

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公開特許公報(A)

(11)公開番号

特開2023-55884

(P2023-55884A)

(43)公開日 令和5年4月18日(2023.4.18)

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N 5/10 (2006.01)

C 1 2 N 5/10

Z N A

C 1 2 Q 1/02 (2006.01)

C 1 2 Q 1/02

A 6 1 P 35/00 (2006.01)

A 6 1 P 35/00

A 6 1 P 31/00 (2006.01)

A 6 1 P 31/00

A 6 1 K 35/17 (2015.01)

A 6 1 K 35/17

審査請求 有 請求項の数 1 O L (全238頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2023-15050(P2023-15050)

(22)出願日 令和5年2月3日(2023.2.3)

(62)分割の表示 特願2020-521596(P2020-521596)

)の分割

原出願日 平成30年3月9日(2018.3.9)

(31)優先権主張番号 PCT/EP2017/076798

(32)優先日 平成29年10月19日(2017.10.19)

(33)優先権主張国・地域又は機関

欧州特許庁(EP)

(31)優先権主張番号 PCT/EP2018/053343

(32)優先日 平成30年2月9日(2018.2.9)

(33)優先権主張国・地域又は機関

欧州特許庁(EP)

(71)出願人 512213549

セレクトイス

CELLECTIS

フランス、75013 パリ、リュドラ

クロワ ジャリ 8

8 rue de la Croix Ja

rry, 75013 Paris, F

rance

(74)代理人 100102978

弁理士 清水 初志

(74)代理人 100102118

弁理士 春名 雅夫

(74)代理人 100160923

弁理士 山口 裕孝

(74)代理人 100119507

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 改善された免疫細胞療法のためのNK阻害物質遺伝子の標的指向遺伝子組み込み

(57)【要約】 (修正有)

【課題】腫瘍などの免疫耐性を発生する病状に対する初代免疫細胞の機能性を増強し、それによってこれらの免疫細胞の治療的可能性を改善するための、初代免疫細胞を調製する方法を提供する。

【解決手段】T細胞を含む細胞の集団を提供する工程；該T細胞のある割合中に、(i)少なくとも1種類のNK細胞阻害物質をコードするように、選択された内在性遺伝子座に組み込まれる外来性ポリヌクレオチド配列を含む、少なくとも1種類の核酸；(ii)選択された内在性遺伝子座を特異的に標的とする、少なくとも1種類の配列特異的試薬を導入する工程を含み、外来性ポリヌクレオチド配列が、内在性遺伝子座中への標的指向遺伝子組み込みによって挿入される、細胞免疫療法用の操作された初代免疫細胞を調製するための方法である。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

細胞免疫療法用の操作された初代免疫細胞を調製するための方法であって、
T細胞を含む細胞の集団を提供する工程；
該T細胞のある割合中に、

(i) 少なくとも1種類のNK細胞阻害物質をコードするように、選択された内在性遺伝子座に組み込まれる外来性ポリヌクレオチド配列を含む、少なくとも1種類の核酸；

(ii) 該選択された内在性遺伝子座を特異的に標的とする、少なくとも1種類の配列特異的試薬

を導入する工程

を含み、該外来性ポリヌクレオチド配列が、該内在性遺伝子座中への標的指向遺伝子組込みによって挿入される、前記方法。

【請求項 2】

前記配列特異的試薬がヌクレアーゼである、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

前記標的指向遺伝子組込みが、前記免疫細胞中への相同組換えまたはNHEJによって作動される、請求項1または2に記載の方法。

【請求項 4】

前記外来性ポリヌクレオチド配列が、前記遺伝子座に存在する内在性プロモーターの転写制御下に組み込まれる、請求項1～3のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 5】

前記内在性遺伝子座が、MHC I構成要素、例えば 2mを発現する遺伝子座である、請求項4に記載の方法。

【請求項 6】

前記外来性配列の前記挿入が、前記内在性遺伝子座での 2m発現を不活性化する、請求項5に記載の方法。

【請求項 7】

前記内在性プロモーターが、免疫細胞活性化の間に活性を有しているように選択される、請求項1～4のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

前記内在性遺伝子座の前記内在性プロモーターが、T細胞活性化に対して応答性であり、例えば表6から選択される1つである、請求項1～7のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 9】

前記T細胞がキメラ抗原受容体(CAR)を与えられている、請求項1～8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 10】

前記キメラ抗原受容体(CAR)をコードする外来性配列が、TCR遺伝子座に組み込まれる、請求項9に記載の方法。

【請求項 11】

前記キメラ抗原受容体(CAR)をコードする前記外来性配列が、内在性TCR配列の発現を阻止する、請求項10に記載の方法。

【請求項 12】

前記内在性遺伝子座での前記内在性プロモーターの活性が、前記キメラ抗原受容体(CAR)を通した前記T細胞の活性化に対して応答性である、請求項9～11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 13】

前記特異的エンドヌクレアーゼ試薬が、RNAもしくはDNAガイドエンドヌクレアーゼ、例えばCas9もしくはCpf1、RNAもしくはDNAガイド、TALエンドヌクレアーゼ、Znフィンガーヌクレアーゼ、ホーミングエンドヌクレアーゼ、またはそれらの任意の組み合わせから選択される、請求項1～12のいずれか一項に記載の方法。

10

20

30

40

50

【請求項 14】

NK阻害物質をコードする前記外来性配列が、非多型性クラスI分子、例えば、HLA-GもしくはHLA-E、またはその重鎖エピトープを含むその断片をコードする配列を好ましくは含む、請求項1～13のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 15】

前記外来性配列が、2m内在性遺伝子座に組み込まれた場合に、その断片のHLA-EまたはHLA-Gと2m断片との融合物の発現を結果としてもたらず、請求項5～14のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 16】

その断片のHLA-EまたはHLA-Gと2m断片との前記融合物が、HLA-EまたはHLA-Gの二量体または三量体の発現を結果としてもたらず、請求項15に記載の方法。 10

【請求項 17】

NK阻害物質をコードする前記外来性配列が、ウイルスエバシンまたはそのエピトープを含む断片、例えばUL16(ULBP1とも呼ばれる Uniprot参照番号Q9BZM6)由来のものをコードする配列を好ましくは含む、請求項1～13のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 18】

前記T細胞が、初代細胞、好ましくはヒト初代T細胞である、請求項1～17のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 19】

請求項1～18のいずれか一項に記載の方法によって取得可能である、操作されたT細胞。 20

【請求項 20】

内在性遺伝子プロモーターの転写制御下に組み込まれている、NK阻害物質をコードする外来性配列を含む、操作されたT細胞。

【請求項 21】

前記内在性遺伝子プロモーターが、表6に列挙される1つの遺伝子座で選択される、請求項19または20のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

【請求項 22】

NK阻害物質をコードする前記外来性配列が、2m遺伝子座に組み込まれている、請求項19～21のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。 30

【請求項 23】

前記T細胞がキメラ抗原受容体を与えられている、請求項19～22のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

【請求項 24】

遺伝子型[TCR]^{陰性}[2m]^{陰性}を有する、請求項23に記載の操作されたT細胞。

【請求項 25】

前記CARをコードする外来性配列が、TCR遺伝子座に組み込まれている、請求項23または24に記載の操作されたT細胞。

【請求項 26】

前記T細胞が初代細胞である、請求項19～25のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。 40

【請求項 27】

がんまたは感染症の処置についてのその使用のための、請求項19～26のいずれか一項に記載の操作されたT細胞。

【請求項 28】

少なくとも30%、好ましくは50%、より好ましくは80%の、請求項19～27のいずれか一項に記載の操作されたT細胞を含む、治療上有効な免疫細胞の集団。

【請求項 29】

少なくとも30%、好ましくは50%、より好ましくは80%の細胞が、ドナー、好ましくは1人の単一ドナーを起源とする、請求項28に記載の治療上有効な免疫細胞の集団。 50

【請求項 3 0】

50%超の前記免疫細胞が、TCR陰性T細胞である、請求項29に記載の初代免疫細胞の集団。

【請求項 3 1】

50%超の前記免疫細胞が、CAR陽性細胞である、請求項28～30のいずれか一項に記載の初代免疫細胞の集団。

【請求項 3 2】

請求項28～31のいずれか一項に記載の操作された免疫細胞集団を含む、薬学的組成物。

【請求項 3 3】

以下の工程を含む、その必要がある患者を処置するための方法：

請求項28～32のいずれか一項に記載の操作された初代免疫細胞の集団を調製する工程；

任意で、該操作された初代免疫細胞を精製または選別する工程；

該操作された初代免疫細胞の集団を、該細胞の該患者中への注入時または注入後に活性化する工程。

【請求項 3 4】

前記患者が、がんについて処置される、請求項33に記載の方法。

【請求項 3 5】

前記患者が、感染症について処置される、請求項33に記載の方法。

【請求項 3 6】

少なくとも以下の工程を含む、T細胞において発現可能なNK阻害物質をコードする適切な配列を特定するための方法：

TCRおよび 2mの発現が両方とも抑えられているおよび/または不活性化されているT細胞を提供する工程；

推定のNK阻害物質をコードする候補配列を、該T細胞における内在性プロモーターの制御下の内在性遺伝子座に組み込む工程；

結果として生じた操作されたT細胞を、NK細胞の存在下で培養する工程。

【請求項 3 7】

少なくとも以下の工程を含む、T細胞において発現可能なNK阻害物質をコードする適切な配列を特定するための方法：

TCR発現が抑えられているかまたは不活性化されているT細胞を提供する工程；

推定のNK阻害物質をコードする候補配列を 2m遺伝子座に組み込むことによって、該T細胞において 2m発現を不活性化する工程であって、該推定のNK阻害物質の発現が、該 2m遺伝子座の内在性プロモーターの転写制御下に置かれる、工程；

結果として生じた操作されたT細胞を、NK細胞の存在下で培養する工程。

【請求項 3 8】

前記T細胞にキメラ抗原受容体を与える工程をさらに含む、請求項36または37に記載の方法。

【請求項 3 9】

前記結果として生じた操作されたT細胞の生存を、前記候補配列を発現しない同じものと比較する工程；

任意で、NK細胞に対してより耐性である操作された細胞を選択する工程をさらに含む、請求項36～38のいずれか一項に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は、適応性細胞免疫療法の分野に属する。これは、腫瘍などの免疫耐性を発生する病状に対する初代免疫細胞の機能性を増強し、それによってこれらの免疫細胞の治療的

10

20

30

40

50

可能性を改善することを目標にする。特に、本発明の方法は、患者のNK細胞による攻撃に起因する同種異系T細胞の拒絶を防止し、特にそれらがドナーに由来する場合に該T細胞の移植を支持するための、NK阻害物質をコードする外来性コード配列の遺伝的挿入を提供する。これらの外来性コード配列は、より詳細には、免疫細胞活性化時、腫瘍微小環境もしくは命を脅かす炎症状態上で上方制御される内在性遺伝子プロモーター、または免疫細胞活性化に対して非感受性であるもしくはプロモーターの転写制御下の細胞ゲノムに、より具体的には 2m 遺伝子座に挿入される。本発明はさらに、前記特定の遺伝子座でそのような標的指向挿入を行うための、配列特異的エンドヌクレアーゼ試薬およびドナーDNAベクター、例えばAAVベクターも提供する。本発明の方法は、細胞療法における操作された初代免疫細胞の効率的な使用のために、それらの治療的可能性および安全性を改善することに寄与する。 10

【背景技術】

【0002】

発明の背景

造血細胞系列を含む初代免疫細胞集団の有効な臨床応用が、ある範囲の病状、特にHIV感染症および白血病に対して、10年間にわたって多数の臨床試験によって確立されている (Tristen S.J. et al. (2011) Treating cancer with genetically engineered T cells. Trends in Biotechnology. 29(11):550-557 (非特許文献1))。

【0003】

しかし、これらの臨床試験の大部分は、患者自身から、または適合ドナーから得られた免疫細胞、主にNK細胞およびT細胞を使用しており、利用可能な免疫細胞の数、それらの適応度、および、患者の免疫系を迂回するまたは低減させるための戦略を既に発達させている疾患を克服するそれらの効率に関して、いくつかの限界をもたらしている。 20

【0004】

同種異系免疫細胞の調達への根本的な進歩として、「既製の」治療用生成物として利用可能である万能免疫細胞が、遺伝子編集によって作製されている (Poirot et al. (2015) Multiplex Genome-Edited T-cell Manufacturing Platform for "Off-the-Shelf" Adoptive T-cell Immunotherapies Cancer Res. 75: 3853-64 (非特許文献2))。これらの万能免疫細胞は、二本鎖切断によってそれらの自己認識遺伝的決定基を破壊する効果を有する、ドナーを起源とする免疫細胞中に特異的な低頻度切断エンドヌクレアーゼを発現させることによって取得可能である。 30

【0005】

メガヌクレアーゼと最初に呼ばれた、世紀の変わり目までの最初のプログラム可能な配列特異的試薬の出現 (Smith et al. (2006) A combinatorial approach to create artificial homing endonucleases cleaving chosen sequences. Nucl. Acids Res. 34 (22):e149. (非特許文献3)) 以来、様々なタイプの配列特異的エンドヌクレアーゼ試薬が開発され、改善された特異性、安全性、および信頼性を提供している。

【0006】

TALE結合ドメインと切断触媒ドメインとの融合物であるTALEヌクレアーゼ (WO2011072246 (特許文献1)) は、初代免疫細胞、特に末梢血単核細胞 (PBMC) 由来のT細胞に成功裡に適用されている。TALEN (登録商標) という名称で市販されているそのようなTALEヌクレアーゼは、特に、TCR (T細胞受容体) およびCD52をコードする遺伝子が破壊されている同種異系治療用T細胞を作製するために、ドナーを起源とするT細胞における遺伝子配列を同時に不活性化するために現在用いられるものである。これらの細胞は、がん患者を処置するためのキメラ抗原受容体 (CAR) を与えられ得る (US2013/0315884 (特許文献2))。TALEヌクレアーゼは、切断ドメインFok-1の二量体化を得るために不可避のヘテロ二量体型の状態の対でDNAに結合する必要があるため、非常に特異的な試薬である。左および右のヘテロ二量体メンバーは各々、30~50 bpの全体的な特異性の標的配列に共にわたる、約14~20 bpの異なる核酸配列を認識する。 40

【0007】

他のエンドヌクラーゼ試薬が、細菌である化膿性連鎖球菌 (*S. pyogenes*) のII型原核生物CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short palindromic Repeats) 適応免疫系の構成要素に基づいて開発されている。RNAガイドヌクラーゼシステム (Gasiunas, Barrangou et al. 2012; Jinek, Chylinski et al. 2012 (非特許文献4)) と呼ばれるこの複数構成要素システムは、該ヌクラーゼをいくつかの特異的なゲノム配列に駆動する能力を有するガイドRNA分子とカップリングしたCas9またはCpf1エンドヌクラーゼファミリーのメンバーを含む (Zetsche et al. (2015). Cpf1 is a single RNA-guided endonuclease that provides immunity in bacteria and can be adapted for genome editing in mammalian cells. Cell 163:759-771 (非特許文献5))。そのようなプログラム可能なRNAガイドエンドヌクラーゼは、容易に設計し、かつ安価に作製することができるRNAガイドの配列によって切断特異性が決定されるため、作製するのが容易である。しかし、CRISPR/Cas9の特異性は、標的とされる遺伝子配列において特定のモチーフ (PAM) の近くに位置しなければならない、約10 pbのTALヌクラーゼよりも短い配列に基づく。同様のシステムが、Argonauteタンパク質と組み合わせたDNA一本鎖オリゴヌクレオチド (DNAガイド) を用いて記載されている (Gao, F. et al. DNA-guided genome editing using the *Neisseria meningitidis* Argonaute (2016) doi:10.1038/nbt.3547 (非特許文献6))。

10

【0008】

TALヌクラーゼ (例えば、MegaTAL) またはZnフィンガーヌクラーゼと組み合わせたかまたは組み合わせていない、ホーミングエンドヌクラーゼ (例えば、I-Onu1またはI-Cre1) に由来する他のエンドヌクラーゼシステムもまた、特異性を証明しているが、これまでのところ、より低い程度までである。

20

【0009】

並行して、遺伝子導入T細胞受容体またはいわゆるキメラ抗原受容体 (CAR) の遺伝的移入を通して、新規の特異性を免疫細胞に付与することができる (Jena et al. (2010) Redirecting T-cell specificity by introducing a tumor-specific chimeric antigen receptor. Blood. 116:1035-1044 (非特許文献7))。CARは、単一融合分子において1個または複数個のシグナル伝達ドメインと会合しているターゲティング部分を含む組換え受容体である。概して、CARの結合部分は、可撓性リンカーによって連結されたモノクローナル抗体の軽鎖および重鎖可変断片を含む、一本鎖抗体 (scFv) の抗原結合ドメインからなる。受容体またはリガンドドメインに基づく結合部分もまた、成功裡に用いられている。第1世代のCARについてのシグナル伝達ドメインは、CD3 またはFc受容体鎖の細胞質領域に由来する。第1世代のCARは、T細胞の細胞傷害性を成功裡に再方向づけすることが示されているが、インビボで長期の増大および抗腫瘍活性を提供することはできなかった。CAR改変T細胞の生存を増強し、その増殖を増加させるために、CD28、OX-40 (CD134)、ICOS、および4-1BB (CD137) を含む共刺激分子由来のシグナル伝達ドメインが、単独で (第2世代) または組み合わせで (第3世代) 付加されている。CARにより、T細胞が、リンパ腫および固形腫瘍を含む種々の悪性腫瘍由来の腫瘍細胞の表面に発現する抗原に対して再方向づけされることが成功裡に可能になっている。

30

40

【0010】

TALEヌクラーゼを用いてそれらのT細胞受容体 (TCR) が破壊され、「UCART19」生成物と呼ばれるCD19悪性腫瘍抗原を標的とするキメラ抗原受容体 (CAR) を与えられた、近年操作されたT細胞は、難治性白血病を有する少なくとも2人の乳児において治療的可能性を示している (Leukaemia success heralds wave of gene-editing therapies (2015) Nature 527:146-147 (非特許文献8))。そのようなUCART19細胞を得るために、TALEヌクラーゼを、TCR遺伝子破壊を起こすようにキャップmRNAのエレクトロポレーション時に細胞中に一過性に発現させたのに対して、キメラ抗原受容体 (CAR CD19) をコードするカセットを、レトロウイルスベクターを用いてゲ

50

ノム中にランダムに導入した。

【0011】

この後者のアプローチにおいて、遺伝子不活性化の工程およびキメラ抗原受容体を発現させる工程は、「エクスピボ」でT細胞の活性化を誘導した後に、独立して行われる。

【0012】

しかし、初代免疫細胞の操作は、そのような細胞の成長/生理機能に対して何の結果もないわけではない。特に、1つの主要な難題は、それらの免疫反応および寿命を有意に低減させる細胞の消耗/エネルギーを回避することである。これは、細胞が患者中への注入に先行して人工的に活性化される時に起こる可能性がより高い。これはまた、細胞が、反応性の高すぎるCARを与えられている時でもある。

【0013】

これらの落とし穴を回避するため、本発明者らは、T細胞活性化の間にいくつかの鍵となる遺伝子の転写調節を利用して、免疫細胞の治療的可能性を増加させる外来性遺伝子配列を発現させることを考えた。免疫細胞活性化時に発現するまたは同時発現する外来性遺伝子配列を、配列特異的エンドヌクレアーゼ試薬を用いた遺伝子標的指向挿入によってそれらのコード配列がその遺伝子座に存在する内在性プロモーターの制御下で転写されるように、導入する。あるいは、免疫細胞活性化の間に発現しない遺伝子座を、ゲノムに対していかなる有害な結果も伴わない発現カセットの組込みのための「安全港遺伝子座」として用いることができる。

【0014】

これらの細胞操作戦略は、本発明の通りに、概して初代免疫細胞の治療的可能性を、特にそれらの寿命、残存性、および免疫活性を増加させることによって、ならびに細胞消耗を限定することによって強化する傾向がある。本発明は、自己処置戦略の一部として患者を起源とする、および同種異系処置戦略の一部としてドナーを起源とする、初代細胞に対して実行されてもよい。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0015】

【特許文献1】WO2011072246

【特許文献2】US2013/0315884

【非特許文献】

【0016】

【非特許文献1】Tristen S.J. et al. (2011) Treating cancer with genetically engineered T cells. *Trends in Biotechnology*. 29(11):550-557

【非特許文献2】Poirot et al. (2015) Multiplex Genome-Edited T-cell Manufacturing Platform for “Off-the-Shelf” Adoptive T-cell Immunotherapies *Cancer Res.* 75: 3853-64

【非特許文献3】Smith et al. (2006) A combinatorial approach to create a rtificial homing endonucleases cleaving chosen sequences. *Nucl. Acids Res.* 34 (22):e149.

【非特許文献4】Gasiunas, Barrangou et al. 2012; Jinek, Chylinski et al. 2012

【非特許文献5】Zetsche et al. (2015). Cpf1 is a single RNA-guided endonuclease that provides immunity in bacteria and can be adapted for genome editing in mammalian cells. *Cell* 163:759-771

【非特許文献6】Gao, F. et al. DNA-guided genome editing using the *Natrobacterium gregoryi* Argonaute (2016) doi:10.1038/nbt.3547

【非特許文献7】Jena et al. (2010) Redirecting T-cell specificity by introducing a tumor-specific chimeric antigen receptor. *Blood*. 116:1035-1044

【非特許文献8】Leukaemia success heralds wave of gene-editing therapies (2015) *Nature* 527:146-147

10

20

30

40

50

【発明の概要】

【0017】

非相同末端結合（NHEJ）および相同性指向修復（HDR）は、インビボDNA切断を修復するために用いられる2つの主要な経路である。後者の経路は、鑄型依存的様式で切断を修復する（HDRは天然で、DNA修復鑄型として姉妹染色分体を利用する）。相同組換えは、外来的に供給されたドナー鑄型を用いて、標的指向DNA改変でゲノムを高精度に編集するために、数十年間にわたって用いられている。低頻度切断エンドヌクレアーゼを用いた標的位置での二本鎖切断（DSB）の人工的生成は、相同組換えの効率を相当に増強する（例えば、US 8,921,332）。また、低頻度切断エンドヌクレアーゼと、切断部位に相同なDNA配列を含有するドナー鑄型との同時送達により、遺伝子修正または遺伝子挿入などのHDRベースの遺伝子編集が可能になる。しかし、そのような技法は、数個の技術的境界：アポトーシスをもたらす、そのようなタイプの細胞中へのDNAのトランスフェクトの難しさ、免疫細胞が限定された寿命および世代数を有すること、相同組換えが概して低頻度で起こることのために、初代免疫細胞、特にCAR T細胞において広範には用いられていない。

10

【0018】

これまでのところ、配列特異的エンドヌクレアーゼ試薬は、NHEJ経路を用いて、遺伝子不活性化のために初代免疫細胞において主に用いられている（例えば、WO2013176915）。

【0019】

CAR T細胞の養子移入は、複数のがんと闘う非常に有望な戦略に相当する。そのような治療法の臨床転帰は、患者内でのエフェクター細胞の生着する、増殖する、および腫瘍細胞を特異的に死滅させる能力に密接に連結している。

20

【0020】

同種異系CAR T細胞注入が考慮される場合、養子移入された細胞の拒絶を阻止するため、宿主組織損傷を最小化するため、および有意な抗腫瘍転帰を惹起するために、宿主対移植片反応および移植片対宿主反応が回避されなければならない。

【0021】

本発明は、NK阻害物質をコードする外来性配列が、T細胞活性化の間のその発現のために部位特異的遺伝子編集によって挿入されている、2m欠損CAR T細胞を成功裡に生成することによって、前述の考慮に対処するための新規の細胞操作戦略を提供する。

30

【0022】

本発明の1つの主要な利点は、NK阻害物質をコードするそのような外来性配列を、その転写活性が免疫細胞活性化の効果によって低減されない内在性プロモーターの制御下に置くことである。

【0023】

好ましい局面において、本発明は、標的細胞において、2m遺伝子座での部位特異的遺伝子編集、特に遺伝子挿入（または多重遺伝子挿入）を行うことに依拠し、これは、好ましくは2mの代わりに発現するように、該組み込まれた遺伝子転写を、優先的に該2m遺伝子座の内在性プロモーターの制御下にするためである。あるいは、本発明は、ドナー鑄型におけるシス調節エレメント（例えば、2Aシス作用性ヒドロラーゼエレメント）または内部リボソーム進入部位（IRES）の使用を通して、ネイティブ遺伝子の発現を維持しながら、組み込まれた遺伝子転写を内在性プロモーターの制御下にするように、初代免疫細胞における遺伝子編集を行うことに依拠し得る。

40

【0024】

さらなる局面において、本発明は、キメラ抗原受容体（CAR）を、TCR遺伝子座で、または免疫細胞活性化時に上方制御される選択された遺伝子座で発現させることに依拠する。CARをコードする外来性配列および内在性遺伝子コード配列は、例として、同様に導入されるシス調節エレメント（例えば、2Aシス作用性ヒドロラーゼエレメント）によりまたは内部リボソーム進入部位（IRES）により分離されることによって、同時転写さ

