJun SEQ 11	P2A	hlg K	R12	P2 A	EGFRt	2
						1
						3

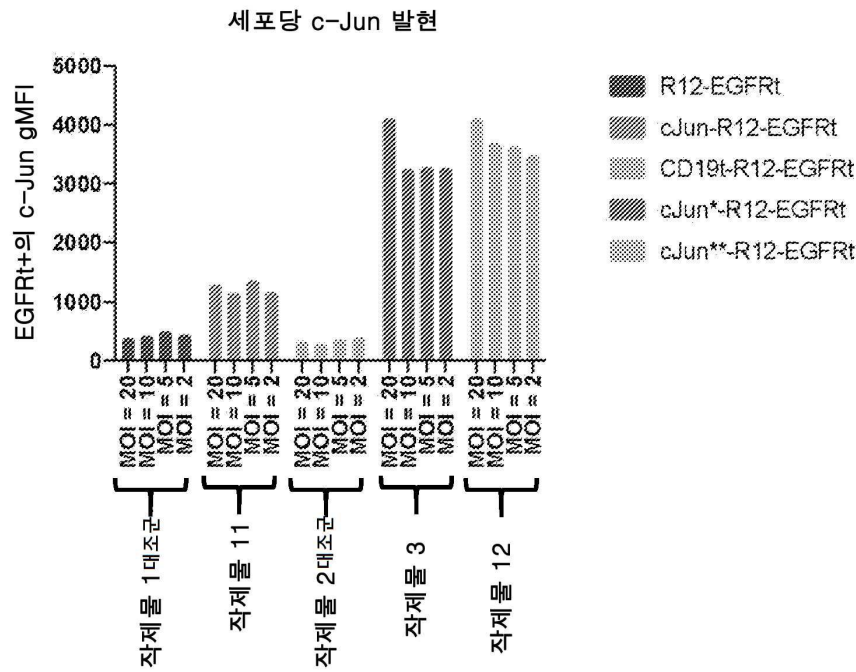
도면2a



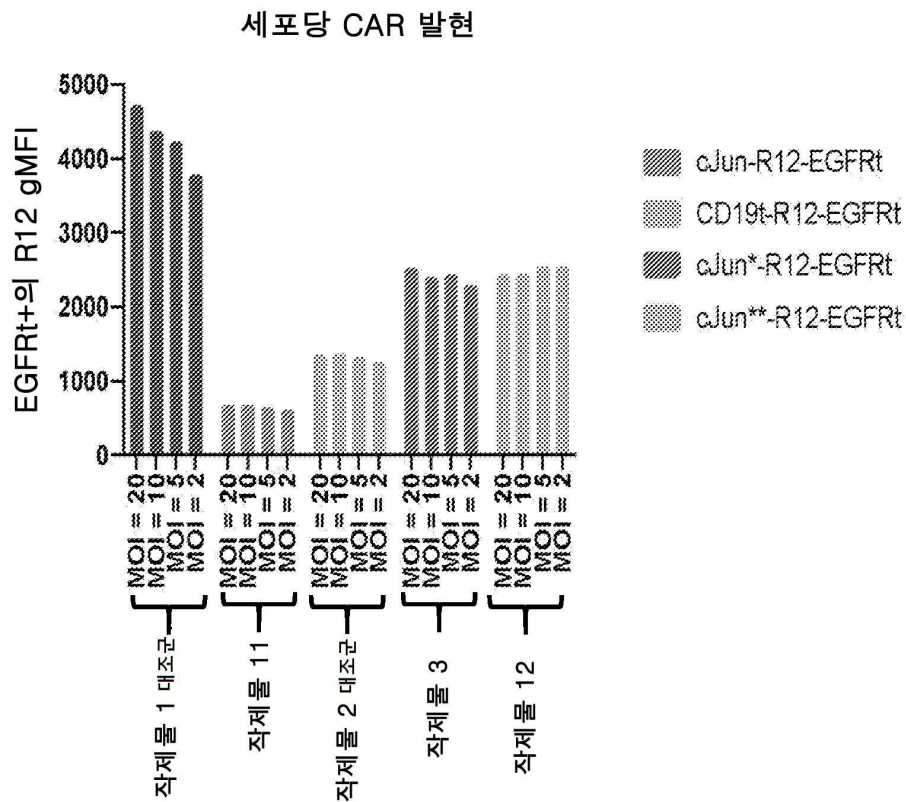
도면2b



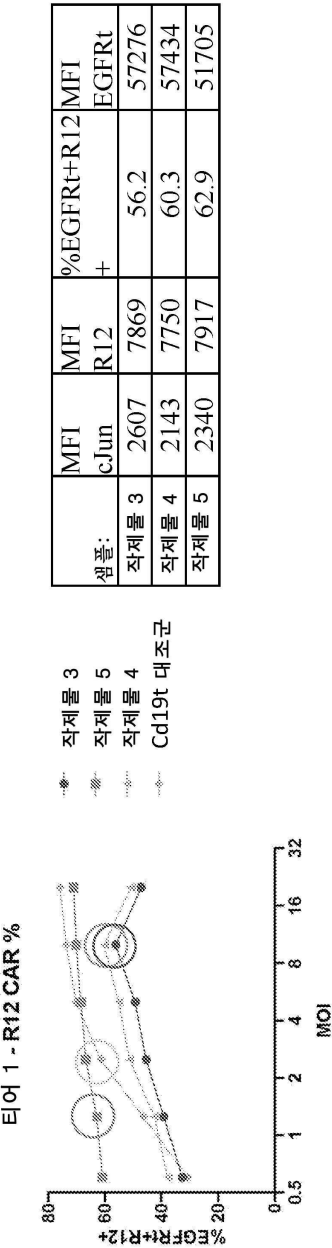
도면2c



도면2d



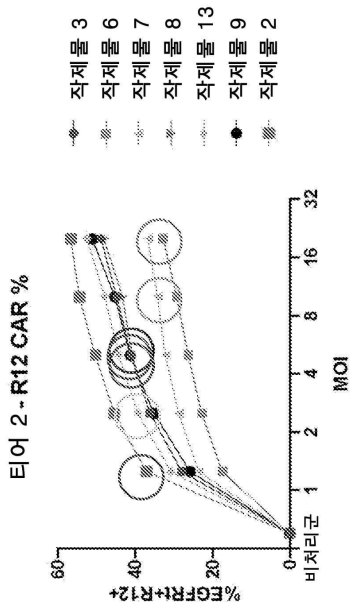
도면3a



샘플:	작제물 3	작제물 4	작제물 5
MFI cJun	2607	2143	2340
MFI R12	7869	7750	7917
%EGFRt+R12+	56.2	60.3	62.9
MFI EGFRt	57276	57434	51705

도면3b

샘플:	MFI cJun	MFI R12	%EGFRt+R12 +	MFI EGFRt
작제물 3	528	859	41	9204
작제물 6	370	309	32.9	3467
작제물 7	463	497	34.3	5097
작제물 8	467	842	40.7	8844
작제물 13				
WT	448	1074	39.2	11436
작제물 9	393	740	41.2	7980
작제물 2				
cd19	255	1541	37	18856



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Lyell Immunopharma, Inc.
- <120> Codon-Optimized Nucleotide Sequences Encoding an AP-1 Transcription Factor
- <130> 4385.068PC03/C-K/DKC
- <150> US 63/153,879
- <151> 2021-02-25
- <150> US 63/263,231

<151> 2021-10-28

<150> US 63/309,380

<151> 2022-02-11

<160> 74

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 993

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Codon-optimized c-Jun nucleotide sequence #1

<400> 1

atgacagcca agatggaac cacattctac gacgacgcc tgaacgcctc attcctgcct 60

tctgagagcg gaccttacgg ctacagcaat cctaagatcc tgaacagag catgaccctt 120

aacctggctg atcctgttgg aagcctgaaa cctcacctga gagccaaaa cagcgacctg 180

ctcaccagcc ctgatgtggg cctgctgaag ctggcctctc cagagctgga acggctgatc 240

atccagagca gcaacggcca catcacaacc accctaccc ctacacaatt cctgtgcctt 300

aagaacgtga ccgacgagca ggagggttc gccgaaggct ttgtgcgggc cctggcagaa 360

ctgcactctc agaaccacct gcctagcgtg acctccgccg cccagcctgt caacggcgcc 420

ggaatggtgg cccctgccgt ggcttctgtg gccggcggca gcggcagcgg cggattcagc 480

gcctctctgc actctgagcc tectgtctac gccaatctgt ctaatttcaa ccccgagcc 540

ctgtccagcg gcggcggagc tctagctac ggcgtgctg gactggcctt ccccgcccag 600

ccccagcaac agcagcagcc tccacaccac ctgcccagc agatgccctg gcagcacctt 660

agactgcagg ccctgaagga agaaccctaa acagtgcctg agatgcctgg cgagacacct 720

ccactgagcc ccatcgacat ggaaagccag gacgggatca agccgagag aaagagaatg 780

cggaaacagaa tcgccgctag caagtgcaga aagcgggaagc tggaaagaat cgccagactg 840

gaagagaagg tgaagacctt gaaagcccaa aatagcgagc tggccagcac cgccaacatg 900

ctgcgggaac aggtggccca gctgaagcag aaggtgatga accacgtgaa ctctggttgt 960

cagctgatgc tgaccagca gctccagacc ttc 993

<210> 2

<211> 993

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Codon-optimized c-Jun nucleotide sequence #2