50

れてもよい。例として、CARをコードする外来性配列を、腫瘍微小環境によって活性化される内在性遺伝子、例えば、腫瘍の閉じた環境において低酸素および生体異物によってそれぞれ誘導される遺伝子センサーである、転写因子の低酸素誘導性因子であるHIF1 α 、または芳香族炭化水素受容体(AhR)のプロモーターの転写制御下に置くことができる。

【0025】

好ましい態様において、本発明の方法は、好ましくはAAV6ベースのベクター中にセットされたDNA修復マトリックスの存在下で、配列特異的ヌクレアーゼ試薬、例えば、非限定的な例としてTALEN、ZFN、またはRNAガイドエンドヌクレアーゼを発現させることによって、腫瘍微小環境下で高度に転写される遺伝子座に二本鎖切断を生成する工程を含む。このDNAドナー鋳型は、概して、唯一のまたは複数のオープンリーディングフレームおよび調節遺伝子エレメント(終止コドンおよびポリA配列)を埋め込む2個の相同性アームを含む。

10

【0026】

NK阻害物質をコードする外来性配列は、好ましくは、非多型性クラスI分子またはウイルスエバシン、例えば、UL18[Uniprot番号F5HFB4]およびUL16[ULBP1とも呼ばれるUniprot番号Q9BZM6]、その断片または融合物をコードする配列を含む。

【0027】

好ましい態様によると、前記外来性配列は、HLA-GもしくはHLA-E、またはその機能的バリエーションと少なくとも80%のアミノ酸配列同一性を示すポリペプチドをコードする。

20

【0028】

これらの外来性配列は、遺伝子不活性化を遺伝子導入と組み合わせることができるように、前記遺伝子座に存在する内在性コード配列を欠失させるかまたは改変すること(ノックインによるノックアウト)によってゲノム中に導入することができる。

【0029】

標的とされる遺伝子座および免疫細胞活性におけるその関与に応じて、標的とされる内在性遺伝子は、その元の機能において不活性化されてもよく、または維持されてもよい。万一標的とされる遺伝子が免疫細胞活性のために不可欠であれば、この挿入手順は、遺伝子不活性化を伴わずに単一のノックイン(KI)を生成することができる。反対に、標的とされる遺伝子が免疫細胞の阻害/消耗に関与すると考えられる場合、挿入手順は、好ましくは、導入された外来性コード配列の発現を可能にしながら内在性配列をノックアウトすることによって、内在性遺伝子の発現を阻止するように設計される。

30

【0030】

より具体的な局面において、本発明は、特異的な遺伝子座、例えば、非限定的な例としてPD1、PDL1、CTLA-4、TIM3、LAG3、TNF α 、またはIFN γ での標的指向組込み(ネイティブ遺伝子破壊を伴うかまたは伴わない)によって、CARシグナル伝達経路の活性化時に、標的遺伝子発現を種々の速度論で上方制御することに依拠する。

【0031】

さらにより具体的な局面において、PD1、CD25、またはCD69内在性遺伝子座で、これらの遺伝子座に存在する内在性プロモーターの制御下でのそれらの発現のために組み込まれる、IL-15またはIL-12ポリペプチドをコードする外来性配列を含む、患者中への注入のための操作された免疫細胞、および好ましくは初代免疫細胞が、本明細書に記載される。

40

【0032】

本発明による免疫細胞は、治療適応症およびレシピエント患者に応じて、[CAR]^{陽性}、[CAR]^{陰性}、[TCR]^{陽性}、または[TCR]^{陰性}であることができる。1つの好ましい局面において、免疫細胞は、同種異系移植のためにさらに[TCR]^{陰性}にされる。これは、特に、TCRの少なくとも1つの構成要素をコードする少なくとも1種類の外来性配列、例えばTRAC(TCRをコードする遺伝子座)の遺伝子破壊によって、好ましくは、キメラ抗原受容体(CAR)もしくは組換えTCR、またはそれらの構成要素をコードする外来性配列の組

50

込みによって、達成することができる。

【0033】

本発明のさらなる局面によると、免疫細胞は、NK阻害物質をコードするものに加えて、IL-6受容体ファミリーのサイトカイン受容体、例えば変異GP130と会合し、好ましくは干渉することができるポリペプチドをコードする、さらなる外来性配列をトランスフェクトされる。特に、本発明は、インターロイキン-6 (IL-6) シグナル伝達を干渉し、理想的には遮断することによるサイトカイン放出症候群 (CRS) の低減を目標にして、可溶性変異GP130を分泌する免疫細胞、好ましくはT細胞を提供する。CRSは、細胞免疫療法の周知の合併症であり、形質導入された免疫細胞がインビボで活性を有し始める時に現れる自己免疫をもたらす。IL-6のその受容体IL-6Rへの結合後に、複合体は、GP130サブユニットと会合し、シグナル伝達および炎症性応答のカスケードを開始する。特定の局面によると、IgG1抗体のFc部分に融合したGP130の細胞外ドメインを含む二量体タンパク質 (sgp130Fc) を、可溶性IL-R/IL-6複合体に特異的に結合してIL-6トランスシグナル伝達の部分的または完全な遮断を達成するために、操作された免疫細胞において発現させる。

10

【0034】

本発明のさらなる局面によると、サイトカイン放出症候群 (CRS) は、他の経路に作用することによって、特に、CRSの増幅構成要素であるマクロファージ活性化症候群 (MAS) を阻害することによって、和らげることができる。この目標を達成するために、本発明は、IL1およびIL18活性化経路のアンタゴニスト、例えば、IL1RAおよび/またはIL18BPをコードする外来性配列を組み込むことを含む。従って、本発明は、それによってIL1RAおよび/またはIL18BPをコードする外来性配列が、選択された遺伝子座、例えば本明細書において示される1つの選択された遺伝子座に組み込まれる、治療用細胞を生成するための方法を提供する。

20

【0035】

本発明は、従って、NK阻害物質と組み合わせるまたはそれを伴わずに、免疫療法においてCRSを限定するための種々の方法に言及し、ここで、免疫細胞は、IL1もしくはIL18と会合し、好ましくは干渉することができる可溶性ポリペプチド、例えばIL1RA、IL18BP、またはIL-6受容体ファミリーのサイトカイン受容体と会合し、好ましくは干渉することができる可溶性ポリペプチド、例えばsgp130Fcを発現するように遺伝子改変される。好ましい局面によると、IL1、IL18、またはIL-6受容体ファミリーのサイトカイン受容体と会合し、好ましくは干渉することができる前記可溶性ポリペプチドをコードするこの配列は、内在性プロモーターの制御下に、好ましくは、T細胞活性化に対して応答性の1つの遺伝子座、例えば、表6、8、または9から選択される1つ、より特別にはPD1、CD25、またはCD69遺伝子座に組み込まれる。ベクターのポリヌクレオチド配列、外来性コード配列および/または内在性遺伝子座に相同の配列を含むドナー鋳型、結果として生じた操作された細胞に属する配列、ならびに、該操作された細胞の検出を可能にするものはすべて、本開示の一部である。

30

【0036】

本発明の通りのNK阻害物質をコードする外来性配列を組み込む遺伝子編集工程は、操作された免疫細胞の効力または安全性を増強することに寄与する任意の他の工程と組み合わせることができる。非限定的な例として、遺伝子配列は、標的指向組込みによって、生物学的な「論理ゲート」(「アンド」または「オア」または「ノット」またはこれらの任意の組み合わせ) の構成要素の発現のために導入することができる。電子的論理ゲートと同様に、異なる遺伝子座で発現したそのような細胞構成要素は、例として、免疫細胞の活性化の状態を規定する負および正のシグナルを交換することができる。そのような構成要素は、非限定的な例として、T細胞活性化を制御するために用いられ得る正および負のキメラ抗原受容体、ならびにそれらが発現している操作されたT細胞の結果として生じた細胞傷害性を包含する。

40

【0037】

50

好ましい態様によると、本発明は、ssDNA（非限定的な例としてオリゴヌクレオチド）、dsDNA（非限定的な例としてプラスミドDNA）、およびより詳細には非限定的な例としてアデノ随伴ウイルス（AAV）をトランスフェクトすることによって、配列特異的エンドヌクレアーゼ試薬、ならびに/または関心対象の遺伝子および標的遺伝子に相同な配列を含有するドナー鑄型を導入することに依拠する。

【0038】

本発明はまた、ベクター、ドナー鑄型、試薬、新たなNK阻害物質を特定するためのスクリーニング法、および上記の方法に属する結果として生じた操作された細胞、ならびに治療におけるそれらの使用にも関する。

[本発明1001]

10

細胞免疫療法用の操作された初代免疫細胞を調製するための方法であって、
T細胞を含む細胞の集団を提供する工程；
該T細胞のある割合中に、

(i) 少なくとも1種類のNK細胞阻害物質をコードするように、選択された内在性遺伝子座に組み込まれる外来性ポリヌクレオチド配列を含む、少なくとも1種類の核酸；

(ii) 該選択された内在性遺伝子座を特異的に標的とする、少なくとも1種類の配列特異的試薬

を導入する工程

を含み、該外来性ポリヌクレオチド配列が、該内在性遺伝子座中への標的指向遺伝子組込みによって挿入される、前記方法。

20

[本発明1002]

前記配列特異的試薬がヌクレアーゼである、本発明1001の方法。

[本発明1003]

前記標的指向遺伝子組込みが、前記免疫細胞中への相同組換えまたはNHEJによって作動される、本発明1001または1002の方法。

[本発明1004]

前記外来性ポリヌクレオチド配列が、前記遺伝子座に存在する内在性プロモーターの転写制御下に組み込まれる、本発明1001～1003のいずれかの方法。

[本発明1005]

前記内在性遺伝子座が、MHC I構成要素、例えば 2mを発現する遺伝子座である、本発明1004の方法。

30

[本発明1006]

前記外来性配列の前記挿入が、前記内在性遺伝子座での 2m発現を不活性化する、本発明1005の方法。

[本発明1007]

前記内在性プロモーターが、免疫細胞活性化の間に活性を有しているように選択される、本発明1001～1004のいずれかの方法。

[本発明1008]

前記内在性遺伝子座の前記内在性プロモーターが、T細胞活性化に対して応答性であり、例えば表6から選択される1つである、本発明1001～1007のいずれかの方法。

40

[本発明1009]

前記T細胞がキメラ抗原受容体（CAR）を与えられている、本発明1001～1008のいずれかの方法。

[本発明1010]

前記キメラ抗原受容体（CAR）をコードする外来性配列が、TCR遺伝子座に組み込まれる、本発明1009の方法。

[本発明1011]

前記キメラ抗原受容体（CAR）をコードする前記外来性配列が、内在性TCR配列の発現を阻止する、本発明1010の方法。

[本発明1012]

50

前記内在性遺伝子座での前記内在性プロモーターの活性が、前記キメラ抗原受容体(CAR)を通じた前記T細胞の活性化に対して応答性である、本発明1009~1011のいずれかの方法。

[本発明1013]

前記特異的エンドヌクレアーゼ試薬が、RNAもしくはDNAガイドエンドヌクレアーゼ、例えばCas9もしくはCpf1、RNAもしくはDNAガイド、TALエンドヌクレアーゼ、Znフィンガーヌクレアーゼ、ホーミングエンドヌクレアーゼ、またはそれらの任意の組み合わせから選択される、本発明1001~1012のいずれかの方法。

[本発明1014]

NK阻害物質をコードする前記外来性配列が、非多型性クラスI分子、例えば、HLA-GもしくはHLA-E、またはその重鎖エピトープを含むその断片をコードする配列を好ましくは含む、本発明1001~1013のいずれかの方法。

10

[本発明1015]

前記外来性配列が、2m内在性遺伝子座に組み込まれた場合に、その断片のHLA-EまたはHLA-Gと2m断片との融合物の発現を結果としてもたらず、本発明1005~1014のいずれかの方法。

[本発明1016]

その断片のHLA-EまたはHLA-Gと2m断片との前記融合物が、HLA-EまたはHLA-Gの二量体または三量体の発現を結果としてもたらず、本発明1015の方法。

[本発明1017]

NK阻害物質をコードする前記外来性配列が、ウイルスエバシンまたはそのエピトープを含む断片、例えばUL16(ULBP1とも呼ばれる Uniprot参照番号Q9BZM6)由来のものをコードする配列を好ましくは含む、本発明1001~1013のいずれかの方法。

20

[本発明1018]

前記T細胞が、初代細胞、好ましくはヒト初代T細胞である、本発明1001~1017のいずれかの方法。

[本発明1019]

本発明1001~1018のいずれかの方法によって取得可能である、操作されたT細胞。

[本発明1020]

内在性遺伝子プロモーターの転写制御下に組み込まれている、NK阻害物質をコードする外来性配列を含む、操作されたT細胞。

30

[本発明1021]

前記内在性遺伝子プロモーターが、表6に列挙される1つの遺伝子座で選択される、本発明1019または1020のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1022]

NK阻害物質をコードする前記外来性配列が、2m遺伝子座に組み込まれている、本発明1019~1021のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1023]

前記T細胞がキメラ抗原受容体を与えられている、本発明1019~1022のいずれかの操作されたT細胞。

40

[本発明1024]

遺伝子型[TCR]_{陰性}[2m]_{陰性}を有する、本発明1023の操作されたT細胞。

[本発明1025]

前記CARをコードする外来性配列が、TCR遺伝子座に組み込まれている、本発明1023または1024の操作されたT細胞。

[本発明1026]

前記T細胞が初代細胞である、本発明1019~1025のいずれかの操作されたT細胞。

[本発明1027]

がんまたは感染症の処置についてのその使用のための、本発明1019~1026のいずれかの操作されたT細胞。

50

[本発明1028]

少なくとも30%、好ましくは50%、より好ましくは80%の、本発明1019~1027のいずれかの操作されたT細胞を含む、治療上有効な免疫細胞の集団。

[本発明1029]

少なくとも30%、好ましくは50%、より好ましくは80%の細胞が、ドナー、好ましくは1人の単一ドナーを起源とする、本発明1028の治療上有効な免疫細胞の集団。

[本発明1030]

50%超の前記免疫細胞が、TCR陰性T細胞である、本発明1029の初代免疫細胞の集団。

[本発明1031]

50%超の前記免疫細胞が、CAR陽性細胞である、本発明1028~1030のいずれかの初代免疫細胞の集団。

[本発明1032]

本発明1028~1031のいずれかの操作された免疫細胞集団を含む、薬学的組成物。

[本発明1033]

以下の工程を含む、その必要がある患者を処置するための方法：

本発明1028~1032のいずれかの操作された初代免疫細胞の集団を調製する工程；

任意で、該操作された初代免疫細胞を精製または選別する工程；

該操作された初代免疫細胞の集団を、該細胞の該患者中への注入時または注入後に活性化する工程。

[本発明1034]

前記患者が、がんについて処置される、本発明1033の方法。

[本発明1035]

前記患者が、感染症について処置される、本発明1033の方法。

[本発明1036]

少なくとも以下の工程を含む、T細胞において発現可能なNK阻害物質をコードする適切な配列を特定するための方法：

TCRおよび2mの発現が両方とも抑えられているおよび/または不活性化されているT細胞を提供する工程；

推定のNK阻害物質をコードする候補配列を、該T細胞における内在性プロモーターの制御下の内在性遺伝子座に組み込む工程；

結果として生じた操作されたT細胞を、NK細胞の存在下で培養する工程。

[本発明1037]

少なくとも以下の工程を含む、T細胞において発現可能なNK阻害物質をコードする適切な配列を特定するための方法：

TCR発現が抑えられているかまたは不活性化されているT細胞を提供する工程；

推定のNK阻害物質をコードする候補配列を2m遺伝子座に組み込むことによって、該T細胞において2m発現を不活性化する工程であって、該推定のNK阻害物質の発現が、該2m遺伝子座の内在性プロモーターの転写制御下に置かれる、工程；

結果として生じた操作されたT細胞を、NK細胞の存在下で培養する工程。

[本発明1038]

前記T細胞にキメラ抗原受容体を与える工程をさらに含む、本発明1036または1037の方法。

[本発明1039]

前記結果として生じた操作されたT細胞の生存を、前記候補配列を発現しない同じものと比較する工程；

任意で、NK細胞に対してより耐性である操作された細胞を選択する工程をさらに含む、本発明1036~1038のいずれかの方法。

【図面の簡単な説明】

【0039】

10

20

30

40

50

【図1】外来性配列を、特定の免疫細胞タイプにおいて特異的に活性化される内在性プロモーターの転写調節下の特異的な遺伝子座に導入することによって、造血幹細胞（HSC）を操作するための戦略。図は、本発明の通りの所望の造血系列における発現のために、外来性コード配列をその遺伝子座に挿入することができる、特異的な内在性遺伝子の例を列挙する。目標は、患者中に移植されるエクスピボで操作されたHSCを、それらが所望の系列に分化しながら、選択された導入遺伝子を発現するであろう免疫細胞をインピボで産生するために作製することである。

【図2】IL-15外来性コード配列をCD25およびPD1遺伝子座に、ならびにまた抗CD22 CAR外来性コード配列をTRAC遺伝子座に挿入するために、実験項において用いられたドナー配列の模式的表示。A：免疫細胞によるCD25ポリペプチドおよびIL-15ポリペプチドの同時転写を得るための、CD25遺伝子座でのIL-15の部位特異的挿入用に設計されたドナー鑄型（IL-15m-CD25と称される）。配列は、実施例に詳述する。B：PD1内在性遺伝子のプロモーターの転写活性下でIL-15の転写を得るための、PD1遺伝子座でのIL-15の部位特異的挿入用に設計されたドナー鑄型（IL-15m-PD1と称される）。PD1の右および左の境界配列は、PD1内在性コード配列をインタクトにまたは破壊された状態に保つよう選択することができる。この後者の場合、PD1はロックアウトされ、他方で、IL-15はロックインされて転写される。C：TCR遺伝子座（例えば、TRAC）中へのキメラ抗原受容体（例えば、抗CD22 CAR）の部位特異的挿入用に設計されたドナー鑄型。概して、左および右の境界は、患者への同種異系移植に適している[TCR]^{陰性}[CAR]^{陽性}の操作された免疫細胞を得るために、TCRを破壊するよう選択される。

【図3A】抗CD22 CARもまたTRAC TALEN（登録商標）を用いてTRAC遺伝子座に組み込まれる状況における、それぞれPD1またはCD25 TALEN（登録商標）を用いることによるPD1またはCD25遺伝子座のいずれかでのIL-15mの標的指向組込みの頻度のフローサイトメトリー測定。これらの結果により、共にTRAC遺伝子座でのCAR抗CD22、およびPD1またはCD25遺伝子座でのIL-15コード配列の両方の効率的な標的指向組込みが示される。A：モックトランスフェクトした初代T細胞。B：TCRおよびPD1遺伝子座での二重組込みのために、図1（BおよびC）に記載されるドナー配列ならびに特異的TALEN（登録商標）をトランスフェクトした初代T細胞。C：TCRおよびCD25遺伝子座での二重組込みのために、図1（AおよびC）に記載されるドナー配列ならびに特異的TALEN（登録商標）をトランスフェクトした初代T細胞。

【図3B】図3Aの説明を参照のこと。

【図3C】図3Aの説明を参照のこと。

【図4】図5および6に示される結果を得るために、初代免疫細胞にトランスフェクトする実験項において用いられた外来性配列の模式的表示。

【図5-1】抗CD3/CD28非特異的活性化（Dynabeads（登録商標））時およびCAR依存性腫瘍細胞活性化（raji腫瘍細胞）時の、図4のドナー鑄型および特異的TALEN（登録商標）（TCRおよびCD25）をトランスフェクトした生存可能T細胞の間でのLNGFR発現についてのフローサイトメトリー測定。図6に示されるように、LNGFR発現は、CAR/腫瘍係合時に[CAR抗CD22]^{陽性}細胞において特異的に誘導された。

【図5-2】図5-1の説明を参照のこと。

【図5-3】図5-1の説明を参照のこと。

【図6-1】抗CD3/CD28非特異的活性化（Dynabeads（登録商標））時およびCAR依存性腫瘍細胞活性化（raji腫瘍細胞）時の、図4のドナー鑄型および特異的TALEN（登録商標）（TCRおよびCD25）をトランスフェクトした生存可能T細胞の間でのLNGFR発現についてのフローサイトメトリー測定。図6に示されるように、LNGFR発現は、CAR/腫瘍係合時に[CAR抗CD22]^{陽性}細胞において特異的に誘導された。

【図6-2】図6-1の説明を参照のこと。

【図6-3】図6-1の説明を参照のこと。

【図7-1】抗CD3/CD28非特異的活性化（Dynabeads（登録商標））および腫瘍細胞活性化（raji腫瘍細胞）時の、図4のドナー鑄型および特異的TALEN（登録商標）（T

10

20

30

40

50

CRおよびCD25)をトランスフェクトした生存可能T細胞の間でのCD25発現についてのフローサイトメトリー測定。図8に示されるように、CD25発現は、CAR/腫瘍係合時に[CAR抗CD22]^{陽性}細胞において特異的に誘導された。

【図7-2】図7-1の説明を参照のこと。

【図7-3】図7-1の説明を参照のこと。

【図8-1】抗CD3/CD28非特異的活性化(Dynabeads(登録商標))および腫瘍細胞活性化(raji腫瘍細胞)時の、図4のドナー鑄型および特異的TALEN(登録商標)(TCRおよびCD25)をトランスフェクトした生存可能T細胞の間でのCD25発現についてのフローサイトメトリー測定。図8に示されるように、CD25発現は、CAR/腫瘍係合時に[CAR抗CD22]^{陽性}細胞において特異的に誘導された。

10

【図8-2】図8-1の説明を参照のこと。

【図8-3】図8-1の説明を参照のこと。

【図9】図11および12に示される結果を得るために、初代免疫細胞にトランスフェクトする実験項において用いられた外来性配列の模式的表示。

【図10-1】抗CD3/CD28非特異的活性化(Dynabeads(登録商標))および腫瘍細胞活性化(raji腫瘍細胞)時の、図9のドナー鑄型および特異的TALEN(登録商標)(TCRおよびPD1)をトランスフェクトした生存可能T細胞の間でのLNGFR発現についてのフローサイトメトリー測定。図11に示されるように、LNGFR発現は、CAR/腫瘍係合時に[CAR抗CD22]^{陽性}細胞において特異的に誘導された。

20

【図10-2】図10-1の説明を参照のこと。

【図10-3】図10-1の説明を参照のこと。

【図11-1】抗CD3/CD28非特異的活性化(Dynabeads(登録商標))および腫瘍細胞活性化(raji腫瘍細胞)時の、図9のドナー鑄型および特異的TALEN(登録商標)(TCRおよびPD1)をトランスフェクトした生存可能T細胞の間でのLNGFR発現についてのフローサイトメトリー測定。図11に示されるように、LNGFR発現は、CAR/腫瘍係合時に[CAR抗CD22]^{陽性}細胞において特異的に誘導された。

【図11-2】図11-1の説明を参照のこと。

【図11-3】図11-1の説明を参照のこと。

【図12-1】TALEN(登録商標)(TCRおよびPD1)の使用を伴う、および伴わない、抗CD3/CD28非特異的活性化(Dynabeads(登録商標))および腫瘍細胞活性化(raji腫瘍細胞)時の、図9のドナー鑄型をトランスフェクトした生存可能T細胞の間での内在性PD1発現についてのフローサイトメトリー測定。PD1は、TALEN処理によって効率的にノックアウトされた(54%のうち8%はPD1の発現を残している)。

30

【図12-2】図12-1の説明を参照のこと。

【図12-3】図12-1の説明を参照のこと。

【図13】IL-15外来性コード配列のPD1遺伝子座中への挿入のために、図2(B)に記載されるドナー鑄型およびTALEN(登録商標)をトランスフェクトした本発明による[CAR]^{陽性}(CAR^m)および[CAR]^{陰性}の操作された免疫細胞におけるIL-15産生を示す図。その転写が内在性PD1プロモーターの制御下であったIL15は、抗CD3/CD28非特異的活性化(Dynabeads(登録商標))および腫瘍細胞活性化(raji腫瘍細胞)時に効率的に誘導され、培養培地に分泌された。

40

【図14】本発明に従って操作された免疫細胞による、活性化後に経時的(日)に分泌されたIL-15の量を示すグラフ。A:図2A(IL-15_m_CD25)および/または2C(CAR^m)に記載されるDNAドナー鑄型を用いた、CD25遺伝子座でのIL-15コード配列の組込みによって操作された細胞。B:図2B(IL-15_m_PD1)および/または2C(CAR^m)に記載されるDNAドナー鑄型を用いた、PD1遺伝子座でのIL-15コード配列の組込みによって操作された細胞。両方の遺伝子座での組込みは、類似したIL-15分泌プロファイルを示す。IL-15の分泌は、CARの腫瘍特異的活性化によって有意に増加する。

【図15】実施例2に記載されるような生存アッセイ(連続死滅アッセイ)における経時的な、CD22抗原を発現するRaji-Luc腫瘍細胞の数(ルシフェラーゼシグナル)を報告