<400> 2

atgacagcca agatggaaac caccttctac gacgacgccc tcaacgcctc cttcctgcct	60
tctgagagcg gtccctacgg ctacagcaac cccaagatcc tgaagcaaag catgaccctg	120
aacctggccg accccgttgg ctccctgaaa cctcacctga gagccaaaaa cagcgacctg	180
ctgaccagcc ctgatgtggg cctgctgaag ctggcctctc cagagctgga aagactgatt	240
atccagagca gcaacggcca catcaccaca acacctaccc ctacacagtt cctgtgccct	300
aagaactgta ctgatgagca ggagggtttt gccgagggtc tcgtgagagc cctggctgag	360
ctgcattctc agaacacctt gcctagcgtg acctctgccg cccagcctgt taatggcgcc	420
ggcatggtgg cccctgccgt ggcctctgtg gccggaggca gcggcagcgg cggattcagc	480
gcctctctgc acagcgagcc cccgtctctac gccaacctga gcaatttcaa ccctggcgcc	540
ctgtccagcg gcggcggcgc ccttcataat ggcgtgccg gcctggcctt ccccgctcag	600
ccccagcagc agcaacagcc tccacaccac ctgcccagc agatgccctg gcagcacccc	660
agactgcagg cctgaagga agaacctcag accgtgcccg agatgcctgg cgagaccctt	720
cctctgagcc ctatcgacat ggaaagccag gagagaatca aggccgagag gaagcggatg	780
cggaacagaa tcgccgccag caagtgcaga aaaagaaagc tggaacggat cgccagactg	840
gaggagaagg tgaagacact gaaagcccaa aattctgaac tggcctctac cgccaatatg	900
ctgcgcgagc aggtggctca actgaagcag aaggtgatga accacgtgaa cagcggatgt	960
cagctgatgc tgacacagca gctgcagact ttt	993

<210> 3

<211> 993

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Codon-optimized c-Jun nucleotide sequence #3

<400> 3

atgaccgcca agatggaaac caccttctac gacgacgccc tgaacgccag ctttctgcct	60
tctgagtctg gccctacgg ctacagcaac cccaagatcc tgaagcagag catgaccctg	120
aacctggccg atcctgtggg cagcctgaaa cctcacctga gagccaagaa cagcgacctg	180
ctgacaagcc ctgatgtggg cctgctgaaa ctggcctctc ctgagctgga acggctgatc	240
atccagagca gcaacggcca catcaccacc acacctacac caacacagtt tctgtgcccc	300
aagaactgta ccgacgagca agagggttc gccgagggtc ttgttagagc cctggccgaa	360

ctgcacagcc agaataccct gcctagcgtg acatctgccg ctacgcctgt taatggcgcc 420
 ggaatggttg ctctgcctg ggcttctgtt gctggcggtat ctggatctgg cggttttagc 480
 gcctctctgc actctgagcc tccagtgtac gccaacctga gcaacttcaa ccctggcgct 540
 cttagctctg gtggcgagc accttcttat ggcgctgccg gattggcctt tcctgctcag 600
 cctcagcagc agcaacagcc tcctcatcat ctgccccagc agatgcctgt gcagcacct 660
 agactgcagg ccctgaaaga ggaaccccag acagtccttg agatgcccg cgaaacacct 720

cctctgagcc ccacgcacat ggaaagccaa gagcggatca aggccgagcg gaagcggatg 780
 agaaatagaa tcgccgcctc caagtgccgg aagaggaagc tggaaagaat cgcccggctg 840
 gaagagaaag tgaaaacct gaaggcccag aactccgagc tggcctctac cgccaacatg 900
 ctgagagaac aggtggccca gctgaaacag aaagtcatga accacgtgaa cagcggctgc 960
 cagctgatgc tgacacagca gctgcagacc ttc 993

<210> 4

<211> 993

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Codon-optimized c-Jun nucleotide sequence #4

<400

> 4

atgactgcc aatggagac tacattctat gacgacgcc tcaatgccag tttttgccg 60
 agtgaatccg gccctacgg ctattcaaac ctaagatcc tcaagcaatc aatgacctc 120
 aatcttgctg acccagttgg ctccctgaaa ccccatctca gagctaaaaa tagtgacctc 180
 ctacttccc ctgatgttg actcctcaaa ctgtcttctc ccgaactcga acgtttgatc 240
 attcaatctt ccaacggcca catcacaaca acaccacac ccaccagtt tctttgccca 300
 aaaaatgtca ccgatgaaca ggaaggtttc gcggaaggat tcgtccgcgc gctggccgaa 360
 ctgcactccc agaatacact tccttcagtt acgtcagccg ccagccagt gaatggtgcg 420

ggaatggttg ctctgcggt cgcttctgtc gcagggggct ccggttctgg cggatttagc 480
 gcctctctgc attccgagcc acctgtatat gctaattctt ctaattttaa ccccggagcc 540
 ttgtctagcg gcggtggtgc cccagctac ggtgtctcag gactgcctt ccagctcaa 600
 cctcagcagc agcaacaacc ccccatcac cttcccaac agatgccagt acaacatcca 660
 aggtccagg ccctcaaaga ggaaccacag acggtgccc aaatgcctgg cgaaactcca 720
 ccacttccc ctattgatat ggaatccaa gagcgcatca agccgaaag aaagcgaatg 780
 cggaatagaa tagcagcttc aaaatgtaga aaacggaat tggaacgaat cgcacggttg 840

gaagaaaagg tgaagacctt gaaagcccag aacagtgagc tcgcctctac cgctaacatg 900
ctgcgcgagc aagtcgcaca acttaagcag aaggtgatga accatgtgaa tagcggatgt 960
caacttatgc tgactcaaca gttgcaaacc ttt 993

<210> 5

<211> 993

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Codon-optimized c-Jun nucleotide sequence #5

<400> 5

atgaccgcga aaatggagac aacattttac gatgatgcac tgaacgcctc ttttctgcc 60
agtgaatccg gccctacgg atactcaaac cctaagattc tgaacagtc tatgactctc 120

aacctggccg acccagttgg cagtctgaag cctcatttgc gagccaagaa tagtgatctg 180
ctgacctccc cagacgtggg actgctgaaa ctgcctcac ctgaacttga gcgcttgatt 240
atacagtcac ccaatgggca catcacaaca acacctactc ctaccagtt tctgtgcccc 300
aaaaacgtca ccgatgagca ggagggttc gcggaaggct ttgtgcgcgc cctggctgaa 360
ttgcatagtc agaacactct tcccagcgta accagcgccg cccaaccagt gaatggagcc 420
ggtatggtgg ctcccgcggt ggctagtgtt gcgggggggt caggtcttgg tgggttcagt 480
gcttctcttc actctgaacc ccctgtgtat gccaatctgt ctaactttaa ccctggggcc 540

ctctcctctg gtgggggtgc cccagctac ggagcgccg gcctggcctt tctgcccag 600
cctcagcagc agcagcaacc ccctcatcat ctccgcagc agatgccagt acagcatcca 660
cgctgcagg ctcttaagga ggagccccag acggtgcccg aaatgcccg ggaaactcca 720
cccttgctcc ccattgacat ggagtcccag gagcggatca aggtgaaag aaagaggatg 780
cggaatcgca tcgcagctc taaatgccgc aagcggaaac ttgagaggat cgcgcggttg 840
gaggaaaaag taaaacctt gaaggcacag aactctgagc tggcgagtac tgccaacatg 900
ctcagagaac aagtcgcaca gctgaagcag aaagtgatga accatgtgaa cagcggttgt 960

cagctgatgc tgactcagca gctgcagacc ttc 993

<210> 6

<211> 993

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Codon-optimized c-Jun nucleotide sequence #6