50

するグラフ。免疫細胞（PBMC）を、PD1遺伝子座（A）またはCD25遺伝子座（B）にIL-15コード配列を組み込むように、かつTCR遺伝子座で抗CD22-CARを発現する（それによってTCR発現を破壊する）ように操作している。このアッセイにおいては、腫瘍細胞を定期的に培養培地に添加するが、CAR陽性細胞によって部分的にまたは全体的に排除される。PD1またはCD25の細胞のいずれかでのIL-15の再発現は、CAR陽性細胞による腫瘍細胞の排除を劇的に助ける。

【図16】PD1遺伝子座にIL-12およびgp130Fcをコードする外来性配列を挿入するための、実験項において用いられるドナー配列の模式的表示。A：IL-12aおよびIL-12bの同時転写を得て、他方でPD1内在性コード配列を破壊するための、PD1遺伝子座でのIL-12aおよびIL-12bコード配列（SEQ ID NO:47および48）の部位特異的挿入用に設計されたドナー鋳型（IL-12m-PD1と称される）。PD1遺伝子座配列に相同な右および左の境界配列は、少なくとも100 pb長、好ましくは少なくとも200 pb長、およびより好ましくは少なくとも300 pb長であり、SEQ ID NO:45および46を含んでいる。配列は、表5に詳述する。B：PD1遺伝子座でPD1プロモーター下での転写を得て、他方でPD1内在性コード配列を破壊するための、gp130Fcコード配列（SEQ ID NO:51）の部位特異的挿入用に設計されたドナー鋳型（gp130Fc-m-PD1と称される）。PD1遺伝子座配列に相同な右および左の境界配列は、少なくとも100 pb長、好ましくは少なくとも200 pb長、およびより好ましくは少なくとも300 pb長であり、SEQ ID NO:45および46を含んでいる。配列は、表5に詳述する。

【図17】MHC-I陰性T細胞は、NK細胞攻撃の標的とされ得る。[2m]陰性T細胞を、示されたE:T比でCD2/NKp46活性化NK細胞の存在下または非存在下で培養した。データは、試験したすべてのE:T比で、MHC I陰性T細胞の50%よりも多い枯渇を実証する。

【図18】NK細胞および同種異系T細胞の両方の細胞溶解活性に対して耐性の操作されたCAR T細胞生成物を得るために、本発明の方法の通りに採用される戦略を示す図。

【図19】それぞれTRAC遺伝子座および2m遺伝子座でのCARおよびNK阻害物質の二重標的指向組込みのための標的指向組込み構築物の模式図。（実施例3を参照されたい。）

【図20】本発明のCAR陽性T細胞において2m遺伝子座に組み込まれる外来性配列によってコードされ得る、HLA-E三量体の一般構造。

【図21-1】実施例3において示される実験の通りに得られた、TRAC/B2M欠損T細胞におけるCAR構築物およびNK阻害物質構築物の二重標的指向組込み。TALENおよび標的指向組込み構築物で処理された操作されたCAR T細胞のフローサイトメトリー解析。NK阻害物質発現が、TRAC/B2M欠損CAR+ T細胞内で記録される。

【図21-2】図21-1の説明を参照のこと。

【図21-3】図21-1の説明を参照のこと。

【発明を実施するための形態】

【0040】

（表1）多様なウイルス由来のISUドメインバリエーション。

（表2）天然起源および人工起源由来のFPポリペプチドのアミノ酸配列。

（表3）本発明による外来性コード配列を挿入することによって有利に改変または不活性化することができる、免疫細胞阻害経路に關与する遺伝子のリスト。

（表4）実施例1において言及される配列。

（表5）実施例2および3において言及される配列。

（表6）免疫細胞の治療的可能性を改善するために、遺伝子標的指向挿入が本発明に従って探求される、T細胞活性化時に上方制御されるヒト遺伝子（CAR活性化感受性プロモーター）のリスト。

（表7）免疫細胞活性化の間に絶え間なく転写される（T細胞活性化に依存的または非依存的である）遺伝子の選択。

（表8）T細胞活性化時に一過性に上方制御される遺伝子の選択。

（表9）T細胞活性化時に24時間超にわたって上方制御される遺伝子の選択。

10

20

30

40

50

(表10) 免疫細胞活性化時に下方制御される遺伝子の選択。

(表11) T細胞活性化時に無変化である遺伝子(安全港遺伝子標的指向組込み遺伝子座)の選択。

(表12) 本発明の通りの外来性コード配列の遺伝子組込みに有用な、(複数の腫瘍から集計された)腫瘍消耗浸潤リンパ球において上方制御される遺伝子座のリスト。

(表13) 本発明の通りの外来性コード配列の遺伝子組込みに有用な、低酸素腫瘍状態において上方制御される遺伝子座のリスト。

【0041】

発明の詳細な説明

本明細書において具体的に定義されない限り、本明細書において用いられるすべての技術用語および科学用語は、遺伝子治療、生化学、遺伝学、および分子生物学の分野における当業者によって一般的に理解されるものと同じ意味を有する。

【0042】

本明細書に記載されるものと同様または等価のすべての方法および材料を、本発明の実施または試験において用いることができるが、適している方法および材料を、本明細書に記載している。本明細書において言及されるすべての刊行物、特許出願、特許、および他の参照文献は、それらの全体が参照により組み入れられる。矛盾する場合は、本明細書が、定義を含めて勝ることになる。さらに、材料、方法、および実施例は、他に特定されない限り、例証となるだけであり、限定するようには意図されない。

【0043】

本発明の実施は、他に示されない限り、当技術分野の技能内である、細胞生物学、細胞培養、分子生物学、遺伝子導入生物学、微生物学、組換えDNA、および免疫学の従来技法を使用することになる。そのような技法は、文献において十分に説明されている。例えば、Current Protocols in Molecular Biology (Frederick M. AUSUBEL, 2000, Wiley and son Inc, Library of Congress, USA); Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Third Edition, (Sambrook et al, 2001, Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait ed., 1984); Mullis et al. 米国特許第4,683,195号; Nucleic Acid Hybridization (B. D. Harries & S. J. Higgins eds. 1984); Transcription And Translation (B. D. Hames & S. J. Higgins eds. 1984); Culture Of Animal Cells (R. I. Freshney, Alan R. Liss, Inc., 1987); Immobilized Cells And Enzymes (IRL Press, 1986); B. Perbal, A Practical Guide To Molecular Cloning (1984); Methods In ENZYMOLOGY (J. Abelson and M. Simon, eds.-in-chief, Academic Press, Inc., New York)のシリーズ、具体的には、154および155巻(Wu et al. eds.)ならびに185巻「Gene Expression Technology」(D. Goeddel, ed.); Gene Transfer Vectors For Mammalian Cells (J. H. Miller and M. P. Calos eds., 1987, Cold Spring Harbor Laboratory); Immunochemical Methods In Cell And Molecular Biology (Mayer and Walker, eds., Academic Press, London, 1987); Handbook Of Experimental Immunology, Volumes I-IV (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds., 1986); および Manipulating the Mouse Embryo, (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y., 1986)を参照されたい。

【0044】

本発明は、免疫細胞の染色体DNA中への外来性コード配列の遺伝子標的指向組込みを含む、細胞免疫療法用の初代免疫細胞を調製する概括的な方法に注目する。いくつかの局面によると、この組込みは、前記コード配列が、前記細胞にとって内在性の少なくとも1つのプロモーターの転写制御下に置かれ、該内在性プロモーターが、好ましくは、T細胞受容体 定常 (TRAC - NCBI Gene ID #28755) を転写するものなどの構成的プロモーターではないようなやり方で行われる。本発明の通りの構成的プロモーターは、例として、CAR活性化から独立して、例えば、T細胞がまだ活性化されていない時に、活性を有

10

20

30

40

50

するプロモーターである。

【0045】

遺伝子標的指向組込みによる免疫細胞の治療的可能性の改善

ポリヌクレオチド配列特異的試薬、例えば低頻度切断エンドヌクレアーゼを用いた遺伝子編集技法は、初代細胞中への遺伝子改変の導入についての最先端技術になってきている。しかし、それらは、これまでのところ免疫細胞において、外来性コード配列を内在性プロモーターの転写制御下に導入するためには用いられていない。

【0046】

本発明は、遺伝子編集技法を通して、特に遺伝子標的指向組換えによって、免疫細胞の治療的可能性を改善することを目標にする。

10

【0047】

「遺伝子標的指向組込み」とは、ゲノム配列を生細胞中に挿入するか、置き換えるか、または修正することを可能にする、任意の公知の部位特異的方法を意味する。本発明の好ましい局面によると、前記遺伝子標的指向組込みは、少なくとも1個の外来性ヌクレオチド、好ましくは数個のヌクレオチドの配列（すなわち、ポリヌクレオチド）、およびより好ましくはコード配列の挿入または置き換えを結果としてもたらず、標的とされる遺伝子の遺伝子座での相同遺伝子組換えを含む。

【0048】

「配列特異的試薬」とは、ゲノム遺伝子座の改変を考慮して、長さが好ましくは少なくとも9 bpの、より好ましくは少なくとも10 bpの、およびさらにより好ましくは少なくとも12 pbの、該ゲノム遺伝子座での選択されたポリヌクレオチド配列を特異的に認識する能力を有する任意の活性分子を意味する。本発明の好ましい局面によると、前記配列特異的試薬は、好ましくは配列特異的ヌクレアーゼ試薬である。

20

【0049】

「免疫細胞」とは、典型的にはCD3陽性細胞またはCD4陽性細胞などの、自然免疫応答および/または適応免疫応答の開始および/または実行に機能的に関与する造血起源の細胞を意味する。本発明による免疫細胞は、樹状細胞、キラー樹状細胞、肥満細胞、NK細胞、B細胞、または、炎症性Tリンパ球、細胞傷害性Tリンパ球、調節性Tリンパ球、もしくはヘルパーTリンパ球からなる群より選択されるT細胞であることができる。細胞は、末梢血単核細胞、骨髄、リンパ節組織、臍帯血、胸腺組織、感染部位由来の組織、腹水、胸水、脾臓組織を含む、多数の非限定的な供給源から、および、腫瘍、例えば腫瘍浸潤リンパ球から得ることができる。いくつかの態様において、前記免疫細胞は、健常ドナー、がんと診断された患者、または感染症と診断された患者に由来することができる。別の態様において、前記細胞は、例えば、CD4、CD8、およびCD56陽性細胞を含む、様々な表現型特性を提示する、免疫細胞の混合型集団の一部である。

30

【0050】

「初代細胞」とは、生きている組織（例えば、生検材料）から直接採取され、限定された期間にわたるインビトロでの成長について確立された細胞を意図し、これは、それらが限定された数の集団倍加を経験できることを意味する。初代細胞は、持続的な腫瘍形成性細胞株または人工的に不死化された細胞株とは反対である。そのような細胞株の非限定的な例は、CHO-K1細胞；HEK293細胞；Caco2細胞；U2-OS細胞；NIH 3T3細胞；NSO細胞；SP2細胞；CHO-S細胞；DG44細胞；K-562細胞、U-937細胞；MRC5細胞；IMR90細胞；Jurkat細胞；HepG2細胞；HeLa細胞；HT-1080細胞；HCT-116細胞；Hu-h7細胞；Huvec細胞；Molt 4細胞である。初代細胞は、より機能的であり、かつ腫瘍形成性がより低いと考えられるため、細胞療法において概して用いられる。

40

【0051】

概して、初代免疫細胞は、例としてSchwartz J. et al. (Guidelines on the use of therapeutic apheresis in clinical practice-evidence-based approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: the sixth special issue (2013) J Clin Apher. 28(3):145-284)によって概説される

50

白血球搬出技法によるような、当技術分野において公知の様々な方法を通して、ドナーまたは患者から提供される。

【0052】

本発明による初代免疫細胞はまた、幹細胞、例えば、臍帯血幹細胞、前駆細胞、骨髄幹細胞、造血幹細胞（HSC）、および人工多能性幹細胞（iPS）から分化させることもできる。

【0053】

「ヌクレアーゼ試薬」とは、それ自体でまたはガイドRNA/Cas9などの複合体のサブユニットとして、標的細胞におけるヌクレアーゼ触媒反応、好ましくはエンドヌクレアーゼ反応に寄与し、好ましくは核酸配列標的の切断をもたらす核酸分子を意味する。

10

【0054】

本発明のヌクレアーゼ試薬は、概して「配列特異的試薬」であり、これは、それらが、その延長上で「標的指向遺伝子」と呼ばれる、あらかじめ決められた遺伝子座で細胞においてDNA切断を誘導できることを意味する。配列特異的試薬によって認識される核酸配列は、「標的配列」と呼ばれる。前記標的配列は、<http://www.ensembl.org/index.html>などのヒトゲノムデータベースから利用可能であるソフトウェアおよびデータを用いて判定できるように、通常、細胞のゲノムにおいて、およびより広範にはヒトゲノムにおいて、まれまたは唯一であるように選択される。

【0055】

「低頻度切断エンドヌクレアーゼ」とは、それらの認識配列が、概して10~50の連続塩基対、好ましくは12~30 bp、およびより好ましくは14~20 bpの範囲である限り、好みの配列特異的エンドヌクレアーゼ試薬である。

20

【0056】

本発明の好ましい局面によると、前記エンドヌクレアーゼ試薬は、「操作された」または「プログラム可能な」低頻度切断エンドヌクレアーゼ、例えば、例としてArnould S., et al. (WO2004067736)によって記載されているようなホーミングエンドヌクレアーゼ、例としてUrnov F., et al. (Highly efficient endogenous human gene correction using designed zinc-finger nucleases (2005) Nature 435:646-651)によって記載されているようなZnフィンガーヌクレアーゼ（ZFN）、例としてMusolino et al. (A novel TALE nuclease scaffold enables high genome editing activity in combination with low toxicity (2011) Nucl. Acids Res. 39(21):9283-9293)によって記載されているようなTALEヌクレアーゼ、または、例としてBoissel et al. (MegaTALs: a rare-cleaving nuclease architecture for therapeutic genome engineering (2013) Nucleic Acids Research 42 (4):2591-2601)によって記載されているようなMegaTALヌクレアーゼをコードする核酸である。

30

【0057】

別の態様によると、エンドヌクレアーゼ試薬は、とりわけ、参照により本明細書に組み入れられるDoudna, J., and Charpentier, E., (The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9 (2014) Science 346 (6213):1077)による教示の通りに、Cas9またはCpf1などのRNAガイドエンドヌクレアーゼと組み合わせて用いられるRNAガイドである。

40

【0058】

本発明の好ましい局面によると、エンドヌクレアーゼ試薬は、細胞中に一過性に発現し、これは、該試薬が、RNA、より詳細にはmRNA、タンパク質、またはタンパク質および核酸を混合する複合体（例えば、リボ核タンパク質）の場合のように、ゲノム中に組み込まれるかまたは長い期間にわたって残存するとは想定されないことを意味する。

【0059】

概して、エンドヌクレアーゼ試薬の80%は、トランスフェクション後30時間までに、好ましくは24時間までに、より好ましくは20時間までに分解される。

【0060】

50

mRNA形態下のエンドヌクレアーゼは、好ましくは、例としてKore A.L., et al. (Locked nucleic acid (LNA)-modified dinucleotide mRNA cap analogue: synthesis, enzymatic incorporation, and utilization (2009) J Am Chem Soc. 131(18):6364-5)によって記載されているような、当技術分野において周知の技法に従って、その安定性を増強するようにキャップを伴って合成される。

【0061】

概して、免疫細胞にトランスフェクトするために用いられるエレクトロポレーション工程は、典型的に、参照により組み入れられるWO/2004/083379、特に23ページ25行目~29ページ11行目に記載されているような、平行な平板電極を含み、該平行な平板電極の間に、処理体積を通して実質的に均一の、100ボルト/cmよりも大きく5,000ボルト/cmよりも小さいパルス電場を生じる、閉鎖チャンパーにおいて行われる。1つのそのようなエレクトロポレーションチャンパーは、好ましくは、電極間隙の二乗(cm^2)をチャンパー体積(cm^3)で割った商によって定義される幾何学的因子(cm^{-1})を有し、ここで、幾何学的因子は、 0.1 cm^{-1} 以下であり、細胞の懸濁液および配列特異的試薬は、 $0.01 \sim 1.0$ ミリジーメンスにわたる範囲の導電率を有するように調整されている媒質中にある。概して、細胞の懸濁液は、1回または複数回のパルス電場を受ける。方法では、懸濁液の処理体積は拡大縮小でき、チャンパーにおける細胞の処理の時間は実質的に均一である。

10

【0062】

TALEヌクレアーゼは、それらのより高い特異性のために、例としてMussolino et al. (TALEN(登録商標)facilitate targeted genome editing in human cells with high specificity and low cytotoxicity (2014) Nucl. Acids Res. 42(10):6762-6773)によって報告されているように、特にヘテロ二量体形態下で、すなわち、「右」単量体(「5'」または「順方向」とも呼ばれる)および「左」単量体(「3'」または「逆方向」とも呼ばれる)での対によって働く、治療応用に特に適切な配列特異的ヌクレアーゼ試薬であることが判明している。

20

【0063】

以前に述べられたように、配列特異的試薬は、好ましくは、核酸の形態下、例えば、低頻度切断エンドヌクレアーゼ、そのサブユニットをコードするDNAまたはRNAの形態下であるが、それらはまた、ポリヌクレオチドおよびポリペプチドを含むコンジュゲート、例えばいわゆる「リボ核タンパク質」の一部であることもできる。そのようなコンジュゲートは、それぞれのヌクレアーゼと複合体形成されることができRNAまたはDNAガイドを含む、Zetsche, B. et al. (Cpf1 Is a Single RNA-Guided Endonuclease of a Class 2 CRISPR-Cas System (2015) Cell 163(3): 759-771)およびGao F. et al. (DNA-guided genome editing using the Natronobacterium gregoryi Argonaute (2016) Nature Biotech)によって最近それぞれ記載されているような、Cas9もしくはCpf1 (RNAガイドエンドヌクレアーゼ)またはArgonaute (DNAガイドエンドヌクレアーゼ)としての試薬で形成させることができる。

30

【0064】

「外来性配列」とは、選択された遺伝子座に最初に存在しなかった任意のヌクレオチドまたは核酸配列を指す。この配列は、ゲノム配列に相同もしくはその複製であってもよく、または、細胞中に導入される異種配列であってもよい。反対に、「内在性配列」とは、遺伝子座に最初に存在する細胞ゲノム配列を意味する。外来性配列は、好ましくは、その発現が、この外来性配列を遺伝子座に組み込んでいない姉妹細胞を上回る治療的利点を付与するポリペプチドをコードする。本発明の方法の通りのヌクレオチドまたはポリヌクレオチドの挿入によって遺伝子編集される内在性配列は、異なるポリペプチドを発現するために、広く外来性コード配列と呼ばれる。

40

【0065】

本発明の方法は、ウイルス形質導入またはナノ粒子を用いたトランスフェクションなどの、物理的、遺伝的形質転換を含む他の方法と関連することができ、また他の遺伝子不活

50

性化および/または導入遺伝子挿入と組み合わせられてもよい。

【0066】

1つの局面によると、本発明による方法は、

初代免疫細胞の集団を提供する工程；

該初代免疫細胞のある割合中に、

(i) 該免疫細胞集団の治療的可能性を改善する少なくとも1種類の分子をコードするように、選択された内在性遺伝子座に組み込まれる外来性のヌクレオチドまたはポリヌクレオチド配列を含む、少なくとも1種類の核酸；

(ii) 該選択された内在性遺伝子座を特異的に標的とする、少なくとも1種類の配列特異的試薬

を導入する工程

を含み、該外来性のヌクレオチドまたはポリヌクレオチド配列は、該内在性遺伝子座中への標的指向遺伝子組込みによって、該遺伝子座に存在する内在性プロモーターの転写制御下に外来性コード配列を形成するように挿入される。

【0067】

本方法の1つの局面によると、配列特異的試薬はヌクレアーゼであり、標的指向遺伝子組込みは、前記免疫細胞中への相同組換えまたはNHEJによって作動される。

【0068】

本発明のさらなる局面によると、前記内在性プロモーターは、免疫細胞活性化の間に活性を有し、好ましくは上方制御されるように選択される。より具体的には、本発明は、細胞免疫療法用の操作された初代免疫細胞を調製するための方法に注目し、該方法は、

初代免疫細胞の集団を提供する工程；

該初代免疫細胞のある割合中に、

(i) 該免疫細胞集団の治療的可能性を改善する少なくとも1種類の分子をコードする外来性コード配列を含む、少なくとも1種類の外来性核酸；

(ii) 免疫細胞活性化の間に活性を有している内在性プロモーターの制御下である遺伝子座を特異的に標的とする、少なくとも1種類の配列特異的ヌクレアーゼ試薬

を導入する工程

を含み、該コード配列は、該遺伝子の少なくとも1種類の内在性プロモーターの転写制御下に置かれるように、標的指向相同組換えによって初代免疫細胞ゲノム中に導入される。

【0069】

「治療的可能性を改善する」とは、操作された免疫細胞が、それらの姉妹の操作されていない免疫細胞と比較して、細胞療法におけるそれらの使用のために少なくとも1つの有利な特性を獲得することを意味する。本発明によって探求される治療特性は、関連性のある科学文献において言及されるような任意の測定可能なものであってもよい。

【0070】

改善された治療的可能性は、より詳細には、薬物に対する免疫細胞の耐性、インビトロもしくはインビボでのそれらの残存性の増加、または、治療用組成物の製造および処置の間のより安全な/より便利な取扱いによって反映され得る。

【0071】

概して、治療的可能性を改善する前記分子は、ポリペプチドであるが、他の遺伝子の発現を指示するまたは抑えることができる核酸、例えば、干渉RNAまたはガイドRNAであることもできる。ポリペプチドは、シグナル伝達物質または転写調節物質のように、直接的または間接的に作用してもよい。

【0072】

本方法の1つの態様によると、外来性配列は、標的指向相同組換えによって内在性染色体DNA中に導入される。従って、免疫細胞中に導入される外来性核酸は、生理的条件下で内在性染色体配列にハイブリダイズすることができる配列と共に、少なくとも1種類のコード配列を含む。概して、そのような相同配列は、挿入遺伝子座に位置する内在性遺伝子配列と少なくとも70%、好ましくは80%、およびより好ましくは90%の配列同一性

10

20

30

40

50

を示す。これらの相同配列は、例としてUS 6,528,313において既に教示されているように、組換えの精度を改善するためにコード配列に隣接していてもよい。利用可能なソフトウェアおよびオンラインゲノムデータベースを用いて、前記コード配列を含むベクターを、前記配列が、内在性遺伝子のプロモーターである少なくとも1種類の内在性プロモーターの転写制御下に、高精度の遺伝子座に導入されるようなやり方で、設計することが可能である。外来性コード配列は次いで、好ましくは、前記内在性遺伝子と「インフレームで」挿入される。外来性ポリヌクレオチド配列の組込みから結果として生じた配列は、融合タンパク質、タグ付加タンパク質、または変異タンパク質を含む、多くの異なるタイプのタンパク質をコードすることができる。融合タンパク質は、細胞において発現するタンパク質に対して新たな機能的ドメイン、例えば、カスパーゼ-9スイッチなどの、該タンパク質の活性をスイッチオンまたはスイッチオフするために用いられ得る二量体化ドメインを付加することを可能にする。タグ付加タンパク質は、操作された免疫細胞の検出、および該細胞で処置された患者の追跡について有利であり得る。以下にさらに記載するように、タンパク質中への変異の導入は、薬物または免疫枯渇作用物質に対する耐性を付与することができる。

10

【0073】

薬物または免疫枯渇作用物質に対する耐性の付与

本発明の1つの局面によると、免疫細胞ゲノム遺伝子座中に組み込まれる外来性配列は、薬物に対する該免疫細胞の耐性を付与する分子をコードする。

【0074】

好ましい外来性配列の例は、メトトレキサートなどの葉酸類似体に対する耐性を付与するジヒドロ葉酸レダクターゼ (DHFR) のバリエーション、ミコフェノール酸 (MPA) またはそのプロドラッグであるミコフェノール酸モフェチル (MMF) などのIMPDH阻害物質に対する耐性を付与するイノシン酸デヒドロゲナーゼ2 (IMPDH2) のバリエーション、FK506およびノまたはCsAなどのカルシニューリン阻害物質に対する耐性を付与するカルシニューリンまたはメチルグアニントランスフェラーゼ (MGMT) のバリエーション、ラパマイシンに対する耐性を付与するmTORMutなどのmTORのバリエーション、ならびに、イマチニブおよびGleevecに対する耐性を付与するLckmutなどのLckのバリエーションである。