<400> 6

atgaccgcca agatggagac cacattctac gatgacgctc tgaacgcttc ctttctgcct 60
tccgagtccg gcccctacgg ctactccaat cccaagattc tgaagcagag catgacactg 120
aatctggctg atcccgtggg atctctgaag cctcatctga gagccaagaa ttccgatctg 180
ctgacaagcc ccgacgtggg actgctcaaa ctggccagcc ccgaactgga gaggtcatt 240

atccagagct ccaacggcca catcaccaca acacctaccc ctaccagtt tctctgtccc 300
aagaacgtga cagacgagca agagggattt gccgaaggct tcgtgagagc cctcgccgaa 360
ctgcatagcc agaacacact gccttccgtg accagcgtg ctcaaccctg gaacggcgt 420
ggcatggtcg ctcccgccgt gccagcgtg gctggaggaa gcggatccgg aggttcagc 480
gttccctcc acagcgaacc tcccggtgac gctaactga gcaacttcaa ccccgccgt 540
ctgagcagcg gaggaggagc tctagctat ggagctgccg gactggcttt tccgcccag 600
ccccagcagc agcagcagcc ccccatcat ctgcctcagc agatgcccg gcagcatccc 660

agactccaag ctctgaagga ggagcctcag accgtccccg agatgcccg cgaaaccccc 720
cctctgtccc ccatcgacat ggaaagccaa gagaggatca aggccgagag gaagaggatg 780
aggaatagaa tcgccgccag caagtgtaga aagaggaagc tggagaggat cgccagactg 840
gaggagaagg tgaagacct caagctcag aattccgagc tggccagcac agccaacatg 900
ctgagagagc aagtggccca gctcaagcag aagtgatga accacgtcaa cagcgatgc 960
cagctgatgc tcaccagca gctgcagacc ttc 993

<210> 7

<211> 993

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Codon-optimized c-Jun nucleotide sequence #7

<400> 7

atgaccgcta aaatggaac cactttctat gacgatgcc tgaacgcctc cttccttccg 60
tccgagtccg gaccctacgg atactcaaat cctaagatcc tcaaacagtc gatgaccctc 120
aacctggccg acccgtggg atccctgaag ccgcacttgc gcgccaagaa ctccgacctc 180
ctgacgagcc cagacgtggg cctgctgaag ctgcctcac ccgaacttga gcggttgatc 240
attcagtcct ccaacggaca tatcaccacc actcccaccc caactcagtt tctgtgtccg 300
aagaacgtga ccgatgagca agagggttc gccgagggat tcgtgcgggc cctggccgag 360

ctgcatagcc agaacacct tccatccgtg acctcgccgg ctacgcctgt gaacggcgcg 420
ggaatggtcg cgcccgccgt ggcctcggtg gccgggggca gcggcagcgg gggattttcc 480

gcgtcgtgc actccgagcc gccggtgtac gccaacctgt caaacttcaa ccctggggcc 540
ctgagctccg gcggtggagc accttcgtac ggccgctg gcctggcgtt ccccgcgcaa 600
ccacagcagc aacagcagcc cctcaccac ctccccaac aaatgcctgt gcagcaccg 660
aggctgcagg cctcaagga agaaccag actgtgccg aaatgccgg ggagactccg 720
ccgtgtccc ctatcgacat ggaatcacag gaacgatta aggcagagcg gaagcgcag 780

cggaaccgga ttgccgctc caagtgccg aagagaaagc tcgaaagaat cgccagattg 840
gaagaaaagg tcaagactct gaaggccag aactctgagc tggcatccac cgctaataatg 900
ctgagggaac aagtggcca gctgaacag aaggtcatga accacgtcaa cagcggttgc 960
cagctgatgc tgaccagca actccagaca ttc 993

<210> 8
<211> 993
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><223> Codon-optimized c-Jun nucleotide sequence #8
<400> 8

atgaccgcca agatggagac caccttctac gacgacgcc tgaacgccag ctctctgcc 60

agcgagagcg gaccctacgg ctactctaac cccaagatcc tgaaacagag catgacactg 120
aatctggcgg acccgtggg cagcctgaag cctcacctta gagccaagaa cagcgacctg 180
ctgaccagcc ccgacgtggg cctgtgaag ctgcctctc cagagttaga gagactgatc 240
atccagtcca gcaacggcca catcacaacc acccaaccc ctaccagtt cctgtgcccc 300
aagaactga ccgacgagca ggagggttc gccgagggt ttgtgagagc cctggccgag 360
ttgactctc agaacacct gccctccgtg accagcgccg ctcaacctgt gaacggcgca 420
ggaatggttg ctctgccgt ggccagcgtt gcaggcggt ctggaagtgg aggttctcc 480

gcctcccttc acagcgagcc tccgtgtac gccaacctga gcaacttcaa ccccgcgcc 540
ctgagcagtg gaggaggcgc tccagctat ggagcagctg gattagcctt cccgcccag 600
ccacagcagc agcaacagcc tcccaccac ctgcctcagc aaatgcctgt gcagaccct 660
cggctgcagg ccttaagga ggagccccag accgttctg agatgcctgg cgagaccct 720
cccctgagcc ctatcgacat ggagtcccag gagcggtatc aggcagagcg gaagcggtg 780
cggaaccgga tcgtgcttc caagtgccg aagagaaagc tggagagaat cgccggctg 840
gaggagaagg tgaagacct gaaggccag aactccgagc tggcctccac cgccaacatg 900

ctgcgggagc aggttgaca gctgaagcag aaggtcatga accacgtgaa cagcggtgc 960

cagctgatgc tgacccagca gctgcagacc ttc 993

<210> 9

<211> 1059

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Codon-optimized c-Jun nucleotide sequence #9

<400> 9

atgacagcga agatggagac aaccttctat gacgatgctc ttaacgcctc cttcctgcct 60

tccgaaagcg ggccttacgg gtactctaata ctaagatac ttaagcaatc gatgactctc 120

aacctcgctg acccggttgg ctactgaaa ccacacctga gagctaagaa tagtgacctg 180

ctcactagtc ccgatgtcgg gtttctgaag ctggcctctc ccgagctgga gaggcttatac 240

atccaatcat caaatggcca catcaccact accccaacac caactcaatt cttttgccct 300

aaaaacgtga ccgacgaaca ggaaggcttc gccgagggtt ttgtccgggc cttggccgag 360

ctgcattctc aaaatacact gccaaagctc acttctgcgg cgcagccggt taacggagca 420

gggatgggtg cttccgcctg tctagcgtg gccggcgggt ccggtctcgg cggtttctct 480

gcctccttgc attctgagcc accagtctac gcgaacctgt ccaactttaa tccgggggag 540

ctgagtagcg gaggcggcgc ccctagctat ggggcagctg gactggcctt cccggcacia 600

ccccaacaac aacagcaacc gccacacat cttctcaac aaatgccagt gcaacatcca 660

cgcttacaag cctcaagga ggaacccag accgtgcctg agatgcccg cgaaaccccg 720

ccattgagcc ctattgacat ggaaagtcaa gagagaatta aggcagagcg caagagaatg 780

aggaaccgga tcgcagcatc taagtccgc aaacggaaat tggagcggat cgctcgcttg 840

gaggagaagg tcaagactct caagcccag aactccgagc ttgcgagcac agctaatatg 900

ctgcgcgagc aggtggccca gttaaaacaa aaggtcatga accatgtgaa cagcggtgtg 960

cagctgatgc ttacgaaca gctgcaaac tttggctccg gtgcaacgaa cttcagcctg 1020

ctgaagcagg ccggagatgt tgaggaaaat ccaggtccc 1059

<210> 10

<211> 993

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Codon-optimized c-Jun nucleotide sequence #10

<400> 10

atgacggcca aaatggagac tacgttctac gatgacgcac tcaacgcgtc cttcctgccc 60

tctgagagtg gaccctatgg ctactccaat ccaaagatcc tgaagcagtc tatgaccctc 120
aacctggcgg acccggtggg ctcccttaag ccgcacttgc gcgccaagaa ctccgacctg 180
ctgacctccc ctgatgtggg cctcctcaag ctgcctagcc ctgaattgga gaggtgatc 240

atccagagct caaatggcca catcaccacc acacctacc caaccagtt cctgtgcccc 300
aaaaactga ccgacgagca ggagggttc gcggagggtc tcgtcagagc tctggccgag 360
ctgcactcac agaacacgct cccttccgtg acctccgtg cccagccggt caatggcgt 420
ggaatggtgg ctccggtgtt ggctctgtt gccggcggtc ccggtccgg aggttttca 480
gtttctctgc attctgagcc cccagtgtac gctaacctga gcaacttcaa ccccggggcg 540
ctcagctccg gtggcggtgc cccgagctac ggcgcggtg ggctggcgtt ccccgctcag 600
cctcagcagc aacagcaacc tccccaccac ctgccacagc agatgcctgt gcagcaccca 660

cgctgcagg ccttgaagga ggaacctcag actgtgccag agatgcccg cgagacccca 720
cccctgtccc cgattgacat ggagagccag gagcgcatca aggagagcg caagcgtatg 780
cgcaaccgca tcgcgccctc caagtgccga aagcgcaagc tggagcggat tgctcgctg 840
gaggagaagg tgaagacctt gaaggcccag aattccgagc tggcctcgac cgccaacatg 900
ctacgagaac aggtcgcgca gctgaaacag aaggtcatga accatgtcaa cagcgggtgc 960
cagctgatgt tgaccagca gcttcagacc ttc 993

<210> 11

<211> 993

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><223> Wild-type c-Jun - coding region

<400> 11

atgactgcaa agatggaac gaccttctat gacgatgccc tcaacgcctc gtccctcccg 60
tccgagagcg gaccttatgg ctacagtaac cccaagatcc tgaacagag catgacctg 120
aacctggcgg acccagtggg gagcctgaag ccgcacctcc gcgccaagaa ctcgacctc 180
ctcacctcgc ccgacgtggg gctgctcaag ctggcgtcgc ccgagctgga gcgcctgata 240
atccagtcca gcaacgggca catcaccacc acgccgaccc ccaccagtt cctgtgcccc 300
aagaactga cagatgagca ggagggttc gccgagggtc tcgtgcgcgc cctggccgaa 360

ctgcacagcc agaacacgct gccagcgtc acgtcgcgcg gcgagccggt caacggggca 420
ggcatggtgg ctcccgcggt agcctcggtg gcagggggca gcggcagcgg cggcttcagc 480
gccagcctgc acagcgagcc gccgtctac gaaaacctca gcaacttcaa cccagcgcg 540

ctgagcagcg gcggcggggc gccctcctac ggcgcgccg gcctggcctt tcccgcgcaa 600
 cccagcagc agcagcagcc gccgcaccac ctgccccagc agatgcccg gcagcaccg 660
 cggctgcagg ccctgaagga ggagcctcag acagtgcccg agatgcccg cgagacaccg 720
 cccctgtccc ccacgcacat ggagtcacag gagcggatca aggcggagag gaagcgcatg 780

aggaaccgca tcgtgcctc caagtgccga aaaaggaagc tggagagaat cggccggctg 840
 gaggaaaaag tgaacacctt gaaagctcag aactcggagc tggcgccac ggccaacatg 900
 ctgaggaac aggtggcaca gcttaaacag aaagtcatga accacgttaa cagtgggtgc 960
 caactcatgc taacgcagca gttgcaaca ttt 993

<210> 12
 <211> 3257
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Wild-type c-Jun
 <400> 12

gctcagagtt gcaactgagtg tggctgaagc agcgaggcgg gaggggaggt gcgcggagtc 60
 aggcagacag acagacacag ccagccagcc aggtcggcag tatagtcga actgcaaac 120

ttattttctt ttcaccttct ctctaactgc ccagagctag cgctgtggc tcccgggctg 180
 gtgtttcggg agtgtccaga gagcctggc tccagccgcc cccgggagga gagccctgct 240
 gcccaggcgc tgttgacagc ggcggaagc agcggtagcc acgcgcccgc cgggggaagt 300
 cggcgagcgg ctgcagcagc aaagaacttt cccggctggg aggaccggag acaagtggca 360
 gagtcccgga gccaactttt gcaagccttt cctgcgtctt aggccttctc acggcggtaa 420
 agaccagaag gcggcggaga gccacgcaag agaagaagga cgtgcgctca gcttcgctcg 480
 caccggttgt tgaacttggg cgagcgcgag ccgcggctgc cgggcgcccc ctccccctag 540

cagcggagga ggggacaagt cgtcggagtc cgggcggcca agaccgccg ccggccggcc 600
 actgcagggt ccgactgat ccgctccgcg ggagagccg ctgctctggg aagtgagttc 660
 gcctgcggac tccaggaac cgctgcgcac gaagagcgt cagtgagtga ccgcgacttt 720
 tcaaagccgg gtagcgcgcg cgagtcgaca agtaagagtg cgggagcat cttaattaac 780
 cctgcgctcc ctggagcag ctggtgagga gggcgagcgc gggacgacag ccagcgggtg 840
 cgtgcgctct tagagaaact ttccctgtca aaggctccgg gggcgcgagg tgtccccgc 900
 ttgccacagc cctgttgagg cccgaaact tgtgcgcgca gcccaacta acctcacgtg 960

aagtgcgga ctgttctatg actgcaaaga tggaaacgac cttctatgac gatgccctca 1020

acgcctcgtt cctccccgtcc gagagcggac cttatggcta cagtaacccc aagatcctga 1080

aacagagcat gaccctgaac ctggccgacc cagtggggag cctgaagccg cacctccgcg 1140

ccaagaactc ggacctcctc acctcgcccc acgtggggct gctcaagctg gcgtcgcccc 1200

agctggagcg cctgataatc cagtccagca acgggcacat caccaccacg ccgaccccca 1260

cccagttcct gtgccccaa aacgtgacag atgagcagga gggcttcgcc gagggcttcg 1320

tgcgcgccct ggccgaactg cacagccaga acacgtgcc cagcgtcacg tcggcggcgc 1380

agccggtcaa cggggcaggc atggtggctc ccgcggtagc ctcggtggca gggggcagcg 1440

gcagcggcgg cttcagcgcc agcctgcaca gcgagccgcc ggtctacga aacctcagca 1500

acttcaaccc aggcgcgctg agcagcggcg gcggggcgcc ctctacggc gcggccggcc 1560

tggcctttcc cgcgcaaccc cagcagcagc agcagccgcc gcaccacctg cccagcaga 1620

tgcccgtgca gcacccgcgg ctgcaggccc tgaaggagga gcctcagaca gtgcccgaga 1680

tgcccggcga gacaccgccc ctgtcccca tcgacatgga gtcccaggag cggatcaagg 1740

cggagaggaa gcgcatgagg aaccgcatcg ctgcctcaa gtgccgaaaa aggaagctgg 1800

agagaatcgc ccggctggag gaaaaagtga aaaccttgaa agctcagaac tcggagctgg 1860

cgtccacggc caacatgctc agggaacagg tggcacagct taaacagaaa gtcataaacc 1920

acgttaacag tgggtgcca ctcatgctaa cgcagcagtt gcaaacatct tgaagagaga 1980

ccgtcggggg ctgaggggca acgaagaaaa aaaataacac agagagacag acttgagaac 2040

ttgacaagtt gcgacggaga gaaaaagaa gtgtccgaga actaaagcca agggatatcca 2100

agttggactg ggttgctgcc tgacggcgcc cccagtgtgc acgagtggga aggacttggc 2160

gcgcctccc ttggcgtgga gccagggagc ggccgcctgc gggctgcccc gctttgcgga 2220

cgggctgtcc ccgcgcgaac ggaacgttgg acttttcgtt aacattgacc aagaactgca 2280

tggacctaac attcgtctc attcagtatt aaagggggga gggggagggg gttacaaact 2340

gcaatagaga ctgtagattg cttctgtagt actccttaag aacacaaagc ggggggaggg 2400

ttggggaggg gcggcaggag ggaggtttgt gagagcagg ctgagcctac agatgaactc 2460

tttctggcct gccttcgtta actgtgtatg tacatatata tttttttaa tttgatgaaa 2520

gctgattact gtcaataaac agcttcacgc ctttgtaagt ttttcttgt ttgtttgttt 2580

gggtatcctg cccagtgttg tttgtaata agagatttgg agcactctga gtttaccatt 2640

tgtaataaag tatataattt ttttatgttt tgtttctgaa aattccagaa aggatattta 2700

agaaaataca ataaactatt ggaaagtact ccctaacct ctttctgca tcactgttag 2760

atactagcta tctaggtgga gttgaaagag ttaagaatgt cgattaaaat cactctcagt 2820

gcttcttact attaagcagt aaaaactgtt ctctattaga ctttagaaat aaatgtacct 2880

gatgtacctg atgctatggt caggttatac tcctcctccc ccagctatct atatggaatt 2940
gcttaccaaa ggatagtgcg atgtttcagg aggctggagg aaggggggtt gcagtggaga 3000
gggacagccc actgagaagt caaacatttc aaagtttga ttgtatcaag tggcatgtgc 3060

tgtgaccatt tataatgta gtagaaattt tacaataggt gcttattctc aaagcaggaa 3120
ttggtggcag attttcaaaa agatgtatcc ttccaattg gaatcttctc ttgacaatt 3180
cctagataaa aagatggcct ttgcttatga atatttataa cagcattctt gtcacaataa 3240
atgtattcaa ataccaa 3257