20

【0075】

「薬物」という用語は、がん細胞と相互作用し、それによって細胞の増殖状況または生存状況を低減させるために概して用いられる化合物またはその誘導体、好ましくは標準的な化学療法剤を指すとして、本明細書において用いられる。化学療法剤の例には、アルキル化剤 (例えば、シクロホスファミド、イフォサミド (ifosamide))、代謝拮抗物質 (例えば、クロファラビン、フルダラビン、もしくは2'-デオキシアデノシンなどのプリンヌクレオチド抗代謝薬、メトトレキサート (MTX)、5-フルオロウラシルまたはその誘導体)、抗腫瘍抗生物質 (例えば、マイトマイシン、アドリアマイシン)、植物由来抗腫瘍剤 (例えば、ビンクリスチン、ビンデシン、Taxol)、シスプラチン、カルボプラチン、エトポシドなどが含まれるが、それらに限定されない。そのような作用物質には、さらに、抗がん剤であるTRIMETHOTRIZATE (商標) (TMTX)、TEMOZOLOMIDE (商標)、RALTRITREXED (商標)、S-(4-ニトロベンジル)-6-チオイノシン (NBMPR)、6-ベンジルグアニン (6-BG)、ビス-クロロニトロソ尿素 (BCNU)、および CAMPTOTHECIN (商標)、またはそれらのいずれかの治療用誘導体が含まれてもよいが、それらに限定されない。

30

40

【0076】

本明細書において用いられる場合、免疫細胞は、該細胞、または細胞の集団が、少なくともインビトロで、該薬物の最大半量阻害濃度 (IC50) を含有する培養培地において増殖することができるように改変された時、薬物に対して「耐性または寛容性」にされる (該IC50は、改変されていない細胞または細胞の集団に関して決定される)。

【0077】

50

特定の態様において、前記薬物耐性は、少なくとも1種類の「薬物耐性コード配列」の発現によって免疫細胞に付与することができる。前記薬物耐性コード配列とは、上記で言及された化学療法剤のうちの1つなどの作用物質に対する「耐性」を付与する核酸配列を指す。本発明の薬物耐性コード配列は、抗代謝薬、メトトレキサート、ピンブラスチン、シスプラチン、アルキル化剤、アントラサイクリン、細胞傷害性抗生物質、抗イムノフィリン、それらの類似体または誘導体などに対する耐性をコードすることができる (Takebe, N., S. C. Zhao, et al. (2001) "Generation of dual resistance to 4-hydroperoxycyclophosphamide and methotrexate by retroviral transfer of the human aldehyde dehydrogenase class 1 gene and a mutated dihydrofolate reductase gene". *Mol. Ther.* 3(1): 88-96)、(Zielske, S. P., J. S. Reese, et al. (2003) "In vivo selection of MGMT(P140K) lentivirus-transduced human NOD/SCID repopulating cells without pretransplant irradiation conditioning." *J. Clin. Invest.* 112(10): 1561-70)、(Nivens, M. C., T. Felder, et al. (2004) "Engineered resistance to camptothecin and antifolates by retroviral coexpression of tyrosyl DNA phosphodiesterase-I and thymidylate synthase" *Cancer Chemother Pharmacol* 53(2): 107-15)、(Bardenheuer, W., K. Lehmborg, et al. (2005). "Resistance to cytarabine and gemcitabine and in vitro selection of transduced cells after retroviral expression of cytidine deaminase in human hematopoietic progenitor cells". *Leukemia* 19(12): 2281-8)、(Kushman, M. E., S. L. Kable, et al. (2007) "Expression of human glutathione S-transferase P1 confers resistance to benzo[a]pyrene or benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol mutagenesis, macromolecular alkylation and formation of stable N2-Gua-BP DE adducts in stably transfected V79MZ cells co-expressing hCYP1A1" *Carcinogenesis* 28(1): 207-14)。

10

20

30

40

50

【0078】

本発明の通りの免疫細胞におけるそのような薬物耐性外来性配列の発現は、より詳細には、細胞療法が化学療法と併用される場合の、またはこれらの薬物で以前に処置された患者中への細胞療法処置スキームにおける、該免疫細胞の使用を可能にする。

【0079】

本発明による薬物耐性を付与するために潜在的に用いられ得る数種類の薬物耐性コード配列が、特定されている。薬物耐性コード配列の1つの例は、例として、ジヒドロ葉酸レダクターゼ (DHFR) の変異体または改変型であることができる。DHFRは、細胞におけるテトラヒドロ葉酸塩の量を調節することに関与する酵素であり、DNA合成に不可欠である。メトトレキサート (MTX) などの葉酸類似体は、DHFRを阻害し、従って、診療所において抗新生物剤として用いられる。治療において用いられる抗葉酸薬による阻害に対して耐性を増加させたDHFRの様々な変異型が、記載されている。特定の態様において、本発明による薬物耐性コード配列は、メトトレキサートなどの抗葉酸処置に対する耐性を付与する少なくとも1個の変異を含む、ヒト野生型DHFR (GenBank: AAH71996.1) の変異体型をコードする核酸配列であることができる。特定の態様において、DHFRの変異体型は、位置G15、L22、F31、またはF34、好ましくは位置L22またはF31に少なくとも1個の変異アミノ酸を含む (Schweitzer et al. (1990) "Dihydrofolate reductase as a therapeutic target" *Faseb J* 4(8): 2441-52; 国際出願WO94/24277; および米国特許第6,642,043号)。特定の態様において、前記DHFR変異体型は、位置L22およびF31に2個の変異アミノ酸を含む。本明細書に記載されるアミノ酸位置の対応は、野生型DHFRポリペプチドの形態のアミノ酸の位置に関して頻繁に表現される。特定の態様において、位置15のセリン残基は、好ましくは、トリプトファン残基で置き換えられる。別の特定の態様において、位置22のロイシン残基は、好ましくは、抗葉酸薬に対する変異体DHFRの結合を破壊するであろうアミノ酸で、好ましくは、フェニルアラニンまたはチロシンなどの非荷電アミノ酸残基で置き換えられる。別の特定の態様

において、位置31または34のフェニルアラニン残基は、好ましくは、アラニン、セリン、またはグリシンなどの小さな親水性アミノ酸で置き換えられる。

【0080】

薬物耐性コード配列の別の例はまた、グアノシヌクレオチドの新生合成における律速酵素であるイノシン-5'-リン酸デヒドロゲナーゼII (IMPDH2) の変異体または改変型であることもできる。IMPDH2の変異体または改変型は、IMPDH阻害物質耐性遺伝子である。IMPDH阻害物質は、ミコフェノール酸 (MPA) またはそのプロドラッグであるミコフェノール酸モフェチル (MMF) であることができる。変異体IMPDH2は、野生型ヒトIMPDH2 (Genebank: NP_000875.2) のMAP結合部位において少なくとも1個、好ましくは2個の変異を含むことができ、これが、IMPDH阻害物質に対する有意に増加した耐性をもたらす。これらのバリエーションにおける変異は、好ましくは、位置T333および/またはS351である (Yam, P., M. Jensen, et al. (2006) "Ex vivo selection and expansion of cells based on expression of a mutated inosine monophosphate dehydrogenase 2 after HIV vector transduction: effects on lymphocytes, monocytes, and CD34+ stem cells" *Mol. Ther.* 14(2): 236-44) (Jonnalagadda, M., et al. (2013) "Engineering human T cells for resistance to methotrexate and mycophenolate mofetil as an in vivo cell selection strategy." *PLoS One* 8(6): e65519)。

【0081】

別の薬物耐性コード配列は、カルシニューリンの変異体型である。カルシニューリン (PP2B - NCBI: ACX34092.1) は、多くの生物学的プロセスに関与しており、かつT細胞活性化の中心となる、遍在性に発現するセリン/スレオニンタンパク質ホスファターゼである。カルシニューリンは、触媒サブユニット (CnA; 3種類のアイソフォーム) および調節サブユニット (CnB; 2種類のアイソフォーム) から構成されるヘテロ二量体である。T細胞受容体の係合の後、カルシニューリンは、転写因子NFATを脱リン酸化し、これが、核、およびIL2などの活性を有する鍵となる標的遺伝子に移行することを可能にする。FKBP12との複合体におけるFK506、またはCyPAとの複合体におけるシクロスポリンA (CsA) は、カルシニューリンの活性部位に対するNFATの接近を遮断して、その脱リン酸化を阻止し、それによってT細胞活性化を阻害する (Brewin et al. (2009) "Generation of EBV-specific cytotoxic T cells that are resistant to calcineurin inhibitors for the treatment of posttransplantation lymphoproliferative disease" *Blood* 114(23): 4792-803)。特定の態様において、前記変異体型は、位置: V314、Y341、M347、T351、W352、L354、K360に野生型カルシニューリンヘテロ二量体aの少なくとも1個の変異アミノ酸を、好ましくは、位置T351およびL354またはV314およびY341に二重変異を含むことができる。特定の態様において、位置341のバリン残基は、リジンまたはアルギニン残基で置き換えることができ、位置341のチロシン残基は、フェニルアラニン残基で置き換えることができ; 位置347のメチオニンは、グルタミン酸、アルギニン、またはトリプトファン残基で置き換えることができ; 位置351のスレオニンは、グルタミン酸残基で置き換えることができ; 位置352のトリプトファン残基は、システイン、グルタミン酸、またはアラニン残基で置き換えることができ、位置353のセリンは、ヒスチジンまたはアスパラギン残基で置き換えることができ、位置354のロイシンは、アラニン残基で置き換えることができ; 位置360のリジンは、アラニンまたはフェニルアラニン残基で置き換えることができる。別の特定の態様において、前記変異体型は、位置: V120、N123、L124、またはK125に野生型カルシニューリンヘテロ二量体bの少なくとも1個の変異アミノ酸を、好ましくは位置L124およびK125に二重変異を含むことができる。特定の態様において、位置120のバリンは、セリン、アスパラギン酸、フェニルアラニン、またはロイシン残基で置き換えることができ; 位置123のアスパラギンは、トリプトファン、リジン、フェニルアラニン、アルギニン、ヒスチジン、またはセリンで置き換えることができ; 位置124のロイシンは、スレオニン残基で置き換えることができ; 位置125のリジンは、アラニン、グ

ルタミン酸、トリプトファンで置き換えることができ、または、ロイシン-アルギニンもしくはイソロイシン-グルタミン酸などの2個の残基を、アミノ酸配列において位置125のリジンの後に付加することができる。本明細書に記載されるアミノ酸位置の対応は、野生型ヒトカルシニューリンヘテロ二量体bポリペプチド (NCBI: ACX34095.1) の形態のアミノ酸の位置に関して頻繁に表現される。

【0082】

別の薬物耐性コード配列は、ヒトアルキルグアニトランスフェラーゼ (hAGT) をコードするO(6)-メチルグアニンメチルトランスフェラーゼ (MGMT - UniProtKB: P16455) である。AGTは、ニトロソ尿素およびテモゾロミド (TMZ) などのアルキル化剤の細胞傷害作用に対する耐性を付与するDNA修復タンパク質である。6-ベンジルグアニン (6-BG) は、ニトロソ尿素毒性を高め、かつTMZの細胞傷害作用を高めるためにこの剤と同時投与される、AGTの阻害物質である。AGTのバリエーションをコードするMGMTの数種類の変異体は、6-BGによる不活性化に対して高度に耐性であるが、DNA損傷を修復するそれらの能力は保持している (Maze, R. et al. (1999) "Retroviral-mediated expression of the P140A, but not P140A/G156A, mutant form of O6-methylguanine DNA methyltransferase protects hematopoietic cells against O6-benzylguanine sensitization to chloroethylnitrosourea treatment" J. Pharmacol. Exp. Ther. 290(3): 1467-74)。特定の態様において、AGT変異体は、野生型AGT位置P140の変異アミノ酸を含むことができる。好ましい態様において、位置140の前記プロリンは、リジン残基で置き換えられる。

10

20

【0083】

別の薬物耐性コード配列は、多剤耐性タンパク質 (MDR1) 遺伝子であることができる。この遺伝子は、細胞膜を横切る代謝副産物の輸送に関与するP-糖タンパク質 (P-GP) として公知の膜糖タンパク質をコードする。P-Gpタンパク質は、数種類の構造的に無関連の化学療法剤に対して広い特異性を提示する。従って、MDR-1をコードする核酸配列 (Genebank NP_000918) の発現によって、薬剤耐性を細胞に付与することができる。

【0084】

bleまたはmcrA遺伝子由来のものなどの別の薬物耐性コード配列は、細胞傷害性抗生物質の産生に寄与することができる。免疫細胞におけるble遺伝子またはmcrAの異所性発現は、それぞれの化学療法剤ブレオマイシンおよびマイトマイシンCに曝露された時に選択的な利点をもたらす (Belcourt, M.F. (1999) "Mitomycin resistance in mammalian cells expressing the bacterial mitomycin C resistance protein MCRA". PNAS. 96(18):10489-94)。

30

【0085】

別の薬物耐性コード配列は、薬物標的の変異バージョンがコードされた遺伝子、例えば、Lorenz M.C. et al. (1995) "TOR Mutations Confer Rapamycin Resistance by Preventing Interaction with FKBP12-Rapamycin" The Journal of Biological Chemistry 270, 27531-27537によって記載されているようなラパマイシンに対する耐性を付与するmTORの変異バリエーション (mTOR mut)、または、Lee K.C. et al. (2010) "Lck is a key target of imatinib and dasatinib in T-cell activation", Leukemia, 24: 896-900によって記載されているようなGleevecに対する耐性を付与するLckのある特定の変異バリエーション (Lckmut) に由来することができる。

40

【0086】

上記のように、本方法の遺伝子改変工程は、内在性遺伝子と外来性核酸との間で相同組換えが起こるように、薬物耐性コード配列をコードする配列および内在性遺伝子の一部分を少なくとも含む外来性核酸の細胞中への導入の工程を含むことができる。特定の態様において、前記内在性遺伝子は、相同組換え後に、野生型遺伝子が、薬物に対する耐性を付与する遺伝子の変異体によって置き換えられるように、野生型「薬物耐性」遺伝子であ

50

ることができる。

【0087】

インビボでの免疫細胞の残存性の増強

本発明の1つの局面によると、免疫細胞ゲノム遺伝子座中に組み込まれる外来性配列は、免疫細胞の残存性、特に、腫瘍環境におけるインビボ残存性を増強する分子をコードする。

【0088】

「残存性を増強する」とは、特に操作された免疫細胞が患者中に注射された時点で、寿命に関して免疫細胞の生存を延長させることを意味する。例として、改変された細胞の平均生存が、改変されていない細胞のものよりも少なくとも10%、好ましくは20%、より好ましくは30%、さらにより好ましくは50%有意に長いならば、残存性は増強されている。

【0089】

これは、免疫細胞が同種異系である場合に特に関連する。これは、細胞膜でまたは細胞膜を通して免疫抑制性ポリペプチドを異所的に発現する、かつ/または分泌するコード配列を導入することにより局所的免疫防御を創り出すことによって、なされてもよい。そのようなポリペプチドの種々のパネル、特に、免疫チェックポイントのアンタゴニスト、ウイルスエンベローブに由来する免疫抑制性ペプチド、またはNKG2Dリガンドは、同種異系免疫細胞の患者中の残存性および/または移植を増強することができる。

【0090】

1つの態様によると、前記外来性コード配列によってコードされる免疫抑制性ポリペプチドは、細胞傷害性Tリンパ球抗原4 (CD152としても公知のCTLA-4、GenBankアクセッション番号AF414120.1) のリガンドである。前記リガンドポリペプチドは、好ましくは、抗CTLA-4免疫グロブリン、例えば、CTLA-4a IgおよびCTLA-4b Igまたはそれらの機能的バリエーションである。

【0091】

1つの態様によると、前記外来性コード配列によってコードされる免疫抑制性ポリペプチドは、PD1のアンタゴニスト、例えば、Ig V様ドメイン、Ig C様ドメイン、疎水性膜貫通ドメイン、および30アミノ酸の細胞質尾部からなる290アミノ酸のI型膜貫通タンパク質をコードするPD-L1 (他の名称: CD274、プログラム細胞死1リガンド; 参照、ヒトポリペプチド配列についてのUniProt Q9NZQ7) である。そのようなPD-L1リガンドの膜結合型は、ネイティブ型 (野生型)、または、例として、細胞内ドメインを除去することによるような短縮型、または1個もしくは複数個の変異を伴って、本発明において意味する (Wang S et al., 2003, J Exp Med. 2003; 197(9): 1083-1091)。注目すべきことに、PD1は、本発明によると、PD-L1リガンドの膜結合型であると解釈されない。別の態様によると、前記免疫抑制性ポリペプチドは、分泌型である。そのような組換え分泌型PD-L1 (または可溶性PD-L1) は、PD-L1の細胞外ドメインを免疫グロブリンのFc部分に融合させることによって生成されてもよい (Haile ST et al., 2014, Cancer Immunol. Res. 2(7): 610-615; Song MY et al., 2015, Gut. 64(2): 260-71)。この組換えPD-L1は、PD-1を中和し、PD-1媒介性T細胞阻害を抑制することができる。PD-L1リガンドは、両方のさらに増強された残存性のために、CTLA4 Igと同時発現させてもよい。

【0092】

別の態様によると、外来性配列は、例としてHIV-1、HIV-2、SIV、MoMuLV、HTLV-I、-II、MPMV、SRV-1、Syncytin 1もしくは2、HERV-K、またはFELVに由来する、ウイルスenv免疫抑制性ドメイン (ISU) を含むポリペプチドをコードする。

【0093】

以下の表1は、本発明内で発現させることができる多様なウイルス由来のISUドメインのバリエーションを示す。

【0094】

10

20

30

40

50

(表1) 多様なウイルス由来のISUドメインバリエーション

ISU アミノ酸配列														
アミノ酸位置													ウイルス起源	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	起源
L	Q	A	R	I/V	L	A	V	E	R	Y	L	K/R/Q	D	HIV-1
L	Q	A	R	V	T	A	I	E	K	Y	L	K/A/Q	D/H	HIV-2
L	Q	A	R	L	L	A	V	E	R	Y	L	K	D	SIV
L	Q	N	R	R	G	L	D	L	L	F	L	K	E	MoMuLV
A	Q	N	R	R	G	L	D	L	L	F	W	E	Q	HTLV-I, -II
L	Q	N	R	R	G	L	D	L	L	T	A	E	Q	MPMV, SRV-1
L	Q	N	R	R	A	L	D	L	L	T	A	E	R	Syncitin 1
L	Q	N	R	R	G	L	D	M	L	T	A	A	Q	Syncitin 2
L	A	N	Q	I	N	D	L	R	Q	T	V	I	W	HERV-K
L	Q	N	R	R	G	L	D	I	L	F	L	Q	E	FELV

10

【0095】

別の態様によると、外来性配列は、gp41などのFPポリペプチドをコードする。以下の表2は、天然起源および人工起源由来の数種類のFPポリペプチドを表す。

【0096】

20

(表2) 天然起源および人工起源由来のFPポリペプチドのアミノ酸配列

FP アミノ酸配列									
アミノ酸位置								起源	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	
G	A	L	F	L	G	F	L	G	HIV-1 gp41
A	G	F	G	L	L	L	G	F	合成
A	G	L	F	L	G	F	L	G	合成

【0097】

30

別の態様によると、外来性配列は、非ヒトMHCホモログ、特にウイルスMHCホモログ、または、Margalit A. et al. (2003) "Chimeric 2 microglobulin/CD3 p olypeptides expressed in T cells convert MHC class I peptide ligands in to T cell activation receptors: a potential tool for specific targeting of pathogenic CD8+ T cells" Int. Immunol. 15 (11): 1379-1387によって記載されているようなキメラ 2mポリペプチドをコードする。

【0098】

1つの態様によると、外来性配列は、NKG2Dリガンドをコードする。サイトメガロウイルスなどのいくつかのウイルスは、NKG2Dリガンドに結合してその表面発現を阻止することができるタンパク質を分泌することによって、NK細胞媒介性免疫監視を回避し、NKG2D経路を干渉するための機構を獲得している (Welte, S.A et al. (2003) "Selective intracellular retention of virally induced NKG2D ligands by the human cytomegalovirus UL16 glycoprotein". Eur. J. Immunol., 33, 194-203)。腫瘍細胞においては、ULBP2、MICB、またはMICAなどのNKG2Dリガンドを分泌することによってNKG2D応答を逃れる、いくつかの機構が進化している (Salih H R, Antropius H, Gieseke F, Lutz SZ, Kanz L, et al. (2003) Functional expression and release of ligands for the activating immunoreceptor NKG2D in leukemia. Blood 102: 1389-1396)。

40

【0099】

1つの態様によると、外来性配列は、サイトカイン受容体、例えばIL-12受容体をコー

50

ドする。IL-12は、免疫細胞活性化の周知のアクチベーターである (Curtis J.H. (2008) "IL-12 Produced by Dendritic Cells Augments CD8+ T Cell Activation through the Production of the Chemokines CCL1 and CCL171". The Journal of Immunology. 181 (12): 8576-8584)。

【0100】

1つの態様によると、外来性配列は、阻害性ペプチドまたはタンパク質に向けられた抗体をコードする。前記抗体は、好ましくは、免疫細胞によって可溶型で分泌される。サメおよびラクダ由来のナノボディは、一本鎖抗体として構成されているため、この点において有利である (Muyldermans S. (2013) "Nanobodies: Natural Single-Domain Antibodies" Annual Review of Biochemistry 82: 775-797)。同一物はまた、より容易に、分泌シグナルポリペプチドおよび可溶性親水性ドメインと融合すると考えられる。

10

【0101】

細胞の残存性を増強するために上記で開発された様々な局面は、外来性コード配列が、2mまたは別のMHC構成要素をコードする内在性遺伝子を破壊することによって導入される場合に、特に好ましい。

【0102】

より具体的な態様は、本明細書において詳述される、ならびに図17~21および実施例3においてより具体的に示される方法に基づく、本発明の操作されたT細胞の残存性を増強するためのNK細胞阻害物質の組み込みに関わる。

20

【0103】

特に、本発明は、細胞免疫療法用の操作された初代免疫細胞を調製するための方法であって、

T細胞、好ましくは初代T細胞を含む細胞の集団を提供する工程、

該T細胞のある割合中に、

(i) 少なくとも1種類のNK細胞阻害物質をコードするように、選択された内在性遺伝子座に組み込まれる外来性ポリヌクレオチド配列を含む、少なくとも1種類の核酸；

(ii) 該選択された内在性遺伝子座を特異的に標的とする、少なくとも1種類の配列特異的試薬

を導入する工程

30

を含み、該外来性ポリヌクレオチド配列が、該内在性遺伝子座中への標的指向遺伝子組み込みによって挿入される、前記方法をさらに提供する。

【0104】

NK細胞阻害物質とは、インビボでまたは免疫細胞の共培養において、NK細胞による枯渇に対して同種異系T細胞に保護効果を付与するポリペプチドを意味する。NK細胞阻害物質なしでのそのような枯渇は、例として、図17のグラフ上で観察される。

【0105】

NK細胞阻害物質の例は、本明細書において実施例3に提供される。

【0106】

好ましくは実施例3において言及される配列の1つを含む、NK細胞阻害物質をコードする外来性ポリヌクレオチド配列は、該NK細胞阻害物質のより不変の発現を得るために、好ましくは、前記遺伝子座に存在する内在性プロモーターの転写制御下に組み込まれる。

40

【0107】

本発明の好ましい局面によると、前記内在性プロモーターは、免疫細胞活性化の間に活性を有しているように選択され、例えば、T細胞活性化の間に活発に転写されると考えられ、少なくとも、キメラ抗原受容体(CAR)を与えられているT細胞の活性化に対して応答性と考えられている、表6に列挙される遺伝子座である。

【0108】

好ましい態様によると、NK阻害物質をコードする外来性配列は、Gzmb、Tbx21、Plek、Chk1、Slamf7、Zbtb32、Tigit、Lag3、Gzma、Wee1、IL12rb2、Eea1、

50

およびDtlから選択される1つなどの、T細胞活性化時に24時間よりも長くにわたって上方制御される内在性遺伝子座に組み込まれる。

【0109】

好ましい態様によると、NK阻害物質をコードする外来性配列は、TCR遺伝子座などの、構成的に発現している内在性遺伝子座に組み込まれる。

【0110】

本発明によると、NK阻害物質をコードする外来性配列を、構成的に転写される遺伝子座でもある、MHC I構成要素を発現する挿入の遺伝子座に、特に 2m遺伝子座に組み込むことが、有利であり得る。

【0111】

本発明によると、内在性の 2m内在性コード配列を、組み込まれたNK阻害物質をコードする外来性配列をこの遺伝子座で転写させながら不活性化することが、有利であり得る。

【0112】

本発明の好ましい局面によると、NK阻害物質をコードする前記外来性配列を含む操作されたT細胞は、本明細書の異なる部分に記載されているようなキメラ抗原受容体(CAR)を与えられている。前記キメラ抗原受容体(CAR)は、TCR遺伝子座に有利に組み込まれることができ、他方で、NK阻害物質をコードする外来性配列は、好ましくは 2m遺伝子座に組み込まれ、それによって、TCRおよび/または 2mの発現を両方とも阻止するかまたは低減させる。

【0113】

本方法において用いられる配列特異的試薬は、好ましくは、本明細書において前に記載された、または当業者に公知の低頻度エンドヌクレアーゼである。標的指向遺伝子組込みは、概して、前記免疫細胞中への相同組換えまたはNHEJによって作動される。前記特異的エンドヌクレアーゼ試薬は、好ましくは、RNAもしくはDNAガイドエンドヌクレアーゼ、例えばCas9もしくはCpf1、RNAもしくはDNAガイド、TALエンドヌクレアーゼ、Znフィンガーヌクレアーゼ、ホーミングエンドヌクレアーゼ、またはそれらの任意の組み合わせから選択される。

【0114】

実施例3に示される本発明の1つの好ましい態様において、TALEヌクレアーゼは、ヒトT細胞において部位切断を限定し切ることによって、 2m遺伝子座で遺伝子組込みを行うために最適化されており、かつ成功裡に用いられている。より良好な特異性および効率率が、予想外に、それぞれ右二量体および左二量体である、ポリペプチド配列SEQ ID NO.80および/もしくはSEQ ID NO.81またはSEQ ID NO.82および/もしくはSEQ ID NO.83のTALEヌクレアーゼヘテロ二量体を用いて得られた。本特許出願は、従って、単独のまたは対での、それらの特異的な 2m TALENをコードする上記のポリペプチド配列、または、以下のRVD配列：

- HD-HD-NN-NG-NN-NN-HD-HD-NG-NG-NI-NN-HD-NG-NN

- HD-HD-NI-NN-NN-HD-HD-NI-NN-NI-NI-NN-NI-NN

- NG-NI-NN-HD-NG-NN-NG-NN-HD-NG-HD-NN-HD-NN-HD

- NN-NN-NI-NG-NI-NN-HD-HD-NG-HD-HD-NI-NN-NN-HD

のうちの1つを含むTALリピートを含む任意のエンドヌクレアーゼ配列、ならびにこれらのポリペプチドをコードする任意のポリヌクレオチドおよびベクターに関する。

【0115】

さらに、以下の標的配列SEQ ID NO.78およびSEQ ID NO.79のうちの1つを含む 2mゲノム配列を特異的に認識するかまたは結合するエンドヌクレアーゼを用いることによって、T細胞のゲノム中への外来性配列の組込みを実施することが、本発明の目的である。

10

20

30

40

50

【0116】

標的配列SEQ ID NO.78およびSEQ ID NO.79を含む配列を特異的に認識するエンドヌクレアーゼを用いることによって、T細胞中の 2mゲノム配列を不活性化することもまた、本発明の目的である。

【0117】

本発明によると、NK阻害物質をコードする前記外来性配列は、好ましくは、非多型性クラスI分子、例えば、HLA-GもしくはHLA-E、またはこれらの分子由来の重鎖を含む少なくとも断片をコードする配列を含む。

【0118】

好ましい局面によると、前記外来性配列は、 2m内在性遺伝子座に組み込まれた場合に、その断片のHLA-EまたはHLA-Gと 2m断片との融合物の発現を結果としてもたらし、これは概して、例えば図20に示され、かつ実施例3において例証される、HLA-EまたはHLA-Gの二量体または三量体の発現を結果としてもたらし。

10

【0119】

好ましい態様によると、前記外来性配列は、SEQ ID NO.84~90から選択される1つと少なくとも80%のアミノ酸配列同一性を示すポリペプチドをコードする。

【0120】

NK阻害物質をコードする外来性配列はまた、そのエピトープを含む断片のウイルスエバシン、例えばUL16 (ULBP1とも呼ばれる Uniprot参照番号Q9BZM6) またはUL18由来のものをコードする配列を含むこともできる。

20

【0121】

好ましくは 2mで作動される、NK阻害物質をコードする外来性配列のT細胞ゲノム中への組み込みは、養子細胞免疫療法用のT細胞の効力および適性を改善することを考慮して、本明細書に記載される他の外来性配列挿入と組み合わせることができる。

【0122】

あるいは、NK阻害物質をコードする外来性配列はまた、PD1またはCTLA4など(本明細書における完全なリストを参照されたい)の免疫チェックポイントをコードする遺伝子座に、好ましくはこれらの遺伝子を不活性化する効果を伴って、有利に組み込むこともできる。

【0123】

DCK、HPRT、またはグルココルチコイド受容体(GR)遺伝子座などの、操作されたT細胞に追加的な治療的利点を付与するため、例えば、例としてがん療法において一般的に用いられる薬物に対する耐性を付与するために適切であり得る他の成功する遺伝子座の多くの例が、本出願中の他所で記載される。

30

【0124】

結果として、本明細書は、上記の方法によって取得可能な操作された初代免疫細胞を開示する。

【0125】

そのような免疫細胞は、以下の特徴を有し得る：

- 1) 内在性遺伝子プロモーターの転写制御下に組み込まれている、NK阻害物質をコードする外来性配列を含む、操作されたT細胞。
- 2) 前記内在性遺伝子プロモーターが、表6に列挙される1つの遺伝子座で選択される、項目1のいずれかに記載の操作されたT細胞。
- 3) NK阻害物質をコードする前記外来性配列が、 2m遺伝子座に組み込まれている、項目1または2のいずれか1つに記載の操作されたT細胞。
- 4) 前記T細胞がキメラ抗原受容体を与えられている、項目1~3のいずれか1つに記載の操作されたT細胞。
- 5) 遺伝子型[TCR]^{陰性}[2m]^{陰性}[CAR]^{陽性}を有する、項目4に記載の操作されたT細胞。
- 6) 前記CARをコードする外来性配列が、TCR遺伝子座に組み込まれている、項目4また

40

50

は5に記載の操作されたT細胞。

7) 前記T細胞が初代細胞である、項目1～6のいずれか1つに記載の操作されたT細胞。

8) がんまたは感染症の処置についてのその使用のための、項目1～7のいずれか1つに記載の操作されたT細胞。

9) 少なくとも30%、好ましくは50%、より好ましくは80%の、項目1～8のいずれか1つに記載の操作されたT細胞を含む、治療上有効な免疫細胞の集団。

【0126】

本発明による好ましい操作されたT細胞は、ポリヌクレオチド配列SEQ ID NO.68、SEQ ID NO.70、SEQ ID NO.72、SEQ ID NO.74、またはSEQ ID NO.76のうちの一つと少なくとも80%、より好ましくは90%、さらにより好ましくは95%の同一性を共有する、ポリヌクレオチド配列を含む（実施例3において開示されるような 2m 遺伝子座での三量体マトリックスの組み込み）。

10

【0127】

本出願において開示される他の遺伝子編集工程に関連した、本発明の操作されたT細胞の好ましい遺伝子型の例は、以下の通りである。

[CAR]^{陽性}[TCR]^{陰性}[2m]^{陰性}[PD1]^{陰性}

[CAR]^{陽性}[TCR]^{陰性}[2m]^{陰性}[DCK]^{陰性}

[CAR]^{陽性}[TCR]^{陰性}[2m]^{陰性}[CTLA4]^{陰性}

【0128】

本明細書はまた、特に以下のものである、本発明による操作された細胞を含む治療用組成物も提供する：

20

1) 少なくとも30%、好ましくは50%、より好ましくは80%の細胞が、ドナー、好ましくは1人の単一ドナーを起源とする、本発明の通りの治療上有効な免疫細胞の集団。

2) 50%超の前記免疫細胞が、TCR陰性T細胞である、上記による初代免疫細胞の集団。

3) 50%超の前記免疫細胞が、CAR陽性細胞である、上記のような初代免疫細胞の集団。

4) 上記のような操作された免疫細胞集団を含む、薬学的組成物。

5) 以下の工程を含む、その必要がある患者を処置するための方法：

以前に記載されたような操作された初代免疫細胞の集団を調製する工程；

任意で、該操作された初代免疫細胞を精製または選別する工程；

該操作された初代免疫細胞の集団を、該細胞の該患者中への注入時または注入後に活性化する工程。

30

6) 前記患者が、がんについて処置される、上記のような方法。

7) 前記患者が、感染症について処置される、上記のような方法。

【0129】

本発明は、以下に要約されるような、外来性配列のT細胞中への組み込みによって候補NK阻害物質をスクリーニングするための方法を、さらに提供する：

1) 少なくとも以下の工程を含む、T細胞において発現可能なNK阻害物質をコードする適切な配列を特定するための方法：

TCRおよび 2mの発現が両方とも抑えられているおよび/または不活性化されているT細胞を提供する工程；

40

推定のNK阻害物質をコードする候補配列を、該T細胞における内在性プロモーターの制御下の内在性遺伝子座に組み込む工程；

結果として生じた操作されたT細胞を、NK細胞の存在下で培養する工程。

2) 少なくとも以下の工程を含む、T細胞において発現可能なNK阻害物質をコードする適切な配列を特定するための方法：

TCR発現が抑えられているかまたは不活性化されているT細胞を提供する工程；

推定のNK阻害物質をコードする候補配列を 2m 遺伝子座に組み込むことによって、該T細胞において 2m 発現を不活性化する工程であって、該推定のNK阻害物質の発現が、該 2m 遺伝子座の内在性プロモーターの転写制御下に置かれる、工程；

結果として生じた操作されたT細胞を、NK細胞の存在下で培養する工程。

50

3) 前記T細胞にキメラ抗原受容体を与える工程

をさらに含む、上記のような方法。

4) 前記結果として生じた操作されたT細胞の生存を、前記候補配列を発現しない同じものと比較する工程；

任意で、NK細胞に対してより耐性である操作された細胞を選択する工程をさらに含む、上記のような方法。

【0130】

免疫細胞の治療活性の増強

本方法の1つの局面によると、免疫細胞ゲノム遺伝子座中に組み込まれる外来性配列は、免疫細胞の治療活性を増強する分子をコードする。

【0131】

「治療活性を増強する」とは、本発明に従って操作された免疫細胞、または細胞の集団が、選択されたタイプの標的細胞に対して、操作されていない細胞または細胞の集団よりも攻撃的になることを意味する。前記標的細胞は、概して、好ましくは共通の表面マーカーによって特徴づけられる、定義されたタイプの細胞または細胞の集団に属する。本明細書において、「治療的可能性」は、インビトロ実験を通して測定されるような治療活性を反映する。一般的にはDaudi細胞などの感受性がん細胞株を用いて、細胞溶解または成長低減の測定を行うことにより該細胞に対する免疫細胞の活性がより高いかまたは低いかを評価する。これはまた、免疫細胞の脱顆粒またはケモカインおよびサイトカインの産生のレベルを測定することによっても評価することができる。実験はまた、腫瘍細胞を注射されたマウスにおいて、結果として生じる腫瘍増大をモニタリングすることによって行うこともできる。活性の増強は、これらの実験において発生する細胞の数が、免疫細胞によって10%超、好ましくは20%超、より好ましくは30%超、さらにより好ましくは50%超低減する場合に、有意と考えられる。

【0132】

本発明の1つの局面によると、前記外来性配列は、ケモカインまたはサイトカイン、例えばIL-12をコードする。IL-12は、免疫細胞活性化を促進するとして文献において大々的に言及されているため、このサイトカインを発現することは特に有利である (Colomb o M.P. et al. (2002) "Interleukin-12 in anti-tumor immunity and immunotherapy" Cytokine Growth Factor Rev. 13(2):155-68)。

【0133】

本発明の好ましい局面によると、外来性コード配列は、免疫細胞の他の集団、例えばT調節性細胞に対して、該免疫細胞に対するそれらの阻害効果を緩和するように作用する分泌因子をコードするか、または促進する。

【0134】

本発明の1つの局面によると、前記外来性配列は、フォークヘッド/ウィングドヘリックス転写因子3 (FoxP3) のポリペプチド阻害物質であり、より好ましくは、FoxP3の細胞貫通ペプチド阻害物質、例えば、P60と呼ばれるものである、調節性T細胞活性の阻害物質をコードする (Casares N. et al. (2010) "A peptide inhibitor of FoxP3 impairs regulatory T cell activity and improves vaccine efficacy in mice." J Immunol 185(9):5150-9)。

【0135】

「調節性T細胞活性の阻害物質」とは、T細胞によって分泌され、T細胞がそれに対して調節性T細胞によって及ぼされる下方制御活性を逃避することを可能にする分子または該分子の前駆体を意味する。概して、そのような調節性T細胞活性の阻害物質は、該細胞においてFoxP3転写活性を低減させる効果を有する。

【0136】

本発明の1つの局面によると、前記外来性配列は、腫瘍関連マクロファージ (TAM) の分泌型阻害物質、例えばCCR2/CCL2中和作用物質をコードする。腫瘍関連マクロファージ (TAM) は、腫瘍微小環境の重要なモジュレーターである。臨床病理学研究によ

10

20

30

40

50

り、腫瘍におけるTAMの蓄積は、不良な臨床転帰と関連することが示唆されている。その証拠と一貫して、実験研究および動物研究により、TAMが、腫瘍の発生および進行を促進するのに好都合な微小環境を提供できるという見解が支持されている (Theerawut C. et al. (2014) "Tumor-Associated Macrophages as Major Players in the Tumor Microenvironment" *Cancers (Basel)* 6(3): 1670-1690)。単球走化性タンパク質1 (MCP1 - NCBI NP_002973.1) と呼ばれるケモカインリガンド2 (CCL2) は、マクロファージによって分泌されるCCケモカインファミリーに属し、単球、リンパ球、および好塩基球に対する化学誘引を生じる、小さなサイトカインである。CCR2 (C-Cケモカイン受容体2型 - NCBI NP_001116513.2) は、CCL2の受容体である。

10

【0137】

免疫細胞の特異性および安全性の増強

キメラ抗原受容体 (CAR) を発現させることは、腫瘍または感染細胞を処置するために、初代免疫細胞、例えばT細胞およびNK細胞の特異性を指示するまたは改善するための先端技術になってきている。これらの免疫細胞によって発現するCARは、病的細胞の表面の抗原マーカーを特異的に標的とし、これは、該免疫細胞がインビボでこれらの細胞を破壊することをさらに助ける (Sadelain M. et al. "The basic principles of chimeric antigen receptor design" (2013) *Cancer Discov.* 3(4):388-98)。CARは通常、特異的抗原への結合に応答して免疫細胞を刺激する活性化ドメインを含むように設計されるが (いわゆる正のCAR)、反対の効果をも有する阻害性ドメインを含んでもよい (いわゆる負のCAR) (Fedorov, V. D. (2014) "Novel Approaches to Enhance the Specificity and Safety of Engineered T Cells" *Cancer Journal* 20 (2):160-165)。標的細胞の表面に存在する種々の抗原に応じて細胞免疫特異性を微調整するために、正および負のCARを組み合わせるか、または同時発現させてもよい。

20

【0138】

CARをコードする遺伝子配列は、概して、上昇した形質導入効率を有するがランダムな位置に組み込まれるレトロウイルスベクターを用いて、細胞ゲノム中に導入される。ここで、本発明によると、キメラ抗原受容体 (CAR) の構成要素は、標的指向遺伝子組換えによって、選択された遺伝子座に、より詳細には内在性プロモーターの制御下に導入することができる。

30

【0139】

1つの局面によると、正のCARをウイルスベクターによって免疫細胞中に導入する一方で、負のCARを、標的指向遺伝子挿入によって導入することができ、および逆もできて、負のCARは、好ましくは、免疫細胞活性化の間だけ活性を有することができる。従って、阻害性 (すなわち負の) CARは、保存される必要がある所与の細胞タイプを免疫細胞が攻撃するのを阻止することによって、改善された特異性に寄与する。また本局面によると、前記負のCARは、アポトーシスCARであることができ、これは、該CARが、細胞死を誘導するシグナルを伝達するアポトーシスドメイン、例えばFasL (CD95 - NCBI: NP_000034.1) またはその機能的バリエーションを含むことを意味する (Eberstadt M; et al. "NMR structure and mutagenesis of the FADD (Mort1) death-effect or domain" (1998) *Nature.* 392 (6679): 941-5)。

40

【0140】

従って、本発明に従って挿入される外来性コード配列は、直接、または他の化合物と組み合わせ、または他の化合物を活性化することによって細胞死を誘導する能力を有する因子をコードすることができる。

【0141】

初代免疫細胞の安全性を増強する別のやり方として、外来性コード配列は、薬物または他の外来性物質に対する免疫細胞の感受性を付与する分子をコードすることができる。そのような分子は、シクロホスファミドおよび/またはイソホスファミドなどの薬物に対す

50

る免疫細胞の高感受性を付与する、例えばP450ファミリー由来のシトクロム (Preissner S et al. (2010) "SuperCYP: a comprehensive database on Cytochrome P450 enzymes including a tool for analysis of CYP-drug interactions". *Nucleic Acids Res* 38 (Database issue): D237-43)、例えば、CYP2D6-1 (NCBI - NP_000097.3)、CYP2D6-2 (NCBI - NP_001020332.2)、CYP2C9 ()、CYP3A4 (NCBI - NP_000762.2)、CYP2C19 (NCBI - NP_000760.1)、またはCYP1A2 (NCBI - NP_000752.2.)であることができる。

【0142】

本発明のさらなる局面によると、外来性配列は、特にインビボで、潜在的なサイトカイン放出症候群 (CRS) の制御を考慮してIL-6またはIL-8のトランスシグナル伝達を低減させるため、その発現のために操作された免疫細胞に導入される。 10

【0143】

そのような外来性配列は、例として、IL-6もしくはIL-8に向けられた、またはそれらの受容体であるIL-6RもしくはIL-8Rに向けられた抗体をコードすることができる [Shannon, L. et al. (2014) *Managing Cytokine Release Syndrome Associated With Novel T Cell-Engaging Therapies*. *Cancer J*. 20(2): 119-122]。

【0144】

より具体的には、サイトカイン放出症候群 (CRS) は、CRSの1つの構成要素であるマクロファージ活性化症候群を干渉することによって、和らげることができる [Lee, D.W. et al. (2014) *Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome*. *Blood*. 124:188-195]。この目標を達成するために、本発明は、IL1もしくはIL18活性化経路のアンタゴニスト、例えば、IL1RA (Uniprot番号P18510) もしくはIL18BP (Uniprot番号O95998) またはその活性断片もしくはバリエーションをコードする外来性配列を組み込むことを含む。 20

【0145】

「IL1およびIL18活性化経路のアンタゴニスト」とは、IL1またはIL18のより高い発現を干渉することができる任意のポリペプチドを意味する。従って、本発明は、IL1RAまたはIL18BPをコードする外来性配列が、選択された遺伝子座、特にPD1、CD25、またはCD69に、より好ましくは、任意でTCRおよび/またはPD1遺伝子座に組み込まれたCARの発現と組み合わせる、治療用細胞を生成するための方法を提供する。 30

【0146】

好ましい外来性配列は、薬品担当機関 (drug agency) によって承認されているアンタゴニストまたは抗体、例えば以下の名称および参照文献の下で市販されているものをコードする：

アナキンラ (CAS登録番号: 143090-92-0) (商品名Kineret) は、インターロイキン1受容体アンタゴニスト (IL1-RA) の組換えバージョンである。アナキンラは、そのアミノ末端での単一メチオニン残基の付加によってネイティブヒトIL-1Raと異なるように、IL1RAのバリエーション型である。アナキンラは、天然に存在するIL-1の生物活性を遮断する [Kalliolias, GD. et al. (2008) *The future of the IL-1 receptor antagonist anakinra: from rheumatoid arthritis to adult-onset Still's disease and systemic-onset juvenile idiopathic arthritis*. *Expert Opin Invest Drugs*. 17(3):349-59]。 40

リロナセプト (CAS登録番号: 501081-76-1) は、IL-1 Trap (商品名ArcalystでRegeneron Pharmaceuticalsによって市販されている) としても公知であり、同様にインターロイキン1阻害物質である。これは、ヒトIgG1の断片結晶化部分 (Fc領域) に直列に連結された、ヒトインターロイキン-1受容体構成要素 (IL-1R1) およびIL-1受容体アクセサリタンパク質 (IL-1RAcP) の細胞外部分のリガンド結合ドメインからなる二量体融合タンパク質であり、IL-1に結合して中和する [McDermott, M.F., (2009) *Rilonacept in the treatment of chronic inflammatory disorders*. D 50

rugs of Today. 45(6):423-430]。

カナキヌマブ (商品名Ilaris、CAS登録番号: 914613-48-2) は、インターロイキン-1 を標的としたヒトモノクローナル抗体である。これは、インターロイキン-1 を含む、インターロイキン-1ファミリーの他のメンバーとの交差反応性を有さない [Rondeau J.M. et al. (2015) The molecular mode of action and species specificity of canakinumab, a human monoclonal antibody neutralizing IL-1 . MAbs. 7(6):1151-60]。

トシリズマブ (商品名Actemra、CAS登録番号: 375823-41-9) は、インターロイキン-6受容体 (IL-6R) に対するヒトモノクローナル抗体である [Venkiteshwaran, A. (2009) Tocilizumab. MAbs. 1(5): 432-438]。

シルツキシマブ (商品名Sylvant、CAS登録番号: 541502-14-1) は、抗IL-6キメラモノクローナル抗体またはcCLB8であり、インターロイキン-6に結合するキメラ (ヒトおよびマウスのタンパク質から作製された) モノクローナル抗体である [Rhee, F. et al. (2010) Siltuximab, a Novel Anti-Interleukin-6 Monoclonal Antibody for Castleman's Disease. Journal of Clinical Oncology 28 (23):3701-3708]。

【0147】

好ましい局面によると、前記外来性配列は、GP130の可溶性細胞外ドメイン、例えば、SEQ ID NO.61と少なくとも80%の同一性を示すものをコードすることができる。

【0148】

例としてRose-John S. [The Soluble Interleukine Receptor: Advanced Therapeutic Options in Inflammation (2017) Clinical Pharmacology & Therapeutics, 102(4):591-598]によって記載されている、そのようなGP130の可溶性細胞外ドメインを、免疫グロブリンの断片と融合させることができ、例えばsgp130Fc (SEQ ID NO.62) である。前に述べられたように、前記外来性配列を、部位特異的変異誘発によって (すなわち、配列特異的ヌクレアーゼ試薬を用いて) ゲノム中に安定に組み込み、表6、8、または9に列挙されているものなどの、免疫細胞活性化の間に活性を有し、好ましくは、CAR活性化時に上方制御されるまたはCAR依存的である遺伝子座で、内在性プロモーターの転写活性下に置くことができる。

【0149】

より好ましい態様によると、外来性配列は、CAR陽性免疫細胞中、例えば、SEQ ID NO:31などの抗CD22 CAR T細胞ポリヌクレオチド配列を発現する細胞中に導入される。いくつかのより具体的な態様によると、IL-6受容体ファミリーのサイトカイン受容体、例えば前記GP130の可溶性細胞外ドメインと会合し、好ましくは干渉することができるポリペプチドをコードする前記外来性配列が、PD1、CD25、またはCD69遺伝子座に組み込まれる。本発明の通りに、PD1遺伝子座をコードする内在性配列は、好ましくは、前記外来性配列によって破壊される。

【0150】

本発明は、従って、細胞免疫療法においてCRSを処置するまたは低減させるための方法であって、細胞またはその治療用組成物が患者に投与され、該細胞が、GP130の可溶性細胞外ドメイン、sGP130Fc、抗IL-6もしくは抗IL6R抗体、抗IL-8もしくは抗IL8R抗体、またはそれらの任意の融合物を含むポリペプチドを分泌するように遺伝子改変されている、前記方法を提供する。

【0151】

操作された免疫細胞の好ましい遺伝子型の例は、以下である。

- [CAR]陽性[GP130]陽性
- [CAR]陽性[GP130]陽性[TCR]陰性
- [CAR]陽性[TCR]陰性[GP130]陽性[PD1]陰性
- [CAR]陽性[TCR]陰性[GP130]陽性[2m]陰性
- [CAR]陽性[GP130]陽性[CD25]陰性

10

20

30

40

50

[CAR]陽性[TCR]陰性[GP130]陽性[CD25]陰性
 [CAR]陽性[sGP130]陽性
 [CAR]陽性[sGP130]陽性[TCR]陰性
 [CAR]陽性[TCR]陰性[sGP130]陽性[PD1]陰性
 [CAR]陽性[TCR]陰性[sGP130]陽性[2m]陰性
 [CAR]陽性[sGP130]陽性[CD25]陰性
 [CAR]陽性[TCR]陰性[IL1RA]陽性[CD25]陰性
 [CAR]陽性[IL1RA]陽性
 [CAR]陽性[IL1RA]陽性[TCR]陰性
 [CAR]陽性[TCR]陰性[IL1RA]陽性[PD1]陰性
 [CAR]陽性[TCR]陰性[IL1RA]陽性[2m]陰性
 [CAR]陽性[IL1RA]陽性[CD25]陰性
 [CAR]陽性[TCR]陰性[IL18BP]陽性[CD25]陰性
 [CAR]陽性[TCR]陰性[IL18BP]陽性[PD1]陰性
 [CAR]陽性[TCR]陰性[IL18BP]陽性[2m]陰性
 [CAR]陽性[IL18BP]陽性[CD25]陰性
 [CAR]陽性[TCR]陰性[IL18BP]陽性[CD25]陰性