<210> 13

<211> 331

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Wild-type c-Jun

<400> 13

Met Thr Ala Lys Met Glu Thr Thr Phe Tyr Asp Asp Ala Leu Asn Ala
1 5 10 15

Ser Phe Leu Pro Ser Glu Ser Gly Pro Tyr Gly Tyr Ser Asn Pro Lys
20 25 30

Ile Leu Lys Gln Ser Met Thr Leu Asn Leu Ala Asp Pro Val Gly Ser
35 40 45

Leu Lys Pro His Leu Arg Ala Lys Asn Ser Asp Leu Leu Thr Ser Pro
50 55 60

Asp Val Gly Leu Leu Lys Leu Ala Ser Pro Glu Leu Glu Arg Leu Ile
65 70 75 80

Ile Gln Ser Ser Asn Gly His Ile Thr Thr Thr Pro Thr Pro Thr Gln
85 90 95

Phe Leu Cys Pro Lys Asn Val Thr Asp Glu Gln Glu Gly Phe Ala Glu
100 105 110

Gly Phe Val Arg Ala Leu Ala Glu Leu His Ser Gln Asn Thr Leu Pro
115 120 125

Ser Val Thr Ser Ala Ala Gln Pro Val Asn Gly Ala Gly Met Val Ala
130 135 140

Pro Ala Val Ala Ser Val Ala Gly Gly Ser Gly Ser Gly Gly Phe Ser
 145 150 155 160
 Ala Ser Leu His Ser Glu Pro Pro Val Tyr Ala Asn Leu Ser Asn Phe
 165 170 175
 Asn Pro Gly Ala Leu Ser Ser Gly Gly Gly Ala Pro Ser Tyr Gly Ala
 180 185 190
 Ala Gly Leu Ala Phe Pro Ala Gln Pro Gln Gln Gln Gln Pro Pro
 195 200 205

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

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

<210> 14

<211> 19

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> P2A Linker

<400> 14

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

Pro Gly Pro

<210> 15

<211> 18

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> T2A Linker

<400> 15

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

1 5 10 15

Gly Pro

<210> 16

<211>

> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> F2A Linker

<400> 16

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

1 5 10 15

Glu Ser Asn Pro Gly Pro

20

<210> 17

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> E2A Linker

<400> 17

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

1 5 10 15

Asn Pro Gly Pro

20

<210> 18

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Furin Cleavage Site

<400> 18

Arg Ala Lys Arg

1

<210> 19

<211> 1210

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR Isoform 1

<400> 19

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

1 5 10 15

Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln

20 25 30

Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe

35 40 45

Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn

50 55 60

Leu Glu Ile Thr Tyr Val Gln Arg Asn Tyr Asp Leu Ser Phe Leu Lys

65 70 75 80

Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val

85 90 95

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

100 105 110

Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn

115 120 125

Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu

130 135 140

His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu

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

Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp
405 410 415

Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
420 425 430

His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile Thr Ser Leu
435 440 445

Gly Leu Arg Ser Leu Lys Glu Ile Ser Asp Gly Asp Val Ile Ile Ser
450 455 460

Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp Lys Lys Leu
465 470 475 480

Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn Arg Gly Glu
485 490 495

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

Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser Cys Arg Asn
515 520 525

Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu Leu Glu Gly
530 535 540

Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln Cys His Pro
545 550 555 560

Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
565 570 575

Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
580 585 590

Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
595 600 605

Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
610 615 620

Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro Thr Asn Gly
625 630 635 640

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

645	650	655	
Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met Arg Arg Arg His			
660	665	670	
Ile Val Arg Lys Arg Thr Leu Arg Arg Leu Leu Gln Glu Arg Glu Leu			
675	680	685	
Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Glu Ala Pro Asn Gln Ala Leu Leu			
690	695	700	
Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Phe Lys Lys Ile Lys Val Leu Gly Ser			
705	710	715	720
Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Leu Trp Ile Pro Glu Gly Glu			
725	730	735	
Lys Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Glu Leu Arg Glu Ala Thr Ser			
740	745	750	
Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met Ala Ser			
755	760	765	
Val Asp Asn Pro His Val Cys Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu Thr Ser			
770	775	780	
Thr Val Gln Leu Ile Thr Gln Leu Met Pro Phe Gly Cys Leu Leu Asp			
785	790	795	800
Tyr Val Arg Glu His Lys Asp Asn Ile Gly Ser Gln Tyr Leu Leu Asn			
805	810	815	
Trp Cys Val Gln Ile Ala Lys Gly Met Asn Tyr Leu Glu Asp Arg Arg			
820	825	830	
Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys Thr Pro			
835	840	845	
Gln His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Leu Leu Gly Ala			
850	855	860	
Glu Glu Lys Glu Tyr His Ala Glu Gly Gly Lys Val Pro Ile Lys Trp			
865	870	875	880
Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu His Arg Ile Tyr Thr His Gln Ser Asp			
885	890	895	

Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe Gly Ser

900 905 910

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

915 920 925

Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp Val Tyr

930 935 940

Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ala Asp Ser Arg Pro Lys

945 950 955 960

Phe Arg Glu Leu Ile Ile Glu Phe Ser Lys Met Ala Arg Asp Pro Gln

965 970 975

Arg Tyr Leu Val Ile Gln Gly Asp Glu Arg Met His Leu Pro Ser Pro

980 985 990

Thr Asp Ser Asn Phe Tyr Arg Ala Leu Met Asp Glu Glu Asp Met Asp

995 1000 1005

Asp Val Val Asp Ala Asp Glu Tyr Leu Ile Pro Gln Gln Gly Phe

1010 1015 1020

Phe Ser Ser Pro Ser Thr Ser Arg Thr Pro Leu Leu Ser Ser Leu

1025 1030 1035

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

1040 1045 1050

Gly Leu Gln Ser Cys Pro Ile Lys Glu Asp Ser Phe Leu Gln Arg

1055 1060 1065

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

1070 1075 1080

Asp Thr Phe Leu Pro Val Pro Glu Tyr Ile Asn Gln Ser Val Pro

1085 1090 1095

Lys Arg Pro Ala Gly Ser Val Gln Asn Pro Val Tyr His Asn Gln

1100 1105 1110

Pro Leu Asn Pro Ala Pro Ser Arg Asp Pro His Tyr Gln Asp Pro

1115 1120 1125

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

1130 1135 1140
 Pro Thr Cys Val Asn Ser Thr Phe Asp Ser Pro Ala His Trp Ala
 1145 1150 1155
 Gln Lys Gly Ser His Gln Ile Ser Leu Asp Asn Pro Asp Tyr Gln
 1160 1165 1170

 Gln Asp Phe Phe Pro Lys Glu Ala Lys Pro Asn Gly Ile Phe Lys
 1175 1180 1185
 Gly Ser Thr Ala Glu Asn Ala Glu Tyr Leu Arg Val Ala Pro Gln
 1190 1195 1200
 Ser Ser Glu Phe Ile Gly Ala
 1205 1210

 <210> 20
 <211> 405
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> EGFR Isoform 2
 <400> 20
 Met Arg Pro Ser Gly Thr Ala Gly Ala Ala Leu Leu Ala Leu Leu Ala
 1 5 10 15

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

 Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
 85 90 95
 Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
 100 105 110
 Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn

115 120 125
 Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
 130 135 140

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

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

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

 Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
 340 345 350
 Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
 355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
385 390 395 400

Ile Thr Gly Leu Ser
405

<210> 21

<211> 705

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR Isoform 3

<400> 21

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

Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala Leu Glu Glu Lys Lys Val Cys Gln
20 25 30

Gly Thr Ser Asn Lys Leu Thr Gln Leu Gly Thr Phe Glu Asp His Phe
35 40 45

Leu Ser Leu Gln Arg Met Phe Asn Asn Cys Glu Val Val Leu Gly Asn
50 55 60

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

Thr Ile Gln Glu Val Ala Gly Tyr Val Leu Ile Ala Leu Asn Thr Val
85 90 95

Glu Arg Ile Pro Leu Glu Asn Leu Gln Ile Ile Arg Gly Asn Met Tyr
100 105 110

Tyr Glu Asn Ser Tyr Ala Leu Ala Val Leu Ser Asn Tyr Asp Ala Asn
115 120 125

Lys Thr Gly Leu Lys Glu Leu Pro Met Arg Asn Leu Gln Glu Ile Leu
130 135 140

His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
145 150 155 160

Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
165 170 175

Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
180 185 190

Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln
195 200 205

Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg
210 215 220

Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
225 230 235 240

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
305 310 315 320

Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
325 330 335

Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
340 345 350

Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
370 375 380

Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr Val Lys Glu
385 390 395 400