10

【0152】

AAVベクターを用いた初代免疫細胞における遺伝子標的指向挿入の効率の改善

本明細書は、内在性プロモーター、特にPD1およびCD25とインフレイムでのコード配列の効率的な挿入を行うのに有用である、図に示されるようなドナー鋳型および配列特異的試薬、ならびに、該遺伝子座での該外来性配列の適正な挿入を検出するための手段および配列を提供する。

20

【0153】

本発明によるドナー鋳型は、概して、エンドヌクレアーゼ試薬が、活性化して、概してNHEJまたは相同組換えによるゲノム中へのそれらの部位特異的挿入を得る時にドナー鋳型を核中に送達するように促す、当技術分野において記載されている様々なベクター中に含まれ得るポリヌクレオチド配列である。

【0154】

具体的には、本発明は、以下の配列のうちの1種類または数種類を含む、PD1遺伝子座でのIL-15 (SEQ ID NO.59)の発現のための特異的ドナーポリヌクレオチドを提供する：

30

IL-15をコードする配列、例えば、SEQ ID NO:50と同一性を示すもの；

好ましくはポリヌクレオチド配列SEQ ID NO:45およびSEQ ID NO:46を含む、PD1遺伝子座に相同な上流および下流（左および右とも呼ばれる）の配列；

任意で、IL-15受容体の可溶型（sIL-15R）をコードする配列、例えば、SEQ ID NO:50と同一性を示すもの；

任意で、少なくとも1個の2Aペプチド切断部位、例えば、SEQ ID NO:53（F2A）、SEQ ID NO:54（P2A）、および/またはSEQ ID NO:55（T2A）のうちの1つ。

【0155】

40

具体的には、本発明は、以下の配列のうちの1種類または数種類を含む、PD1遺伝子座でのIL-12 (SEQ ID NO:58)の発現のための特異的ドナーポリヌクレオチドを提供する：

IL-12aをコードする配列、例えば、SEQ ID NO:47と同一性を示すもの；

好ましくはポリヌクレオチド配列SEQ ID NO:45およびSEQ ID NO:46を含む、PD1遺伝子座に相同な上流および下流（左および右とも呼ばれる）の配列；

任意で、IL12bをコードする配列、例えば、SEQ ID NO:48と同一性を示すもの；

任意で、少なくとも1個の2Aペプチド切断部位、例えば、SEQ ID NO:53（F2A）、SEQ ID NO:54（P2A）、および/またはSEQ ID NO:55（T2A）のうちの1つ。

【0156】

50

具体的には、本発明は、以下の配列のうちの1種類または数種類を含む、PD1遺伝子座での可溶性GP130 (SEQ ID NO.61を含む)の発現のための特異的ドナーポリヌクレオチドを提供する：

可溶性GP130、好ましくはFcに融合した可溶性gp130をコードする配列、例えば、SEQ ID NO:62と同一性を示すもの；

好ましくはポリヌクレオチド配列SEQ ID NO:45およびSEQ ID NO:46を含む、PD1遺伝子座に相同な上流および下流（左および右とも呼ばれる）の配列；

任意で、少なくとも1個の2Aペプチド切断部位、例えば、SEQ ID NO:53 (F2A)、SEQ ID NO:54 (P2A)、および/またはSEQ ID NO:55 (T2A)のうちの1つ。

【0157】

具体的には、本発明は、以下の配列のうちの1種類または数種類を含む、CD25遺伝子座でのIL-15 (SEQ ID NO.59)の発現のための特異的ドナーポリヌクレオチドを提供する：

IL-15をコードする配列、例えば、SEQ ID NO:50と同一性を示すもの；

好ましくはポリヌクレオチド配列SEQ ID NO:43およびSEQ ID NO:44を含む、CD25遺伝子座に相同な上流および下流（左および右とも呼ばれる）の配列；

任意で、IL-15受容体の可溶型 (sIL-15R) をコードする配列、例えば、SEQ ID NO:50と同一性を示すもの；

任意で、少なくとも1個の2Aペプチド切断部位、例えば、SEQ ID NO:53 (F2A)、SEQ ID NO:54 (P2A)、および/またはSEQ ID NO:55 (T2A)のうちの1つ。

【0158】

具体的には、本発明は、以下の配列のうちの1種類または数種類を含む、CD25遺伝子座でのIL-12 (SEQ ID NO:58)の発現のための特異的ドナーポリヌクレオチドを提供する：

IL-12aをコードする配列、例えば、SEQ ID NO:47と同一性を示すもの；

好ましくはポリヌクレオチド配列SEQ ID NO:43およびSEQ ID NO:44を含む、CD25遺伝子座に相同な上流および下流（左および右とも呼ばれる）の配列；

任意で、IL-12bをコードする配列、例えば、SEQ ID NO:48と同一性を示すもの；

任意で、少なくとも1個の2Aペプチド切断部位、例えば、SEQ ID NO:53 (F2A)、SEQ ID NO:54 (P2A)、および/またはSEQ ID NO:55 (T2A)のうちの1つ。

【0159】

具体的には、本発明は、以下の配列のうちの1種類または数種類を含む、CD25遺伝子座での可溶性GP130 (SEQ ID NO.61を含む)の発現のための特異的ドナーポリヌクレオチドを提供する：

可溶性GP130、好ましくはFcに融合した可溶性gp130をコードする配列、例えば、SEQ ID NO:62と同一性を示すもの；

好ましくはポリヌクレオチド配列SEQ ID NO:43およびSEQ ID NO:44を含む、CD25遺伝子座に相同な上流および下流（左および右とも呼ばれる）の配列；

任意で、少なくとも1個の2Aペプチド切断部位、例えば、SEQ ID NO:53 (F2A)、SEQ ID NO:54 (P2A)、および/またはSEQ ID NO:55 (T2A)のうちの1つ。

【0160】

本明細書における実施例に示されるように、本発明者らは、AAVベクター、特にAAV6ファミリー由来のベクターを用いることによって、ヒト細胞中への遺伝子標的指向挿入の比率を有意に改善した。

【0161】

本発明の1つの広い局面は、従って、ヒト初代免疫細胞における相同組換え事象を増加させるための、より好ましくはmRNA形態で導入される、TALEエンドヌクレアーゼなどの配列特異的エンドヌクレアーゼ試薬の発現と組み合わせた、これらの細胞におけるAAVベクターの形質導入である。

【0162】

10

20

30

40

50

本発明の1つの局面によると、配列特異的エンドヌクレアーゼ試薬は、TALEヌクレアーゼなどの該配列特異的エンドヌクレアーゼ試薬をコードするmRNAのトランスフェクション、より好ましくはエレクトロポレーションによって、細胞中に導入することができる。

【0163】

さらにこの広い局面によると、本発明は、より詳細には、少なくとも以下の工程を含む、細胞における内在性ポリヌクレオチド配列中への外来性核酸配列の挿入の方法を提供する：

該外来性核酸配列および標的とされる内在性DNA配列に相同な配列を含むAAVベクターを、該細胞中に形質導入する工程、ならびに

挿入の遺伝子座で該内在性配列を切断するために、配列特異的エンドヌクレアーゼ試薬の発現を導入する工程。

【0164】

得られた外来性核酸配列の挿入は、より好ましくはその遺伝子座の内在性遺伝子配列に関して「インフレーム」の、遺伝物質の導入、内在性配列の修正または置き換えを結果としてもたらし得る。

【0165】

本発明の別の局面によると、 $10^5 \sim 10^7$ 、好ましくは $10^6 \sim 10^7$ 、より好ましくは約 $5 \cdot 10^6$ のウイルスゲノムが、1細胞あたりに形質導入される。

【0166】

本発明の別の局面によると、相同組換えをさらに助けるために、細胞を、プロテアソーム阻害物質、例えばボルテゾミブで処理することができる。

【0167】

本発明の1つの目的として、本方法において用いられるAAVベクターは、本明細書において列挙されるものの中から選択される1つの遺伝子座で内在性プロモーターの制御下に置かれるように、本明細書において言及されるもののいずれかのようなプロモーターのない外来性コード配列を含むことができる。

【0168】

本発明の1つの目的として、本方法において用いられるAAVベクターは、2Aペプチド切断部位、およびその後の外来性コード配列を形成するcDNA（開始コドンがない）を含むことができる。

【0169】

本発明の1つの目的として、前記AAVベクターは、キメラ抗原受容体、特に、抗CD19 CAR、抗CD22 CAR、抗CD123 CAR、抗CS1 CAR、抗CCL1 CAR、抗HSP70 CAR、抗GD3 CAR、または抗ROR1 CARをコードする外来性配列を含む。

【0170】

本発明は、従って、本明細書に記載される方法を行うために設計された任意のAAVベクター、特に、表4において言及されるT細胞活性化に応答性の内在性遺伝子のいずれかに位置する挿入の遺伝子座に相同な配列を含むベクターを包含する。

【0171】

当技術分野において公知の多くの他のベクター、例えば、プラスミド、エピソーマルベクター、直鎖状DNAマトリックスなどもまた、本発明の教示に従って用いることができる。

【0172】

前に述べられたように、本発明に従って用いられるDNAベクターは、好ましくは、(1) 相同組換えによって挿入される外来性コード配列を含む前記外来性核酸、および(2) 該挿入を促進する配列特異的エンドヌクレアーゼ試薬をコードする配列を含む。より好ましい局面によると、(1) の前記外来性核酸は、いかなるプロモーター配列も含まず、他方、(2) の配列は、それ自身のプロモーターを有する。さらにより好ましい局面によると、(1) の核酸は、外来性コード配列が挿入される内在性遺伝子がマルチシストロニッ

10

20

30

40

50

クになるように、内部リボソーム進入部位 (IRES) または「自己切断」2Aペプチド、例えば、T2A、P2A、E2A、またはF2Aを含む。2AペプチドのIRESは、前記外来性コード配列の前または後にあり得る。

【0173】

本発明の好ましいベクターは、本明細書において以前に記載されたか、または実験項および図において示されるようなドナーポリヌクレオチドを含む、AAV6に由来するベクターである。本発明によるベクターの例は、配列SEQ ID NO:37 (IL-15をコードする配列のCD25遺伝子座中への組込みのためのマトリックス)、SEQ ID NO:38 (IL-15をコードする配列のPD1遺伝子座中への組込みのためのマトリックス)、SEQ ID NO:39 (IL-12をコードする配列のCD25遺伝子座中への組込みのためのマトリックス)、SEQ ID NO:40 (IL-12をコードする配列のPD1遺伝子座中への組込みのためのマトリックス)、SEQ ID NO:69 (HLAE VMAPRTLFLペプチドの組込みのためのマトリックス)、SEQ ID NO:71 (HLAE VMAPRTLILペプチドの組込みのためのマトリックス)、SEQ ID NO:73 (UL18 ActineペプチドのB2m遺伝子座中への組込みのためのマトリックス)、SEQ ID NO:75 (B2m遺伝子座へ挿入されたUL18 HLACw ペプチドの組込みのためのマトリックス)、およびSEQ ID NO:77 (UL18_ HLAGペプチドの 2 m遺伝子座中への組込みのためのマトリックス) と同一性を有するポリヌクレオチドを含むか、またはそれからなる。

【0174】

内在性プロモーターの転写制御下での免疫細胞における遺伝子標的指向組込み

本発明は、その主要な局面の1つにおいて、それらの治療的可能性を改善する外来性配列を発現する、免疫細胞の内在性転写活性を利用することである。

【0175】

本発明は、内在性プロモーターの転写活性のプロファイル、および本発明を実施するのに有用なプロモーター遺伝子座の選択に基づく、数種類の態様を提供する。好ましい遺伝子座とは、その転写活性が、特に細胞がCARを与えられている場合にはCAR活性化にตอบสนองして (CAR感受性プロモーター)、免疫細胞活性化時に概して高い、遺伝子座である。

【0176】

従って、本発明は、CARをコードする第1の外来性配列をTCR遺伝子座で発現させ、それによってTCR発現を破壊する工程、および、好ましくは以下のいずれかに依存した、内在性遺伝子座の転写活性下で第2の外来性コード配列を発現させる工程によって、同種異系治療用免疫細胞を作製するための方法を提供する：

例として細胞増大を促進するために有用である、dynabeadsなどのCD3/CD28活性化；

例として標的に対する免疫細胞機能を活性化するために有用である、例えばCD3経路を通じたCAR活性化；

例として病気の臓器においてインサイチュで細胞を活性化するために有用である、疾患症状の出現もしくは分子マーカーに連結された転写活性；

例として造血細胞がそれらの免疫機能を獲得する時に、分化の所与のレベルの細胞に治療特性を付与するために、もしくは、特定の系列へのタンパク質を発現するために有用である (図1を参照されたい)、細胞分化；または/ならびに

細胞の活性およびそれらの増幅を特定の腫瘍状態 (低酸素、低糖など) に再度方向づけるため、または、消耗を阻止し、かつ/もしくは活性化を持続させるために有用である、TME (腫瘍微小環境) ；

CAR T細胞活性に関連する有害事象を和らげるために有用である、CRS (サイトカイン放出症候群)。

【0177】

本発明者らは、本発明の通りの標的指向遺伝子組換えを適用するのに特に適切であることが見出されている内在性遺伝子の第1のリスト (表6) を確立した。このリストを作成するために、それらは、数種類のトランスクリプトームマウスデータベース、特に、オボ

アルブミン抗原に応答したT細胞活性化時の種々の遺伝子の転写レベルの比較を可能にする、Best J.A. et al. (2013) "Transcriptional insights into the CD8(+) T cell response to infection and memory T cell formation" Nat. Immunol. 14(4):404-12において言及されるImmunological Genome Project Consortium由来のものから来ている。また、非常に少ないデータしかヒトT細胞活性化に関して利用可能ではないため、これらのデータからいくらかの外挿および解析を行い、ヒト遺伝子に関する利用可能な文献を研究することによって、ヒトの状況と比較しなければならなかった。選択された遺伝子座は、特に、CARをコードする配列の挿入と関連性がある。表6の第1の選択に基づいて、遺伝子のその後の選択を、それらの期待される発現プロファイルに基づいて行った(表7~10)。

10

【0178】

もう一方で、本発明者らは、外来性プロモーターの転写制御下で外来性コード配列を発現する発現カセットを挿入するのに最も適切であると考えられる、主として不活性である転写遺伝子座の選択を特定した。これらの遺伝子座は、特にT細胞活性化の間に、主として転写が不活性であるものとして、「安全港遺伝子座」と呼ばれる。それらは、免疫細胞のゲノム発現を干渉するリスクを最大限低減させることによって、コード配列を組み込むのに有用である。

【0179】

免疫細胞活性化の間に絶え間なく活性を有している内在性プロモーターの制御下での遺伝子標的指向挿入

20

本態様に関連する内在性遺伝子座の選択を、表7に列挙する。

【0180】

従って、本発明の方法は、好ましくは、CD3G、Rn28s1、Rn18s、Rn7sk、Actg1、2m、Rpl18a、Pabpc1、Gapdh、Rpl17、Rpl19、Rplp0、Cfl1、およびPfn1から選択される内在性遺伝子由来の、免疫細胞活性化の間に常に活性を有している内在性プロモーターの制御下で遺伝子標的指向挿入を行う工程を提供する。

【0181】

「絶え間なく活性を有している」とは、初代免疫細胞においてこれらのプロモーターについて観察される転写活性が、免疫細胞の活性化時に負の調節によって影響を受けないことを意味する。

30

【0182】

他所(Acuto, O. (2008) "Tailoring T-cell receptor signals by proximal negative feedback mechanisms". Nature Reviews Immunology 8:699-712)で報告されているように、TCR遺伝子座に存在するプロモーターは、TCR係合時に様々な負のフィードバック機構に供され、従って、本発明の方法の間、絶え間なく活性を有するわけではなく、または上方制御されない可能性がある。本発明は、T細胞活性化の間に発現する外来性コード配列のための可能性のある挿入部位としてTCR遺伝子座を用いることを回避するように、ある程度設計されている。そのため、本発明の1つの局面によると、外来性コード配列の標的指向挿入は、TCR またはTCR 遺伝子座で行われない。

【0183】

40

絶え間なく活性を有している内在性プロモーターの制御下でそのような遺伝子座に有利に導入され得る外来性コード配列の例は、サイトカイン、ケモカイン受容体、薬物に対する耐性を付与する分子、4-1BRLおよびOX40Lなどの共刺激リガンド、または分泌型抗体をコードするもの、またはこれらの産生を正に調節するものである。

【0184】

免疫細胞活性化に依存するかまたはCAR活性化に依存する、内在性プロモーター下の遺伝子組み込み

前に述べられたように、本発明の方法は、免疫細胞活性化時にその転写活性が好ましくは一過性にまたは10日超にわたるかのいずれかで上方制御される内在性プロモーターの制御下で、遺伝子標的指向挿入を行う工程を提供する。

50

【0185】

「免疫細胞活性化」とは、所与のタイプの免疫細胞について文献において概して記載されており、かつ一般的に確立されている機構の通りの免疫応答の産生を意味する。例として、T細胞に関して、T細胞活性化は、概して、CD69、CD71、およびCD25（またTreg細胞のマーカー）、ならびにHLA-DR（ヒトT細胞活性化のマーカー）を含む様々なタンパク質の産生による細胞表面発現、パーフォリン、グランザイム、およびグラニュリンの放出（脱顆粒）、または、サイトカインエフェクターIFN- γ 、TNF、およびLT- α の産生からなる変化のうちの1つを特徴とする。

【0186】

本発明の好ましい態様によると、内在性遺伝子の転写活性は、特にCARによる活性化に
10 応答して、免疫細胞において上方制御される。CARは、免疫細胞において独立して発現することができる。「独立して発現する」とは、CARが、例として、レンチウイルスベクターなどのレトロウイルスベクターを用いて、または、そのようなCARをコードするキャップメッセンジャーRNAをエレクトロポレーションによりトランスフェクトすることによって導入される外来性発現カセットから、免疫細胞において転写され得ることを意味する。例として参照文献によって記載されているように、免疫細胞中でCARを発現させる多くの方法が、当技術分野において公知である。

【0187】

その転写活性が上方制御される前記内在性遺伝子は、特に、サイトカイン、例えばIL-
20 12およびIL-15、免疫原性ペプチド、または分泌型抗体、例えば、抗IDO1、抗IL10、抗PD1、抗PDL1、抗IL6、または抗PGE2抗体をコードする外来性配列の組込みに適切である。

【0188】

本発明の好ましい態様によると、内在性プロモーターは、CAR活性化に
応答性でありかつより好ましくはCAR活性化に依存しているその転写活性について、選択される。

【0189】

本明細書において示されるように、CD69、CD25、およびPD1はそのような遺伝子座
であり、特にCAR陽性免疫細胞中への、免疫細胞が活性化される時に発現する外来性コード配列の発現の挿入に特に適切である。

【0190】

本発明は、従って、免疫細胞中でCARを発現させる任意の方法を、その転写活性が該C
30 ARと腫瘍抗原との係合に
応答性であるまたはそれに依存している遺伝子座に対して外来性コード配列の部位特異的挿入を行う工程と組み合わせる。特に、本方法は、CAR陽性または組換えTCR陽性の免疫細胞中に、PD1、CD25、およびCD69プロモーターから選択される1つのプロモーターの転写制御下にIL-12またはIL-15をコードする外来性配列を導入する工程を含む。

【0191】

特に、CAR陽性細胞は、免疫細胞、好ましくは初代細胞、およびより好ましくは初代T
40 細胞中で、CARをコードする少なくとも1種類の外来性配列、およびその転写活性が該CARに依存している内在性プロモーター、例えば、PD1、CD25、またはCD71の下に置かれた別の外来性配列を同時発現させる工程に従うことによって、得ることができる。

【0192】

「前記CARに依存している」という表現は、通常、細胞表面に存在するCARの数を抗原が
超えている、かつ細胞表面に発現したCARの数が細胞あたり10分子よりも多い、好ましくは100分子よりも多い、およびより好ましくは細胞あたり1000分子よりも多い状況において、CARとその同族抗原との係合の結果として前記内在性プロモーターの転写活性が必ず、10%超、好ましくは20%超、より好ましくは50%超、およびさらにより好ましくは80%超、増加することを意味する。

【0193】

本発明は、従って、好ましくはTCR遺伝子座に挿入され、構成的に発現するCAR配列
50

の発現を教示し、他方、別の遺伝子座に組み込まれた別の外来性配列は、該CARのその同族抗原との係合に応答して、またはそれに依存して同時発現する。前記別の遺伝子座は、例として、CD25、PD1、もしくはCD71、またはCAR活性化時に特異的に転写される任意の遺伝子座である。

【0194】

換言すると、本発明は、CARと少なくとも1種類の外来性コード配列の同時発現を提供し、該外来性配列の発現は、その転写活性がCAR活性によって影響を受ける内在性プロモーターの制御下であり、これは、より良好な免疫応答をもたらす操作された免疫細胞を得ることを考慮して行われる。

【0195】

以前に記載されたように、これは、細胞に、特異的にCAR依存性であるそのような遺伝子座のコード領域を標的とする配列特異的ヌクレアーゼ試薬を、該ゲノム領域に相同な配列を含むドナー鋳型と共にトランスフェクトすることによって行うことができる。配列特異的ヌクレアーゼ試薬は、ドナー鋳型が相同組換えまたはNHEJによって組み込まれることを助ける。

【0196】

好ましい態様によると、外来性コード配列は、内在性遺伝子の発現が保存されるように、該内在性遺伝子とインフレームで組み込まれる。これは、例として、本明細書中の実験項の少なくとも1つの実施例におけるCD25およびCD69に関する場合である。

【0197】

好ましい態様によると、外来性配列は、例として本明細書中の実験項におけるPD1の場合のように、1種類の内在性コード配列の発現を、特にこの発現が免疫細胞機能に対して負の効果を有する時に、阻止するように遺伝子の内在性コード配列を破壊する。

【0198】

さらにより好ましい態様によると、内在性遺伝子配列を破壊する外来性コード配列は、その発現が、同様に実験項に示されるように内在性プロモーターに依存してなされるように、内在性プロモーターとインフレームで置かれる。

【0199】

本発明はまた、本特許出願において例証される様々なTALヌクレアーゼをコードするポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列、特に、CD25遺伝子座での部位特異的挿入を可能にするもの（SEQ ID NO:18および19）、ならびにそれらのそれぞれの標的およびRVD配列にも注目する。

【0200】

本発明はまた、配列特異的エンドヌクレアーゼ試薬をコードするポリヌクレオチドと、該試薬によって標的とされる遺伝子座に外来性配列を組み込むように設計されたドナー配列とを含む、免疫細胞用のキットも包含する。そのようなキットの例は、PD1遺伝子座を標的とする低頻度切断エンドヌクレアーゼ（例えば：PD1 TALEN（登録商標））をコードするmRNAと、IL-12をコードする外来性配列を含むAAVベクターとを含むキット、PD1遺伝子座を標的とする低頻度切断エンドヌクレアーゼ（例えば：PD1 TALEN（登録商標））をコードするmRNAと、IL-15をコードする外来性配列を含むAAVベクターとを含むキット、CD25遺伝子座を標的とする低頻度切断エンドヌクレアーゼ（例えば：CD25 TALEN（登録商標））をコードするmRNAと、IL-12をコードする外来性配列を含むAAVベクターとを含むキット、CD25遺伝子座を標的とする低頻度切断エンドヌクレアーゼ（例えば：CD25 TALEN（登録商標））をコードするmRNAと、IL-15をコードする外来性配列を含むAAVベクターとを含むキット、PD1遺伝子座を標的とする低頻度切断エンドヌクレアーゼ（例えば：PD1 TALEN（登録商標））をコードするmRNAと、可溶性gp130をコードする外来性配列を含むAAVベクターとを含むキット、CD25遺伝子座を標的とする低頻度切断エンドヌクレアーゼ（例えば：CD25 TALEN（登録商標））をコードするmRNAと、可溶性gp130をコードする外来性配列を含むAAVベクターとを含むキット、ならびに、表6に列挙される遺伝子を標的とするエンドヌクレア

10

20

30

40

50

ーゼ試薬と、本明細書において言及されるコード配列を導入するためのドナーマトリックスとを含む任意のキットである。

【0201】

そのようなキットのさらなる例は、PD1遺伝子座を標的とする低頻度切断エンドヌクレアーゼ（例えば：PD1 TALEN（登録商標））をコードするmRNAと、IL-12をコードする外来性配列を含むAAVベクターとを含むキット、PD1遺伝子座を標的とする低頻度切断エンドヌクレアーゼ（例えば：PD1 TALEN（登録商標））をコードするmRNAと、IL-15をコードする外来性配列を含むAAVベクターとを含むキット、CD25遺伝子座を標的とする低頻度切断エンドヌクレアーゼ（例えば：CD25 TALEN（登録商標））をコードするmRNAと、IL-12をコードする外来性配列を含むAAVベクターとを含むキット、CD25遺伝子座を標的とする低頻度切断エンドヌクレアーゼ（例えば：CD25 TALEN（登録商標））をコードするmRNAと、IL-15をコードする外来性配列を含むAAVベクターとを含むキット、2m遺伝子座を標的とする低頻度切断エンドヌクレアーゼ（例えば：2m TALEN（登録商標））をコードするmRNAと、例えばHLA-EまたはHLA-G由来の重鎖を含むNK阻害物質をコードする外来性配列を含むAAVベクターとを含むキット、2m遺伝子座を標的とする低頻度切断エンドヌクレアーゼ（例えば：2m TALEN（登録商標））をコードするmRNAと、可溶性gp130をコードする外来性配列を含むAAVベクターとを含むキット、ならびに、表6に列挙される遺伝子を標的とするエンドヌクレアーゼ試薬と、本明細書において言及されるコード配列を導入するためのドナーマトリックスとを含む任意のキットである。