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

405 410 415
 Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg Thr Lys Gln
 420 425 430

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

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

 Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly Arg Gly Pro
 565 570 575
 Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro His Cys Val
 580 585 590
 Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr Leu Val Trp
 595 600 605
 Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
 610 615 620

 Thr Tyr Gly Pro Gly Asn Glu Ser Leu Lys Ala Met Leu Phe Cys Leu
 625 630 635 640
 Phe Lys Leu Ser Ser Cys Asn Gln Ser Asn Asp Gly Ser Val Ser His
 645 650 655

Gln Ser Gly Ser Pro Ala Ala Gln Glu Ser Cys Leu Gly Trp Ile Pro
660 665 670
Ser Leu Leu Pro Ser Glu Phe Gln Leu Gly Trp Gly Gly Cys Ser His
675 680 685

Leu His Ala Trp Pro Ser Ala Ser Val Ile Ile Thr Ala Ser Ser Cys
690 695 700

His

705

<210> 22

<211> 628

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR Isoform 4

<400> 22

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

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

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

His Gly Ala Val Arg Phe Ser Asn Asn Pro Ala Leu Cys Asn Val Glu
145 150 155 160

Ser Ile Gln Trp Arg Asp Ile Val Ser Ser Asp Phe Leu Ser Asn Met
165 170 175

Ser Met Asp Phe Gln Asn His Leu Gly Ser Cys Gln Lys Cys Asp Pro
180 185 190

Ser Cys Pro Asn Gly Ser Cys Trp Gly Ala Gly Glu Glu Asn Cys Gln
195 200 205

Lys Leu Thr Lys Ile Ile Cys Ala Gln Gln Cys Ser Gly Arg Cys Arg
210 215 220

Gly Lys Ser Pro Ser Asp Cys Cys His Asn Gln Cys Ala Ala Gly Cys
225 230 235 240

Thr Gly Pro Arg Glu Ser Asp Cys Leu Val Cys Arg Lys Phe Arg Asp
245 250 255

Glu Ala Thr Cys Lys Asp Thr Cys Pro Pro Leu Met Leu Tyr Asn Pro
260 265 270

Thr Thr Tyr Gln Met Asp Val Asn Pro Glu Gly Lys Tyr Ser Phe Gly
275 280 285

Ala Thr Cys Val Lys Lys Cys Pro Arg Asn Tyr Val Val Thr Asp His
290 295 300

Gly Ser Cys Val Arg Ala Cys Gly Ala Asp Ser Tyr Glu Met Glu Glu
305 310 315 320

Asp Gly Val Arg Lys Cys Lys Lys Cys Glu Gly Pro Cys Arg Lys Val
325 330 335

Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu Ser Ile Asn
340 345 350

Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile Ser Gly Asp
355 360 365

Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe Thr His Thr
370 375 380

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

385 390 395 400
 Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn Arg Thr Asp
 405 410 415

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

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

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

 Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His Pro Asn Cys
 610 615 620
 Thr Tyr Gly Ser
 625

<210> 23

<211> 335

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFRt #1

<400> 23

Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu

1 5 10 15

Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile

20 25 30

Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe

35 40 45

Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr

50 55 60

Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn

65 70 75 80

Arg Thr Asp Leu His Ala Phe Glu Asn Leu Glu Ile Ile Arg Gly Arg

85 90 95

Thr Lys Gln His Gly Gln Phe Ser Leu Ala Val Val Ser Leu Asn Ile

100 105 110

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

115 120 125

Ile Ile Ser Gly Asn Lys Asn Leu Cys Tyr Ala Asn Thr Ile Asn Trp

130 135 140

Lys Lys Leu Phe Gly Thr Ser Gly Gln Lys Thr Lys Ile Ile Ser Asn

145 150 155 160

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

165 170 175

Cys Ser Pro Glu Gly Cys Trp Gly Pro Glu Pro Arg Asp Cys Val Ser

180 185 190

Cys Arg Asn Val Ser Arg Gly Arg Glu Cys Val Asp Lys Cys Asn Leu

195 200 205

Leu Glu Gly Glu Pro Arg Glu Phe Val Glu Asn Ser Glu Cys Ile Gln
210 215 220

Cys His Pro Glu Cys Leu Pro Gln Ala Met Asn Ile Thr Cys Thr Gly
225 230 235 240

Arg Gly Pro Asp Asn Cys Ile Gln Cys Ala His Tyr Ile Asp Gly Pro
245 250 255

His Cys Val Lys Thr Cys Pro Ala Gly Val Met Gly Glu Asn Asn Thr
260 265 270

Leu Val Trp Lys Tyr Ala Asp Ala Gly His Val Cys His Leu Cys His
275 280 285

Pro Asn Cys Thr Tyr Gly Cys Thr Gly Pro Gly Leu Glu Gly Cys Pro
290 295 300

Thr Asn Gly Pro Lys Ile Pro Ser Ile Ala Thr Gly Met Val Gly Ala
305 310 315 320

Leu Leu Leu Leu Leu Val Val Ala Leu Gly Ile Gly Leu Phe Met
325 330 335

<210> 24

<211> 338

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFRt #2

<400> 24

Arg Lys Val Cys Asn Gly Ile Gly Ile Gly Glu Phe Lys Asp Ser Leu

1 5 10 15
Ser Ile Asn Ala Thr Asn Ile Lys His Phe Lys Asn Cys Thr Ser Ile
20 25 30

Ser Gly Asp Leu His Ile Leu Pro Val Ala Phe Arg Gly Asp Ser Phe
35 40 45

Thr His Thr Pro Pro Leu Asp Pro Gln Glu Leu Asp Ile Leu Lys Thr
50 55 60

Val Lys Glu Ile Thr Gly Phe Leu Leu Ile Gln Ala Trp Pro Glu Asn

65						70						75						80
Arg	Thr	Asp	Leu	His	Ala	Phe	Glu	Asn	Leu	Glu	Ile	Ile	Arg	Gly	Arg			
					85						90						95	
Thr	Lys	Gln	His	Gly	Gln	Phe	Ser	Leu	Ala	Val	Val	Ser	Leu	Asn	Ile			
					100						105						110	
Thr	Ser	Leu	Gly	Leu	Arg	Ser	Leu	Lys	Glu	Ile	Ser	Asp	Gly	Asp	Val			
					115						120						125	
Ile	Ile	Ser	Gly	Asn	Lys	Asn	Leu	Cys	Tyr	Ala	Asn	Thr	Ile	Asn	Trp			
					130						135						140	
Lys	Lys	Leu	Phe	Gly	Thr	Ser	Gly	Gln	Lys	Thr	Lys	Ile	Ile	Ser	Asn			
					145						150						155	160
Arg	Gly	Glu	Asn	Ser	Cys	Lys	Ala	Thr	Gly	Gln	Val	Cys	His	Ala	Leu			
					165						170						175	
Cys	Ser	Pro	Glu	Gly	Cys	Trp	Gly	Pro	Glu	Pro	Arg	Asp	Cys	Val	Ser			
					180						185						190	
Cys	Arg	Asn	Val	Ser	Arg	Gly	Arg	Glu	Cys	Val	Asp	Lys	Cys	Asn	Leu			
					195						200						205	
Leu	Glu	Gly	Glu	Pro	Arg	Glu	Phe	Val	Glu	Asn	Ser	Glu	Cys	Ile	Gln			
					210						215						220	
Cys	His	Pro	Glu	Cys	Leu	Pro	Gln	Ala	Met	Asn	Ile	Thr	Cys	Thr	Gly			
					225						230						235	240
Arg	Gly	Pro	Asp	Asn	Cys	Ile	Gln	Cys	Ala	His	Tyr	Ile	Asp	Gly	Pro			
					245						250						255	
His	Cys	Val	Lys	Thr	Cys	Pro	Ala	Gly	Val	Met	Gly	Glu	Asn	Asn	Thr			
					260						265						270	
Leu	Val	Trp	Lys	Tyr	Ala	Asp	Ala	Gly	His	Val	Cys	His	Leu	Cys	His			
					275						280						285	
Pro	Asn	Cys	Thr	Tyr	Gly	Cys	Thr	Gly	Pro	Gly	Leu	Glu	Gly	Cys	Pro			
					290						295						300	
Thr	Asn	Gly	Pro	Lys	Ile	Pro	Ser	Ile	Ala	Thr	Gly	Met	Val	Gly	Ala			
					305						310						315	320