【0202】

本発明はまた、好ましくはAAVベクター中に含まれる、配列特異的エンドヌクレアーゼ試薬をコードするポリヌクレオチドと、外来性ポリヌクレオチド配列とを含む免疫細胞トランスフェクションのためのキットであって、該外来性配列が、IL1およびIL18活性化経路のアンタゴニスト、例えば、IL1RA（Uniprot番号P18510）もしくはIL18BP（Uniprot番号O95998）またはその活性断片もしくはパリアントをコードする配列を含む、前記キットも提供する。

【0203】

本発明の1つの局面によると、内在性遺伝子は、弱い上方制御について選択される。その転写活性が弱く上方制御される前記内在性遺伝子中に導入される外来性コード配列は、有利に、その発現レベルが概して正のCARのものよりも低いままでなければならない、阻害性CARまたはアポトーシスCARの成分であることができる。そのようなCAR発現の組み合わせ、例として、ウイルスベクターで形質導入される1つと本発明に従って導入されるもう1つは、CAR免疫細胞の特異性または安全性を大きく改善することができる。

【0204】

いくつかの内在性プロモーターは、時には免疫細胞活性化時に12時間未満にわたって、一過性に上方制御され、例えば、内在性遺伝子座Spata6、Itga6、Rcbtb2、Cd1d1、St8sia4、Itgae、およびFam214aから選択されるものである（表8）。他の内在性プロモーターは、免疫活性化時に24時間未満にわたって上方制御され、例えば、内在性遺伝子座IL3、IL2、Ccl4、IL21、Gp49a、Nr4a3、Lilrb4、Cd200、Cdkn1a、Gzmc、Nr4a2、Cish、Ccr8、Lad1、およびCrabp2から選択されるものであり（表9）、他のものは、免疫細胞活性化時に24時間超にわたって、より概括的には10日超にわたって上方制御される。例えば、Gzmb、Tbx21、Plek、Chek1、Slamf7、Zbtb32、Tigit、Lag3、Gzma、Wee1、IL12rb2、Eea1、およびDtlから選択されるものである（表9）。

【0205】

代替的に、本発明者らは、免疫細胞活性化時に下方制御されるプロモーターの転写制御下の内在性遺伝子がまた、本発明による方法にとって関心対象であり得ることを見出した。実際に、本発明者らは、抗アポトーシス因子、例えば、Bcl2ファミリー、BclXL、NF-kB、Survivin、または抗FAP（線維芽細胞活性化タンパク質）、例えば、CAR抗FAP

の成分をコードする外来性コード配列を、前記遺伝子座に導入できることを思い付いた。免疫細胞活性化時に下方制御されるプロモーターの転写制御下の前記内在性遺伝子は、より詳細には、Slc6a19、Cd55、Xkrx、Mturn、H2-Ob、Cnr2、Itgae、Raver2、Zbtb20、Arrb1、Abca1、Tet1、Slc16a5、およびAmpd3から選択することができる(表10)。

【0206】

腫瘍微小環境(TME)状態で活性化される内在性プロモーター下での遺伝子組込み

本発明の1つの局面は、より詳細には、腫瘍微小環境(TME)状態において免疫細胞消耗を阻止する方法に関わる。免疫細胞は、多くの場合、腫瘍耐性を助ける腫瘍の微小環境において見出される栄養素枯渇または分子シグナルに応答して消耗する。本方法は、アルギニン、システイン、トリプトファン、および酸素の欠乏、ならびに細胞外アシドーシス(乳酸蓄積)の下で上方制御される内在性プロモーターの制御下に外来性コード配列を組み込むことによって、免疫細胞を操作する工程を含む。

10

【0207】

そのような外来性配列は、キメラ抗原受容体、インターロイキン、または、免疫細胞の機能もしくは活性化を支え、かつ/または治療的利点を付与するための本明細書中の他所で示される任意のポリペプチドをコードしてもよい。

【0208】

本発明者らは、数多くの消耗した腫瘍浸潤リンパ球(TIL)において上方制御されることが見出されている多数の遺伝子座を列挙し、それらは表12および13に列挙されている、本発明は、腫瘍微小環境において免疫細胞、特にT細胞の消耗を阻止するために、これらの好ましい遺伝子座に外来性コード配列を組み込む工程を提供する。

20

【0209】

例として、CARをコードする外来性配列を、腫瘍微小環境によって活性化される内在性遺伝子、例えば、転写因子の低酸素誘導性因子であるHIF1a、または芳香族炭化水素受容体(AhR)のプロモーターの転写制御下に置くことができる。これらの遺伝子は、腫瘍の閉じた環境において低酸素および生体異物によってそれぞれ誘導されるセンサーである。

【0210】

本発明は、従って、外来性コード配列、およびより概括的には遺伝的属性/回路を、腫瘍微小環境(TME)によって影響を受ける内在性T細胞プロモーターの制御下に組み込むことによって、CAR T細胞療法の治療転帰を改善するために有用である。

30

【0211】

本発明に準じて、ある特定の腫瘍微小環境においてCAR T細胞の抗腫瘍活性を改善するために、内在性遺伝子の上方制御を「乗っ取って」、関連性のある外来性コード配列を再発現させることができる。

【0212】

造血幹細胞(HSC)における遺伝子を標的とする挿入および発現

本発明の1つの局面は、より詳細には、造血幹細胞(HSC)中への導入遺伝子の挿入に関わる。

40

【0213】

造血幹細胞(HSC)は、多能性の自己複製前駆細胞であり、それからすべての分化した血液細胞タイプが、血球新生のプロセス中に生じる。これらの細胞には、免疫系のリンパ球、顆粒球、およびマクロファージ、ならびに循環赤血球および血小板が含まれる。古典的には、HSCは、2種類の系列が制限された、リンパ系および骨髄-赤血球系の少能性(oligopotent)前駆細胞に分化すると考えられている。HSCの自己複製および分化を制御する機構は、多様なセットのサイトカイン、ケモカイン、受容体、および細胞内シグナル伝達分子によって影響を受けると考えられている。HSCの分化は、部分的に、細胞内シグナル伝達経路を活性化する、コロニー刺激因子(CSF)およびインターロイキン(IL)を含む成長因子およびサイトカインによって調節される。下記で示される因子は、H

50

SCの多能性、増殖、および分化系列決定に影響を及ぼすことが公知である。HSCおよびそれらの分化した子孫は、造血幹細胞中の特異的な細胞表面系列マーカー、例えば、分化抗原群 (cluster of differentiation) (CD) タンパク質およびサイトカイン受容体の発現によって特定することができる。

【0214】

HSCを用いる遺伝子治療は、免疫疾患を含む造血系の疾患を処置する莫大な可能性を有する。このアプローチにおいては、HSCを患者から収集して、レトロウイルスベクターを組み込むことを用いてエクスピボで遺伝子改変し、次いで、患者中に注入する。現在のところ、レトロウイルスベクターが、HSC遺伝子治療にとって唯一の有効な遺伝子送達システムである。ベクターを組み込むことを用いたHSCへの遺伝子送達は、それによって、HSC由来の成熟造血細胞への効率的な送達を可能にする。しかし、患者中に注入される遺伝子改変細胞は、ポリクローナルな集団であり、ここでは、様々な細胞が、様々な染色体位置に組み込まれたベクタープロウイルスを有し、これは、多くの有害な変異を結果としてもたらし得、これらの変異のいくつかの増殖性/生存性の利点のために増幅される可能性がある (Powers and Trobridge (2013) "Identification of Hematopoietic Stem Cell Engraftment Genes in Gene Therapy Studies" J Stem Cell Res Ther S3:004. doi:10.4172/2157-7633.S3-00)。

10

【0215】

HSCは、一般的に、動員後の末梢血から採集される (患者は、組換えヒト顆粒球-コロニー刺激因子 (G-CSF) を受ける)。患者の末梢血を収集し、CD34+マーカーを用いてHSCを濃縮する。HSCを、次いでエクスピボで培養し、ウイルスベクターに曝露する。エクスピボの培養期間は、1から4日まで変動する。遺伝子改変HSCの注入の前に、移植効率の増強を助けるために、患者を化学療法剤または放射線で処置してもよい。遺伝子改変HSCは、患者の静脈内に再注入される。細胞は、最終的に洞様血管および血管周囲組織に常在する前に、骨髄中へ遊走する。ホーミングおよび血球新生は両方とも、移植の肝要な局面である。ホーミングを通して幹細胞ニッチに到達した細胞は、各々の血液系列由来の成熟した骨髄系細胞およびリンパ系細胞を産生し始めると考えられる。血球新生は、患者の成熟血液細胞の終生の世代にわたる自己複製が可能である、長期HSCの作用、特に、リンパ系共通前駆細胞、例えば、感染細胞および悪性細胞を排除するための鍵となる免疫細胞であるT細胞およびNK細胞の産生を通して続く。

20

30

【0216】

本発明は、外来性コード配列を、内在性プロモーター、特に、特定の造血系列の細胞中で、または特定の分化段階、好ましくは分化の後期で特異的に活性化される遺伝子の内在性プロモーターの制御下に導入するために、HSCにおいて遺伝子標的指向挿入を行うことを提供する。HSCは、前の段落において言及されたようなエクスピボ処置の間に、ポリヌクレオチドベクター (ドナー鑄型)、例えばAAVベクターで形質導入することができ、他方、配列特異的ヌクレアーゼ試薬は、選択された遺伝子座でコード配列の挿入を促進するために発現する。結果として生じた操作されたHSCを、次いで、前記外来性コード配列を含むであろう操作された免疫細胞の長期インビボ産生のために、その必要がある患者中に移植することができる。選択された内在性プロモーターの活性に応じて、コード配列は、ある特定の系列において、またはインビボでの免疫細胞の局所的環境に応答して選択的に発現することになり、それによって養子免疫療法を提供する。

40

【0217】

本発明の1つの好ましい局面によると、外来性コード配列は、その転写活性がリンパ系共通前駆細胞において特異的に誘導される遺伝子、例えば、CD34、CD43、Flt-3/Fli-2、IL-7 R /CD127、およびネプリライシン (Nepriylsin) /CD10のプロモーターの制御下に置かれる。

【0218】

より好ましくは、外来性コード配列は、その転写活性がNK細胞において特異的に誘導される遺伝子、例えば、CD161、CD229/SLAMF3、CD96、DNAM-1/CD226、Fc

50

RII/CD32、Fc RII/RIII (CD32/CD16)、Fc RIII (CD16)、IL-2 R、インテグリン 2/CD49b、KIR/CD158、NCAM-1/CD56、NKG2A/CD159a、NKG2C/CD159c、NKG2D/CD314、NKp30/NCR3、NKp44/NCR2、NKp46/NCR1、NKp80/KLRP1、Siglec-7/CD328、およびTIGIT、またはT細胞において誘導される遺伝子、例えば、CCR7、CD2、CD3、CD4、CD8、CD28、CD45、CD96、CD229/SLAMF3、DNAM-1/CD226、CD25/IL-2 R、L-セレクチン/CD62L、およびTIGITのプロモーターの制御下に置かれる。

【0219】

本発明は、好ましい局面として、CARまたはその構成要素をコードする外来性配列の、好ましくは、HSCにおいて発現していない遺伝子、より好ましくは該HSCによって産生される造血細胞においてのみ発現する遺伝子、およびさらにより好ましくはT細胞またはNK細胞においてのみ発現する遺伝子のプロモーターの転写制御下での、HSC中への導入を含む。

10

【0220】

胸腺障壁を越えるためのHSCにおける条件的CAR発現

本発明の特定の局面は、外来性コード配列、特にCARまたはその構成要素を発現する造血系免疫細胞、例えばT細胞またはNK細胞の、上記の操作されたHSCによるインビボ産生に関わる。

【0221】

例として、操作されたHSCによる造血系CAR陽性細胞の産生の1つの主要な障壁は、免疫系自体による、特に胸腺によるCAR陽性細胞の拒絶である。

20

【0222】

血液-胸腺障壁は、循環系と胸腺との間の物質の交換を調節し、未熟なT細胞が発生するための隔離された環境を提供する。障壁はまた、未熟なT細胞が外来抗原と接触することを阻止する（この段階での抗原との接触は、T細胞がアポトーシスによって死ぬことを引き起こすであろうため）。

【0223】

本発明によって提供される1つの解決法は、CAR構成要素をコードする配列を、HSCにおいて、胸腺障壁を通過する時に造血細胞中で有意には転写されないプロモーターの転写調節下に置くことである。胸腺において低減しているかまたは有意ではない転写活性を有する、造血細胞中でのCARの条件的発現を提供する遺伝子の1つの例は、LCK (Uniprot: P06239) である。

30

【0224】

本発明の好ましい局面によると、CARまたはその構成要素をコードする外来性配列は、T細胞またはNK細胞において、好ましくはこれらのタイプの細胞のみにおいて特異的に発現しているとして記載されている遺伝子の転写制御下で、HSC中に導入される。

【0225】

本発明は、それによって、選択された造血系列において排他的に発現する外来性コード配列を含むHSCを産生する方法であって、該コード配列が、好ましくは、免疫系を刺激するためにCARのまたは抗原の少なくとも1つの構成要素をコードする、前記方法を提供する。

40

【0226】

より広くには、本発明は、前記HSCによって産生される造血細胞において選択的に発現する外来性コード配列の遺伝子標的指向挿入によって、HSCを操作する方法を提供する。好ましい態様として、前記操作されたHSCによって産生される前記造血細胞は、選択された環境因子またはそれらの治療的可能性を改善するためのインビボ刺激にตอบสนองして、前記外来性コード配列を発現する。

【0227】

免疫細胞における標的指向配列挿入と内在性ゲノム配列の不活性化との組み合わせ

本発明の1つの特定の焦点は、ある遺伝子座での初代免疫細胞における遺伝子不活性化

50

を、その発現が該操作された細胞の治療的可能性を改善させる、外来性コード配列の該遺伝子座での組み込みによって行うことである。本発明に従って挿入することができる関連性のある外来性コード配列の例は、細胞の治療的可能性に対するそれらの正の効果と関連づけて上記で示されている。本明細書の下記には、好ましくは遺伝子標的指向挿入によって標的とされる内在性遺伝子、およびその不活性化と関連する利点が示される。

【0228】

本発明の好ましい局面によると、コード配列の挿入は、同種異系細胞のレシピエント患者中への導入時に宿主対移植片病（GVHD）反応または免疫拒絶を低減させるために、自己および非自己の認識に関与する遺伝子の発現を低減させるまたは阻止する効果を有する。例として、本方法において用いられる配列特異的試薬のうちの1種類は、初代T細胞におけるTCR、例えば、TCR- またはTCR- をコードする遺伝子の発現を低減させるまたは阻止することができる。

10

【0229】

別の好ましい局面として、1つの遺伝子編集工程は、2mタンパク質、および/または、C2TA（Uniprot P33076）などのその調節に関与する別のタンパク質、もしくはHLAタンパク質などのMHC認識に関与する別のタンパク質の発現を低減させるかまたは阻止することである。これにより、操作された免疫細胞が、患者中に注入された時にアロ反応性が低くなることが可能になる。

【0230】

「同種異系治療用途」とは、細胞が、異なるハプロタイプを有する患者中に注入されることを考慮したドナーを起源とすることを意味する。実際に、本発明は、宿主-移植片相互作用および認識に関与する種々の遺伝子座において遺伝子編集されることができる初代細胞を得るための、効率的な方法を提供する。

20

【0231】

本明細書で後に詳述されるように、操作された初代細胞の活性、治療活性の残存性を改善することを考慮して、他の遺伝子座がまた編集されてもよい。

【0232】

チェックポイント受容体および免疫細胞阻害経路の不活性化

本発明の好ましい局面によると、挿入される外来性コード配列は、免疫細胞阻害経路、特に文献において「免疫チェックポイント」と呼ばれているものに関与するタンパク質の発現を低減させるまたは阻止する効果を有する（Pardoll, D.M. (2012) The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy, Nature Reviews Cancer, 12:252-264）。本発明の意味において、「免疫細胞阻害経路」とは、悪性細胞または感染細胞に対するリンパ球の細胞傷害活性の低減をもたらす、免疫細胞における任意の遺伝子発現を意味する。これは、例として、T細胞に対するTregの活性（T細胞活性を穏やかにする）を駆動することが公知である、FOXP3の発現に関与する遺伝子であることができる。

30

【0233】

「免疫チェックポイント」とは、免疫細胞の活性化のシグナルを上向きにする（共刺激分子）かまたはそのシグナルを下向きにするかいずれかの、免疫系における分子である。本発明の通りに、免疫チェックポイントとは、より詳細には、抗原に対するT細胞応答（T細胞受容体（TCR）によって認識されるペプチド-主要組織適合複合体（MHC）分子複合体によって媒介される）を調節する、T細胞と抗原提示細胞（APC）との間のリガンド-受容体相互作用に関与する表面タンパク質を称する。これらの相互作用は、リンパ節において（主要なAPCが樹状細胞である場合）、または末梢組織もしくは腫瘍において（エフェクター応答が調節される場合）、T細胞応答の開始時に生じ得る。共刺激受容体および阻害性受容体の両方に結合する膜結合型リガンドの1つの重要なファミリーは、B7ファミリーである。B7ファミリーメンバーおよびそれらの公知のリガンドのすべては、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する。より最近特定されたB7ファミリーメンバーに対する受容体の多くは、まだ特定されていない。同族TNF受容体ファミリー分子に

40

50

結合する腫瘍壊死因子 (TNF) ファミリーメンバーは、調節性リガンド-受容体ペアの第2のファミリーに相当する。これらの受容体は主に、それらの同族リガンドによって係合された時に共刺激シグナルを送達する。T細胞の活性化を調節するシグナルの別の主要なカテゴリーは、微小環境における可溶性サイトカインから来ている。他の場合では、活性化T細胞は、APC上の同族受容体と係合するリガンド、例えばCD40Lを上方制御する。A2aR、アデノシンA2a受容体；B7RP1、B7関連タンパク質1；BTLA、BおよびTリンパ球 アテニュエーター；GAL9、ガレクチン9；HVEM、ヘルペスウイルス侵入メディエーター；ICOS、誘導性T細胞共刺激因子；IL、インターロイキン；KIR、キラー細胞免疫グロブリン様受容体；LAG3、リンパ球活性化遺伝子3；PD1、プログラム細胞死タンパク質1；PDL、PD1リガンド；TGF、トランスフォーミング成長因子-；TIM3、T細胞膜タンパク質 3。

10

【0234】

その発現が、本発明による操作された免疫細胞において活性化を上向きにするように低減され得るかまたは抑制され得る、さらなる内在性遺伝子の例を、表3に列挙する。

【0235】

例として、挿入される外来性コード配列は、PD1 (Uniprot Q15116)、CTLA4 (Uniprot P16410)、PPP2CA (Uniprot P67775)、PPP2CB (Uniprot P62714)、PTPN6 (Uniprot P29350)、PTPN22 (Uniprot Q9Y2R2)、LAG3 (Uniprot P18627)、HAVCR2 (Uniprot Q8TDQ0)、BTLA (Uniprot Q7Z6A9)、CD160 (Uniprot O95971)、TIGIT (Uniprot Q495A1)、CD96 (Uniprot P40200)、CRTAM (Uniprot O95727)、LAIR1 (Uniprot Q6GTK8)、SIGLEC7 (Uniprot Q9Y286)、SIGLEC9 (Uniprot Q9Y336)、CD244 (Uniprot Q9BZW8)、TNFRSF10B (Uniprot O14763)、TNFRSF10A (Uniprot O00220)、CASP8 (Uniprot Q14790)、CASP10 (Uniprot Q92851)、CASP3 (Uniprot P42574)、CASP6 (Uniprot P55212)、CASP7 (Uniprot P55210)、FADD (Uniprot Q13158)、FAS (Uniprot P25445)、TGFBRII (Uniprot P37173)、TGFBRI (Uniprot Q15582)、SMAD2 (Uniprot Q15796)、SMAD3 (Uniprot P84022)、SMAD4 (Uniprot Q13485)、SMAD10 (Uniprot B7ZSB5)、SKI (Uniprot P12755)、SKIL (Uniprot P12757)、TGIF1 (Uniprot Q15583)、IL10RA (Uniprot Q13651)、IL10RB (Uniprot Q08334)、HMOX2 (Uniprot P30519)、IL6R (Uniprot P08887)、IL6ST (Uniprot P40189)、EIF2AK4 (Uniprot Q9P2K8)、CSK (Uniprot P41240)、PAG1 (Uniprot Q9NWQ8)、SIT1 (Uniprot Q9Y3P8)、FOXP3 (Uniprot Q9BZS1)、PRDM1 (Uniprot Q60636)、BATF (Uniprot Q16520)、GUCY1A2 (Uniprot P33402)、GUCY1A3 (Uniprot Q02108)、GUCY1B2 (Uniprot Q8BXH3)、およびGUCY1B3 (Uniprot Q02153) から選択される少なくとも1種類のタンパク質の、操作された免疫細胞による発現を低減させるまたは阻止する効果を有することができる。上記のタンパク質をコードする遺伝子に導入される遺伝子編集は、好ましくは、CAR T細胞におけるTCRの不活性化と組み合わせられる。

20

30

【0236】

非内在性の免疫抑制性ポリペプチド、例えばPD-L1リガンドおよび/またはCTLA-4 Igの発現と組み合わせた、PD1および/またはCTLA4の不活性化が優先される (表1および2のペプチドも参照されたい)。

40

【0237】

(表3) 免疫細胞阻害経路に関する遺伝子のリスト

50

経路		経路において 不活性化され得る遺伝子		
共阻害性 受容体	CTLA4 (CD152)	CTLA4, PPP2CA, PPP2CB, PTPN6, PTPN22	10	
	PDCD1 (PD-1, CD279)	PDCD1		
	CD223 (lag3)	LAG3		
	HAVCR2 (tim3)	HAVCR2		
	BTLA(cd272)	BTLA		
	CD160(by55)	CD160		
	IgSF ファミリー			TIGIT
				CD96
				CRTAM
	LAIR1(cd305)	LAIR1		
	SIGLECs	SIGLEC7		
	SIGLEC9			
CD244(2b4)	CD244			
デスレセプター	TRAIL	TNFRSF10B, TNFRSF10A, CASP8, CASP10, CASP3, CASP6, CASP7	20	
	FAS	FADD, FAS		
サイトカインシグナル伝達	TGF- β シグナル伝達	TGFBRII, TGFBRI, SMAD2, SMAD3, SMAD4, SMAD10, SKI, SKIL, TGIF1	20	
	IL10シグナル伝達	IL10RA, IL10RB, HMOX2		
	IL6 シグナル伝達	IL6R, IL6ST		
TCRシグナル伝達の 阻止		CSK, PAG1		
		SIT1		
Treg誘導性	Treg誘導性	FOXP3		
消耗を 制御する 転写因子	消耗を制御する 転写因子	PRDM1	30	
		BATF		
低酸素媒介性 寛容	iNOS 誘導性グアニル酸 シクラーゼ	GUCY1A2, GUCY1A3, GUCY1B2, GUCY1B3		

【 0 2 3 8 】

抑制性サイトカイン / 代謝産物の阻害

本発明の別の局面によると、挿入される外来性コード配列は、抑制性サイトカインまたは代謝産物またはそれらの受容体、特に、TGF (Uniprot:P01137)、TGF β R (Uniprot:P37173)、IL10 (Uniprot:P22301)、IL10R (Uniprot: Q13651および/またはQ08334)、A2aR (Uniprot: P29274)、GCN2 (Uniprot: P15442)、ならびにPRDM1 (Uniprot: O75626)をコードするまたは正に調節する遺伝子の発現を低減させるまたは阻止する効果を有する。

40

【 0 2 3 9 】

IL-2、IL-12、またはIL-15をコードする配列が、上記の内在性遺伝子のうちの少なくとも1種類の配列に置き換わる、操作された免疫細胞が優先される。

【 0 2 4 0 】

化学療法薬に対する耐性の誘導

本発明の別の局面によると、挿入される外来性コード配列は、がんまたは感染症のための標準治療の処置において用いられる化合物、例えば、化学療法において一般的に用いられる薬物であるプリンヌクレオチド類似体 (PNA) または6-メルカプトプリン (6MP) および6チオグアニン (6TG) に対する免疫細胞の感受性を担う遺伝子の発現を、低減さ

50

せるまたは阻止する効果を有する。そのような化合物の作用の様式に關与する遺伝子（「薬物感作遺伝子」と呼ばれる）を低減させるかまたは不活性化することは、それらに対する免疫細胞の耐性を改善する。