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

325

330

335

Arg Arg

<210> 25

<211> 6

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Juxtamembrane Domain #5

<400> 25

Lys Ser Gly Ser Gly Ser

1 5

<210> 26

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Juxtamembrane Domain #7

<400> 26

Lys Arg Ser Asp

1

<210> 27

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Juxtamembrane Domain #8

<400>

> 27

Lys Arg Ser Asp Lys

1 5

<210> 28

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Juxtamembrane Domain #9

<400> 28

Ser Gly Gly Gly Gly

1 5

<210> 29

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Juxtamembrane Domain #10

<400> 29

Ser Gly Ala Gly Gly

1 5

<210> 30

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Juxtamembrane Domain #11

<400> 30

Lys Arg Ala Asp Lys

1 5

<210> 31

<211> 14

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Juxtamembrane Domain #12

<400> 31

Arg Arg Arg Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 32

<211> 11

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Juxtamembrane Domain #13

<400> 32

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 33

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Juxtamembrane Domain #14

<400> 33

Gly Gly Gly Gly Ser Asn Asn

1 5

<210> 34

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Juxtamembrane Domain #15

<400> 34

Arg Arg Arg His Ile Val Arg Lys Arg

1 5

<210> 35

<211> 8

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Juxtamembrane Domain #16

<400> 35

Arg Arg Arg His Ile Val Arg Lys

1 5

<210> 36

<211> 7

<212

> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Juxtamembrane Domain #17

<400> 36

Arg Arg Arg His Ile Val Arg

1 5

<210> 37
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Juxtamembrane Domain #18
 <400> 37
 Arg Arg Arg His Ile Val
 1 5
 <210> 38
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Juxtamembrane Domain #19
 <400> 38
 Arg Arg Arg His Ile
 1 5
 <210> 39
 <211> 4
 <212> PRT

 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Juxtamembrane Domain #20
 <400> 39
 Arg Arg Arg His
 1
 <210> 40
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Linker
 <400> 40
 Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5
 <210> 41
 <211> 353

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> immunoglobulin heavy constant alpha 1

<400> 41

Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Cys Ser Thr
1 5 10 15

Gln Pro Asp Gly Asn Val Val Ile Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe
20 25 30

Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Gly Val
35 40 45

Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr
50 55 60

Thr Thr Ser Ser Gln Leu Thr Leu Pro Ala Thr Gln Cys Leu Ala Gly
65 70 75 80

Lys Ser Val Thr Cys His Val Lys His Tyr Thr Asn Pro Ser Gln Asp
85 90 95

Val Thr Val Pro Cys Pro Val Pro Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro
100 105 110

Ser Thr Pro Pro Thr Pro Ser Pro Ser Cys Cys His Pro Arg Leu Ser
115 120 125

Leu His Arg Pro Ala Leu Glu Asp Leu Leu Leu Gly Ser Glu Ala Asn
130 135 140

Leu Thr Cys Thr Leu Thr Gly Leu Arg Asp Ala Ser Gly Val Thr Phe
145 150 155 160

Thr Trp Thr Pro Ser Ser Gly Lys Ser Ala Val Gln Gly Pro Pro Glu
165 170 175

Arg Asp Leu Cys Gly Cys Tyr Ser Val Ser Ser Val Leu Pro Gly Cys
180 185 190

Ala Glu Pro Trp Asn His Gly Lys Thr Phe Thr Cys Thr Ala Ala Tyr
195 200 205

Pro Glu Ser Lys Thr Pro Leu Thr Ala Thr Leu Ser Lys Ser Gly Asn

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

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

 Thr His Val Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Val Asp Gly Thr Cys
 340 345 350
 Tyr

<210> 42

<211> 340

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> immunoglobulin heavy constant alpha 2

<400> 42

Ala Ser Pro Thr Ser Pro Lys Val Phe Pro Leu Ser Leu Asp Ser Thr
 1 5 10 15
 Pro Gln Asp Gly Asn Val Val Val Ala Cys Leu Val Gln Gly Phe Phe
 20 25 30

 Pro Gln Glu Pro Leu Ser Val Thr Trp Ser Glu Ser Gly Gln Asn Val
 35 40 45
 Thr Ala Arg Asn Phe Pro Pro Ser Gln Asp Ala Ser Gly Asp Leu Tyr

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

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

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

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

 Ala Glu Asp Trp Lys Lys Gly Glu Thr Phe Ser Cys Met Val Gly His
 290 295 300

Glu Ala Leu Pro Leu Ala Phe Thr Gln Lys Thr Ile Asp Arg Met Ala
 305 310 315 320
 Gly Lys Pro Thr His Ile Asn Val Ser Val Val Met Ala Glu Ala Asp
 325 330 335
 Gly Thr Cys Tyr
 340
 <210> 43
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> immunoglobulin gamma 2A chain C region

 <400> 43
 Ala Lys Thr Thr Ala Pro Ser Val Tyr Pro Leu Ala Pro Val Cys Gly
 1 5 10 15
 Asp Thr Thr Gly Ser Ser Val Thr Leu Gly Cys Leu Val Lys Gly Tyr
 20 25 30
 Phe Pro Glu Pro Val Thr Leu Thr Trp Asn Ser Gly Ser Leu Ser Ser
 35 40 45
 Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Asp Leu Tyr Thr Leu
 50 55 60

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

 Lys Ile Lys Asp Val Leu Met Ile Ser Leu Ser Pro Ile Val Thr Cys
 130 135 140
 Val Val Val Asp Val Ser Glu Asp Asp Pro Asp Val Gln Ile Ser Trp
 145 150 155 160

Phe Val Asn Asn Val Glu Val His Thr Ala Gln Thr Gln Thr His Arg
 165 170 175
 Glu Asp Tyr Asn Ser Thr Leu Arg Val Val Ser Ala Leu Pro Ile Gln
 180 185 190

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

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

 Thr Lys Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys
 325 330

 <210> 44
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> immunoglobulin heavy constant gamma 1
 <400> 44
 Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys
 1 5 10 15
 Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
 20 25 30

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

275 280 285
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn

290 295 300
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr
305 310 315 320
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
325 330

<210> 45

<211> 326

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> immunoglobulin heavy constant gamma 2

<400> 45

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr
20 25 30

Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser
35 40 45

Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser
50 55 60

Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr
65 70 75 80

Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys
85 90 95

Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro
100 105 110

Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
115 120 125

Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
130 135 140

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

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

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

<210> 46

<211> 377

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> immunoglobulin heavy constant gamma 3

<400> 46

Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg
1 5 10 15

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

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

 305 310 315 320
 Tyr Asn Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu
 325 330 335
 Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Ile
 340 345 350
 Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn Arg Phe Thr Gln
 355 360 365
 Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 370 375

<210> 47

<211> 327

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> immunoglobulin heavy constant gamma 4

<400> 47

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

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

85										90					95				
Arg	Val	Glu	Ser	Lys	Tyr	Gly	Pro	Pro	Cys	Pro	Ser	Cys	Pro	Ala	Pro				
100					105					110									
Glu	Phe	Leu	Gly	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys				
115				120				125											
Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val				
130			135				140												
Asp	Val	Ser	Gln	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp				
145		150				155				160									
Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe				
165					170					175									
Asn	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp				
180				185				190											
Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu				
195			200				205												
Pro	Ser	Ser	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg				
210		215				220													
Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Gln	Glu	Glu	Met	Thr	Lys				
225		230				235				240									
Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp				
245				250				255											
Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys				
260			265				270												
Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser				
275			280				285												
Arg	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Glu	Gly	Asn	Val	Phe	Ser				
290		295				300													
Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser				
305		310				315				320									
Leu	Ser	Leu	Ser	Leu	Gly	Lys													
325																			

<210> 48

<211> 384

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> immunoglobulin heavy constant delta

<400> 48

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

1 5 10 15

His Pro Lys Asp Asn Ser Pro Val Val Leu Ala Cys Leu Ile Thr Gly

20 25 30

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

35 40 45

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

50 55 60

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

65 70 75 80

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

85 90 95

Ile Phe Arg Trp Pro Glu Ser Pro Lys Ala Gln Ala Ser Ser Val Pro

100 105 110

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

115 120 125

Pro Ala Thr Thr Arg Asn Thr Gly Arg Gly Gly Glu Glu Lys Lys Lys

130 135 140

Glu Lys Glu Lys Glu Glu Gln Glu Glu Arg Glu Thr Lys Thr Pro Glu

145 150 155 160

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

165 170 175

Val Gln Asp Leu Trp Leu Arg Asp Lys Ala Thr Phe Thr Cys Phe Val

180 185 190

Val Gly Ser Asp Leu Lys Asp Ala His Leu Thr Trp Glu Val Ala Gly

195 200 205

Lys Val Pro Thr Gly Gly Val Glu Glu Gly Leu Leu Glu Arg His Ser

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

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

340 345 350
Tyr Thr Cys Val Val Ser His Glu Asp Ser Arg Thr Leu Leu Asn Ala
355 360 365
Ser Arg Ser Leu Glu Val Ser Tyr Val Thr Asp His Gly Pro Met Lys
370 375 380

<210> 49

<211> 428

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> immunoglobulin heavy constant chain epsilon

<400> 49

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

1 5 10 15

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

20 25 30
 Gly Tyr Phe Pro Glu Pro Val Met Val Thr Trp Asp Thr Gly Ser Leu
 35 40 45
 Asn Gly Thr Thr Met Thr Leu Pro Ala Thr Thr Leu Thr Leu Ser Gly
 50 55 60
 His Tyr Ala Thr Ile Ser Leu Leu Thr Val Ser Gly Ala Trp Ala Lys

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

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

 195 200 205
 Cys Ala Asp Ser Asn Pro Arg Gly Val Ser Ala Tyr Leu Ser Arg Pro
 210 215 220
 Ser Pro Phe Asp Leu Phe Ile Arg Lys Ser Pro Thr Ile Thr Cys Leu
 225 230 235 240
 Val Val Asp Leu Ala Pro Ser Lys Gly Thr Val Asn Leu Thr Trp Ser
 245 250 255
 Arg Ala Ser Gly Lys Pro Val Asn His Ser Thr Arg Lys Glu Glu Lys

 260 265 270

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

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

385 390 395 400
 Asp Glu Phe Ile Cys Arg Ala Val His Glu Ala Ala Ser Pro Ser Gln
 405 410 415
 Thr Val Gln Arg Ala Val Ser Val Asn Pro Gly Lys
 420 425

<210> 50

<211> 453

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> immunoglobulin heavy constant mu

<400> 50

Gly Ser Ala Ser Ala Pro Thr Leu Phe Pro Leu Val Ser Cys Glu Asn
 1 5 10 15

Ser Pro Ser Asp Thr Ser Ser Val Ala Val Gly Cys Leu Ala Gln Asp
 20 25 30
 Phe Leu Pro Asp Ser Ile Thr Phe Ser Trp Lys Tyr Lys Asn Asn Ser
 35 40 45

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

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

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

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

 Ile Ser Glu Ser His Pro Asn Ala Thr Phe Ser Ala Val Gly Glu Ala
 275 280 285
 Ser Ile Cys Glu Asp Asp Trp Asn Ser Gly Glu Arg Phe Thr Cys Thr

290 295 300
 Val Thr His Thr Asp Leu Pro Ser Pro Leu Lys Gln Thr Ile Ser Arg
 305 310 315 320
 Pro Lys Gly Val Ala Leu His Arg Pro Asp Val Tyr Leu Leu Pro Pro
 325 330 335

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

 Ser Glu Glu Glu Trp Asn Thr Gly Glu Thr Tyr Thr Cys Val Val Ala
 405 410 415
 His Glu Ala Leu Pro Asn Arg Val Thr Glu Arg Thr Val Asp Lys Ser
 420 425 430
 Thr Gly Lys Pro Thr Leu Tyr Asn Val Ser Leu Val Met Ser Asp Thr
 435 440 445
 Ala Gly Thr Cys Tyr
 450

<210> 51

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220

><223> Spacer

<400> 51

Lys Pro Cys Pro Pro Cys Lys Cys Pro

1 5

<210> 52

<211> 24

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> EGFR Signal Peptide

<400> 52

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

1 5 10 15

Ala Leu Cys Pro Ala Ser Arg Ala

20

<210> 53

<211> 22

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> GM-CSF Signal Peptide

<400> 53

Met Leu Leu Leu Val Thr Ser Leu Leu Leu Cys Glu Leu Pro His Pro

1 5 10 15

Ala Phe Leu Leu Ile Pro

20

<210> 54

<211> 20

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human Ig Kappa Signal Peptide

<400> 54

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

1 5 10 15

Gly Ala Tyr Gly

20

<210> 55

<211> 16

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Human CD33 Signal Peptide

<400> 55

Met Pro Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Leu Trp Ala Gly Ala Leu Ala

1 5 10 15

<210> 56

<211> 121

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> R12 VH

<400> 56

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

1 5 10 15

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Lys Ala Ser Gly Phe Asp Phe Ser Ala Tyr

20 25 30

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

35 40 45

Ala Thr Ile Tyr Pro Ser Ser Gly Lys Thr Tyr Tyr Ala Thr Trp Val

50 55 60

Asn Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Gln Asn Thr Val Asp

65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Thr Ala Ala Asp Arg Ala Thr Tyr Phe Cys

85 90 95

Ala Arg Asp Ser Tyr Ala Asp Asp Gly Ala Leu Phe Asn Ile Trp Gly

100 105 110

Pro Gly Thr Leu Val Thr Ile Ser Ser

115 120

<210> 57

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> R12 VH CDR1

<400> 57

Ala Tyr Tyr Met Ser

1 5

<210> 58

<211> 17

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> R12 VH CDR2

<400> 58

Thr Ile Tyr Pro Ser Ser Gly Lys Thr Tyr Tyr Ala Thr Trp Val Asn

1 5 10 15

Gly

<210> 59

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> R12 VH CDR3

<400> 59

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

1 5 10

<210> 60

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> R12 VL

<400> 60

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

1 5 10 15

Pro Ala Lys Ile Thr Cys Thr Leu Ser Ser Ala His Lys Thr Asp Thr

20 25 30

Ile Asp Trp Tyr Gln Gln Leu Gln Gly Glu Ala Pro Arg Tyr Leu Met

35 40 45

Gln Val Gln Ser Asp Gly Ser Tyr Thr Lys Arg Pro Gly Val Pro Asp

50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Ser Ser Gly Ala Asp Arg Tyr Leu Ile Ile Pro

65 70 75 80
 Ser Val Gln Ala Asp Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Ala Asp Tyr
 85 90 95
 Ile Gly Gly Tyr Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Thr Gly
 100 105 110

<210> 61

<211> 12

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> R12 VL CDR1

<400> 61

Thr Leu Ser Ser Ala His Lys Thr Asp Thr Ile Asp

1 5 10

<210> 62

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> R12 VL CDR2

<400> 62

Gly Ser Tyr Thr Lys Arg Pro

1 5

<210> 63

<211> 9

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> R12 VL CDR3

<400> 63

Gly Ala Asp Tyr Ile Gly Gly Tyr Val

1 5

<210> 64

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Gly/Ser Linker #1

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(5)

<223> wherein the sequence can be repeated by an intger greater than

one

<400> 64

Gly Gly Gly Ser Gly

1 5

<210> 65

<211> 5

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Gly/Ser Linker #2

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(5)

<223> wherein the sequence can be repeated by an intger greater than

one

<400> 65

Gly Gly Gly Gly Ser

1 5

<210> 66

<211> 4

<212> PRT

<213> Artificial Sequence

<220><223> Gly/Ser Linker #3

<220><221> misc_feature

<222> (1)..(4)

<223> wherein the sequence can be repeated by an intger greater than

one

<400> 66

Gly Gly Gly Ser

1

<210> 67

<211> 3

<212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Gly/Ser Linker #4
 <220><221> misc_feature
 <222> (1)..(3)
 <223> wherein the sequence can be repeated by an intger greater than
 one
 <400> 67
 Gly Gly Ser
 1
 <210> 68
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Gly/Ser Linker #5
 <400> 68
 Gly Ser Gly Ser Gly Ser
 1 5
 <210> 69
 <211> 5

 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Gly/Ser Linker #6
 <400> 69
 Gly Gly Ser Gly Gly
 1 5
 <210> 70
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Gly/Ser Linker #7
 <400> 70
 Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
 1 5

<210> 71
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Gly/Ser Linker #8
 <400> 71
 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 1 5 10 15

<210> 72
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Gly/Ser Linker #9
 <400> 72
 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 1 5 10 15

<210> 73
 <211> 18
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Gly/Ser Linker #10
 <400> 73
 Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Ser

<210>
 74
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> Artificial Sequence
 <220><223> Gly/Ser Linker #11
 <400> 74
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1

5

10

15