【0241】

薬物感作遺伝子の例は、クロロファラビン（clorofarabine）およびフルダラビンなどのPNAの活性に関するDCK（Uniprot P27707）、6MPおよび6TGなどのプリン抗代謝薬の活性に関するHPRT（Uniprot P00492）、ならびに、抗葉酸薬、特にメトトレキサートの活性に関するGGH（Uniprot Q92820）をコードするものである。

【0242】

これにより、細胞を、従来の抗がん化学療法後に、または組み合わせて用いることが可能になる。 10

【0243】

免疫抑制処置に対する耐性

本発明の別の局面によると、挿入される外来性コード配列は、薬物標的である受容体またはタンパク質の発現を低減させるまたは阻止する効果を有し、細胞を免疫枯渇薬物処置に対して耐性にする。そのような標的は、操作された免疫細胞を、グルココルチコイド、または、多くのがん処置においてCD52陽性免疫細胞を枯渇させるために用いられるアレムツズマブなどの抗体を用いた免疫枯渇処置に対して耐性にする、グルココルチコイド受容体または抗原であることができる。

【0244】

また、本発明の方法は、CD52（Uniprot P31358）および/またはGR（NR3C1とも呼ばれるグルココルチコイド受容体 Uniprot P04150）をコードするまたはその発現を調節する内在性遺伝子における、遺伝子標的指向挿入を含むことができる。 20

【0245】

CAR陽性免疫細胞の活性および生存の改善

本発明の別の局面によると、挿入される外来性コード配列は、BCMA、CS1、およびCD38などの表面抗原の発現を低減させるまたは阻止する効果を有することができ、ここで、そのような抗原は、免疫細胞によって発現するCARによって標的とされるものである。

【0246】

本態様は、感染細胞または悪性細胞の表面に存在するが、免疫細胞自体によってもある程度発現している抗原を標的とするCARの問題を解決することができる。 30

【0247】

好ましい態様によると、CARまたはその成分のうちの1つをコードする外来性配列は、免疫細胞の自己破壊を回避するために、該CARによって標的とされる抗原をコードする遺伝子中に組み込まれる。

【0248】

操作された免疫細胞および免疫細胞の集団

本発明はまた、単離された形態の下でまたは細胞の集団の一部として、以前に記載された方法のうちの1つに従って取得可能である、様々な操作された免疫細胞にも注目する。 40

【0249】

本発明の好ましい局面によると、操作された細胞は、初代免疫細胞、例えばNK細胞またはT細胞であり、これは、概して、様々なタイプの細胞を含み得る細胞の集団の一部である。概して、患者またはドナーに由来する集団は、PBMC（末梢血単核細胞）から白血球搬出によって単離される。

【0250】

本発明の好ましい局面によると、前記集団に含まれる50%超の免疫細胞は、TCR陰性T細胞である。本発明のより好ましい局面によると、前記集団に含まれる50%超の免疫細胞は、CAR陽性T細胞である。

【0251】

本発明は、それぞれかつ独立して上述されている、様々な外来性コード配列と遺伝子不活性化との任意の組み合わせを含む免疫細胞を包含する。これらの組み合わせの中で、免疫細胞活性化の間に絶え間なくかつ好ましくは該活性化から独立して活性を有している内在性プロモーターの転写調節下でのCARの発現と、免疫細胞活性化の間に上方制御されるプロモーターの転写制御下での、サイトカイン、例えば、IL-2、IL-12、またはIL-15をコードする外来性配列の発現とを組み合わせるものが特に好ましい。

【0252】

別の好ましい組み合わせは、CARまたはその成分のうちの1つをコードする外来性配列の、低酸素誘導性因子1遺伝子プロモーター(Uniprot: Q16665)の転写制御下での挿入である。

【0253】

本発明はまた、感染症またはがんの処置のための以前に記載されたような操作された初代免疫細胞または免疫細胞集団を含む薬学的組成物、および、以下を含む、その必要がある患者を処置するための方法に注目する：

以前に記載されたような本発明の方法に従って、操作された初代免疫細胞の集団を調製する工程；

任意で、該操作された初代免疫細胞を精製または選別する工程；

該操作された初代免疫細胞の集団を、該細胞の該患者中への注入時または注入後に活性化する工程。

【0254】

T細胞の活性化および増大

遺伝子改変の前であろうと後であろうと、本発明による免疫細胞を、たとえそれらが抗原結合機構から独立して活性化または増殖することができるとしても、活性化または増大させることができる。T細胞は、特に、例えば、米国特許第6,352,694号；第6,534,055号；第6,905,680号；第6,692,964号；第5,858,358号；第6,887,466号；第6,905,681号；第7,144,575号；第7,067,318号；第7,172,869号；第7,232,566号；第7,175,843号；第5,883,223号；第6,905,874号；第6,797,514号；第6,867,041号；および米国特許出願公開第20060121005号に記載されているような方法を用いて活性化および増大させることができる。T細胞は、インビトロまたはインビボで増大させることができる。T細胞は、概して、T細胞用の活性化シグナルを創り出すための、T細胞の表面上のCD3 TCR複合体および共刺激分子を刺激する作用物質との接触によって増大させる。例えば、カルシウムイオノフォアA23187、ホルボール12-ミリストート13-アセート(PMA)、またはフィトヘマグルチニン(PHA)のような分裂促進性レクチンなどの化学物質を用いて、T細胞用の活性化シグナルを創り出すことができる。

【0255】

非限定的な例として、T細胞集団を、例えば、抗CD3抗体、もしくはその抗原結合断片、もしくは表面上に固定化された抗CD2抗体との接触によって、または、カルシウムイオノフォアと組み合わせたタンパク質キナーゼCアクチベーター(例えば、プリオスタチン)との接触によって、インビトロで刺激してもよい。T細胞の表面上のアクセサリー分子の共刺激のために、アクセサリー分子に結合するリガンドが用いられる。例えば、T細胞の集団を、T細胞の増殖を刺激するのに適切な条件下で、抗CD3抗体および抗CD28抗体と接触させることができる。T細胞培養に適切な条件は、血清(例えば、胎児ウシまたはヒト血清)、インターロイキン-2(IL-2)、インスリン、IFN-g、1L-4、1L-7、GM-CSF、-10、-2、1L-15、TGFp、およびTNF-、または当業者に公知の細胞の成長のための任意の他の添加物を含む、増殖および生存力のために必要な因子を含有し得る適切な培地(例えば、最小必須培地またはRPMI培地1640、またはX-vivo 5(Lonza))を含む。細胞の成長のための他の添加物は、界面活性剤、plasmanate、ならびに、N-アセチルシステインおよび2-メルカプトエタノールなどの還元剤を含むが、それらに限定されない。培地は、RPMI 1640、A1M-V、DMEM、MEM、a-MEM、F-12、X-Vivo

10

20

30

40

50

1、およびX-Vivo 20、Optimizerを含むことができ、添加されたアミノ酸、ピルビン酸ナトリウム、およびビタミンを伴い、無血清であるか、または、適切な量の血清（もしくは血漿）もしくは定義されたセットのホルモン、ならびに/もしくはT細胞の成長および増大に十分な量のサイトカインが補給されているかのいずれかである。抗生物質、例えば、ペニシリンおよびストレプトマイシンは、実験培養においてのみ含まれ、対象中に注入されることになる細胞の培養には含まれない。標的細胞は、成長を支持するのに必要な条件、例えば、適切な温度（例えば、37℃）および大気（例えば、空気+5% CO₂）の下で維持される。変動した刺激時間に曝露されたT細胞は、様々な特徴を呈し得る。

【0256】

別の特定の態様において、前記細胞は、組織または細胞と共培養することによって増大させることができる。前記細胞はまた、例えば、該細胞を対象中に投与した後で対象の血液において、インビボで増大させることもできる。

【0257】

治療用組成物および適用

上記の本発明の方法により、操作された初代免疫細胞を、それらが特にその細胞傷害活性に関してその完全な免疫治療的可能性を保つように、約15~30日、好ましくは15~20日の間、および最も好ましくは18~20日の間の限定された時間枠内で作製することが可能になる。

【0258】

これらの細胞は、好ましくは単一のドナーまたは患者を起源とする細胞の集団を形成する。これらの細胞の集団は、最高の製造実践要件を順守するために閉じた培養レシピエントの下で増大させることができ、患者中への注入の前に凍結することができ、それによって「既製の」または「すぐに使える」治療用組成物を提供する。

【0259】

本発明の通りに、同じ白血球搬出を起源とする有意な数の細胞を得ることができ、これは、患者を処置するのに十分な用量を得るために重要である。種々のドナーを起源とする細胞の集団の間でバリエーションが観察され得るが、白血球搬出によって調達される免疫細胞の数は、概して、約 $10^8 \sim 10^{10}$ 細胞のPBMCである。PBMCは、数種類のタイプの細胞：顆粒球、単球、およびリンパ球を含み、その中で30~60%がT細胞であり、これは概して、1人のドナー由来の $10^8 \sim 10^9$ 個の初代T細胞に相当する。本発明の方法は、概して最後には、概括的には約 10^8 個よりも多いT細胞、より概括的には約 10^9 個よりも多いT細胞、さらにより概括的には約 10^{10} 個よりも多いT細胞、および通常は 10^{11} 個よりも多いT細胞に達する、操作された細胞の集団になる。

【0260】

本発明は、従って、より詳細には、治療上有効な初代免疫細胞の集団であって、該集団における少なくとも30%、好ましくは50%、より好ましくは80%の細胞が、本明細書に記載される方法のいずれか1つに従って改変されている、前記集団に注目する。前記治療上有効な初代免疫細胞の集団は、本発明の通りに、少なくとも1種類の外来性遺伝子配列を、表6に列挙される遺伝子のうちの少なくとも1種類由来の内在性プロモーターの転写調節下に組み込んでいる免疫細胞を含む。

【0261】

そのような組成物または細胞の集団は、そのため、その必要がある患者において、薬剤として；特にがんを処置するため、特にリンパ腫の処置のために用いられ得るが、固形腫瘍、例えば、黒色腫、神経芽腫、神経膠腫、または癌腫、例えば、肺、乳、結腸、前立腺、もしくは卵巣の腫瘍のためにも用いられ得る。

【0262】

本発明は、より詳細には、単一のドナーを起源とする初代TCR陰性T細胞の集団であって、該集団における少なくとも20%、好ましくは30%、より好ましくは50%の細胞が、少なくとも2種類の、好ましくは3種類の異なる遺伝子座において配列特異的試薬を用いて改変されている、前記集団に注目する。

10

20

30

40

50

【0263】

別の局面において、本発明は、その必要がある患者を処置するための方法であって、以下の工程のうちの少なくとも1つを含む、前記方法に依拠する：

- (a) 患者の腫瘍生検の表面に存在する特異的抗原マーカーを決定する工程；
- (b) 該特異的抗原マーカーに向けられたCARを発現する、以前に記載された本発明の方法のうちの1つによって操作された、操作された初代免疫細胞の集団を提供する工程；
- (c) 操作された初代免疫細胞の該操作された集団を、該患者に投与する工程。

【0264】

概して、該細胞の集団は、主に、CD4およびCD8陽性免疫細胞、例えばT細胞を含み、これらは、堅牢なインビボT細胞増大を受けることができ、インビトロおよびインビボで長期の時間にわたって残存することができる。 10

【0265】

本発明による操作された初代免疫細胞を含む処置は、寛解的、治癒的、または予防的であることができる。これは、自己免疫療法の一部、または同種異系免疫療法処置の一部のいずれかであってもよい。自己とは、患者を処置するために用いられる細胞、細胞株、または細胞の集団が、該患者またはヒト白血球抗原（HLA）適合性ドナーを起源とすることを意味する。同種異系とは、患者を処置するために用いられる細胞または細胞の集団が、該患者ではなくドナーを起源とすることを意味する。

【0266】

別の態様において、本発明による前記単離された細胞または該単離された細胞に由来する細胞株を、液性腫瘍、および好ましくはT細胞急性リンパ芽球性白血病の処置のために用いることができる。 20

【0267】

成人の腫瘍/がんおよび小児の腫瘍/がんが、同様に含まれる。

【0268】

本発明による操作された免疫細胞での処置は、抗体療法、化学療法、サイトカイン療法、樹状細胞療法、遺伝子治療、ホルモン療法、レーザー光治療、および放射線療法の群から選択される、がんに対する1種類または複数種類の治療法と組み合わせられてもよい。

【0269】

本発明の好ましい態様によると、前記処置は、免疫抑制処置を受けている患者中に施すことができる。実際に、本発明は、好ましくは、少なくとも1種類の免疫抑制剤に対して、そのような免疫抑制剤に対する受容体をコードする遺伝子の不活性化のために耐性にされている、細胞または細胞の集団に依拠する。本局面において、免疫抑制処置は、患者内での本発明によるT細胞の選択および増大を助けるはずである。 30

【0270】

本発明による細胞または細胞の集団の投与は、エアロゾル吸入、注射、経口摂取、輸注、埋め込み、または移植によるものを含む、任意の便利な様式において実施されてもよい。本明細書に記載される組成物は、患者に対して、皮下に、皮内に、腫瘍内に、結節内に、髄内に、筋肉内に、静脈内もしくはリンパ内注射によって、または腹腔内に投与されてもよい。1つの態様において、本発明の細胞組成物は、好ましくは、静脈内注射によって投与される。 40

【0271】

細胞または細胞の集団の投与は、その範囲内のすべての整数値の細胞数を含む、1kg体重あたり $10^4 \sim 10^9$ 細胞、好ましくは、 $10^5 \sim 10^6$ 細胞/kg体重の投与からなることができる。本発明は、従って、単一のドナーまたは患者の試料採取を起源とする $10^6 \sim 10^8$ 個の遺伝子編集細胞を含む、10よりも多い、概括的には50よりも多い、より概括的には100よりも多い、および通常は1000よりも多い用量を提供することができる。

【0272】

細胞または細胞の集団は、1または複数の用量において投与することができる。別の態様において、前記有効量の細胞は、単一用量として投与される。別の態様において、前記 50

有効量の細胞は、ある期間にわたって1よりも多い用量として投与される。投与のタイミングは、管理する医師の判断の範囲内であり、患者の臨床状態に依存する。細胞または細胞の集団は、血液バンクまたはドナーなどの任意の供給源から得られてもよい。個々の必要性は変わるが、特定の疾患または状態についての所与の細胞タイプの有効量の最適範囲の決定は、当技術分野の技能内である。有効量とは、治療的または予防的な有益性を提供する量を意味する。投与される投薬量は、レシピエントの年齢、健康、および体重、もしあれば同時処置の種類、処置の頻度、ならびに所望の効果の性質に依存することになる。

【0273】

別の態様において、前記有効量の細胞またはそれらの細胞を含む組成物は、非経口的に投与される。前記投与は、静脈内投与であることができる。前記投与は、腫瘍内の注射によって直接行うことができる。 10

【0274】

本発明のある特定の態様において、細胞は、抗ウイルス療法、シドフォビルおよびインターロイキン-2、シタラピン(ARA-Cとしても公知である)などの作用物質での処置、またはMS患者のためのナタリジマブ(natalizumab)処置、または乾癬患者のためのエファリズチマブ(efalizumab)処置、またはPML患者のための他の処置を含むがそれらに限定されない、任意の数の関連性のある処置様式と組み合わせて(例えば、前に、同時に、または後に)、患者に投与される。さらなる態様において、本発明のT細胞は、化学療法、放射線、免疫抑制剤、例えば、シクロスポリン、アザチオプリン、メトトレキサート、ミコフェノラート、およびFK506、抗体、または他の免疫除去(immunosuppressive)剤、例えば、CAMPATH、抗CD3抗体、もしくは他の抗体療法、cytotoxic、フルダリピン(fludarabine)、シクロスポリン、FK506、ラパマイシン、ミコフェノール酸、ステロイド、FR901228、サイトカイン、および放射線と組み合わせて用いられてもよい。これらの薬物は、カルシウム依存性ホスファターゼであるカルシニューリンを阻害する(シクロスポリンおよびFK506)か、または成長因子誘導性シグナル伝達に重要なp70S6キナーゼを阻害する(ラパマイシン)かのいずれかである。さらなる態様において、本発明の細胞組成物は、骨髄移植;化学療法剤、例えば、フルダラビン、体外照射療法(XRT)、シクロホスファミド、または、OKT3もしくはCAMPATHなどの抗体のいずれかをを用いたT細胞除去療法と組み合わせて(例えば、前に、同時に、または後に)、患者に投与される。別の態様において、本発明の細胞組成物は、B細胞除去療法、例えば、CD20と反応する作用物質、例えばRituxanの後に投与される。例えば、1つの態様において、対象は、高用量化学療法での標準的処置、およびその後の末梢血幹細胞移植を受けてもよい。ある特定の態様において、移植後に、対象は、本発明の増大した免疫細胞の注入を受ける。追加的な態様において、増大した細胞は、手術の前または後に投与される。 20 30

【0275】

CARが、本発明による免疫細胞または免疫細胞の集団において発現する場合、好ましいCARは、CD22、CD38、CD123、CS1、HSP70、ROR1、GD3、およびCLL1から選択される少なくとも1種類の抗原を標的とするものである。 40

【0276】

CD22を標的とするCARまたは改変TCRを与えられた本発明による操作された免疫細胞は、好ましくは、急性リンパ芽球性白血病(ALL)などの白血病を処置するために用いられ、CD38を標的とするCARまたは改変TCRを与えられたものは、好ましくは、T細胞急性リンパ芽球性白血病(T-ALL)または多発性骨髄腫(MM)などの白血病を処置するために用いられ、CD123を標的とするCARまたは改変TCRを与えられたものは、好ましくは、急性骨髄性白血病(AML)および芽球性形質細胞様樹状細胞新生物(BPDCN)などの白血病を処置するために用いられ、CS1を標的とするCARまたは改変TCRを与えられたものは、好ましくは、多発性骨髄腫(MM)を処置するために用いられる。 40

【0277】

本発明はまた、特に、SEQ ID NO:36~40によって表される任意の配列にハイブリダ 50

イズするプローブまたはプライマーを用いることにより、本明細書において言及される内在性遺伝子座、特に、PD1、CD25、CD69、TCR、および 2m 遺伝子座での外来性コード配列の挿入を検出するためのPCR法を用いる工程を実施することによって、所望の遺伝的挿入を含む本発明の操作された細胞を検出するための手段も包含する。

【0278】

CAR、GP130の操作された細胞による発現を検出するために、および、細胞におけるTCR、PD1、IL-6、またはIL-8の発現の欠如または低減を、そのような遺伝子がノックアウトされているまたはそれらの発現が低減している場合に確かめるために、免疫学的アッセイもまた行われてもよい。

【0279】

他の定義

ポリペプチド配列中のアミノ酸残基は、本明細書において1文字表記に従って称され、例えば、Qは、Glnまたはグルタミン残基を意味し、Rは、Argまたはアルギニン残基を意味し、Dは、Aspまたはアスパラギン酸残基を意味する。

【0280】

アミノ酸置換とは、1個のアミノ酸残基の別のものでの置き換えを意味し、例として、ペプチド配列中のアルギニン残基のグルタミン残基での置き換えは、アミノ酸置換である。

【0281】

ヌクレオチドは、以下のように称される：1文字表記が、ヌクレオチドの塩基を称するために用いられ：aはアデニンであり、tはチミンであり、cはシトシンであり、およびgはグアニンである。縮重ヌクレオチドについて、rはgまたはa（プリンヌクレオチド）を表し、kはgまたはtを表し、sはgまたはcを表し、wはaまたはtを表し、mはaまたはcを表し、yはtまたはc（ピリミジンヌクレオチド）を表し、dはg、a、またはtを表し、vはg、a、またはcを表し、bはg、t、またはcを表し、hはa、t、またはcを表し、およびnはg、a、t、またはcを表す。

【0282】

本明細書において用いられる場合、「核酸」または「ポリヌクレオチド」とは、ヌクレオチドおよび/またはポリヌクレオチド、例えば、デオキシリボ核酸（DNA）またはリボ核酸（RNA）、オリゴヌクレオチド、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）によって生成される断片、ならびに、ライゲーション、劈開、エンドヌクラーゼ作用、およびエキソヌクラーゼ作用のいずれかによって生成される断片を指す。核酸分子は、天然に存在するヌクレオチド（DNAおよびRNAなど）、または天然に存在するヌクレオチドの類似体（例えば、天然に存在するヌクレオチドの鏡像体型）、または両方の組み合わせである単量体から構成され得る。修飾ヌクレオチドは、糖部分に、および/またはピリミジンもしくはプリン塩基部分に変更を有することができる。糖修飾は、例えば、1個もしくは複数個のヒドロキシル基のハロゲン、アルキル基、アミン、およびアジド基での置き換えを含み、または、糖をエーテルもしくはエステルとして官能基化することができる。さらに、糖部分全体を、立体的および電子的に類似した構造、例えば、アザ糖および炭素環式糖類似体で置き換えることができる。塩基部分における修飾の例は、アルキル化プリンおよびピリミジン、アシル化プリンもしくはピリミジン、または他の周知の複素環式置換物を含む。核酸単量体は、ホスホジエステル結合またはそのような連結の類似物によって連結することができる。核酸は、一本鎖または二本鎖のいずれかであることができる。

【0283】

「エンドヌクラーゼ」という用語は、DNAまたはRNA分子、好ましくはDNA分子内の核酸間の結合の加水分解（切断）を触媒することができる任意の野生型またはバリエーションの酵素を指す。エンドヌクラーゼは、DNAまたはRNA分子を、その配列と無関係には切断しないが、「標的配列」または「標的部位」とさらに呼ばれる特異的なポリヌクレオチド配列でDNAまたはRNA分子を認識して切断する。エンドヌクラーゼは、典型的には長さが10塩基対（bp）よりも長い、より好ましくは14～55 bpのポリヌクレオチ

10

20

30

40

50

ド認識部位を有する場合に、低頻度切断エンドヌクレアーゼとして分類することができる。低頻度切断エンドヌクレアーゼは、定義された遺伝子座にDNA二本鎖切断(DSB)を導入することにより相同組換えを有意に増加させ、それによって、遺伝子修復または遺伝子挿入療法を可能にする(Pingoud, A. and G. H. Silva (2007). Precision genome surgery. Nat. Biotechnol. 25(7): 743-4.)。

【0284】

「DNA標的」、「DNA標的配列」、「標的DNA配列」、「核酸標的配列」、「標的配列」、または「プロセッシング部位」とは、本発明による低頻度切断エンドヌクレアーゼによって標的とされ、プロセッシングされることができるポリヌクレオチド配列を意図する。これらの用語は、特異的なDNAの位置、好ましくは細胞におけるゲノム上の位置を指すが、遺伝物質の本体から独立して存在することができる遺伝物質の一部分、例えば、プラスミド、エピソーム、ウイルス、トランスポゾン、または、非限定的な例としてミトコンドリアなどのオルガネラ中のものも指す。RNAガイド標的配列の非限定的な例は、RNAガイドエンドヌクレアーゼを所望の遺伝子座に向けるガイドRNAにハイブリダイズすることができるそれらのゲノム配列である。

10

【0285】

「変異」とは、ポリヌクレオチド(cDNA、遺伝子)またはポリペプチド配列中の最大で1個、2個、3個、4個、5個、6個、7個、8個、9個、10個、11個、12個、13個、14個、15個、20個、25個、30個、40個、50個、またはそれよりも多いヌクレオチド/アミノ酸の置換、欠失、挿入を意図する。変異は、遺伝子のコード配列またはその調節配列に影響を及ぼすことができる。また、ゲノム配列の構造またはコードされるmRNAの構造/安定性にも影響を及ぼし得る。

20

【0286】

「ベクター」とは、それに連結されている別の核酸を輸送することができる核酸分子を意味する。本発明における「ベクター」は、ウイルスベクター、プラスミド、RNAベクター、または、染色体性、非染色体性、半合成、もしくは合成の核酸からなってもよい、直鎖状もしくは環状のDNAもしくはRNA分子を含むが、それらに限定されない。好ましいベクターは、自己複製が可能であるもの(エピソーマルベクター)、および/またはそれに連結されている核酸の発現が可能であるもの(発現ベクター)である。数多くの適しているベクターが、当業者に公知であり、かつ市販されている。ウイルスベクターには、レトロウイルス、アデノウイルス、パルボウイルス(例えば、アデノ随伴ウイルス(AAV))、コロナウイルス、オルトミクソウイルス(例えば、インフルエンザウイルス)などのマイナス鎖RNAウイルス、ラブドウイルス(例えば、狂犬病および水疱性口内炎ウイルス)、パラミクソウイルス(例えば、麻疹およびセンダイ)、ピコルナウイルスおよびアルファウイルスなどのプラス鎖RNAウイルス、ならびに、アデノウイルス、ヘルペスウイルス(例えば、単純ヘルペスウイルス1型および2型、エプスタイン・バーウイルス、サイトメガロウイルス)、およびポックスウイルス(例えば、ワクシニア、鶏痘、およびカナリアポックス)を含む二本鎖DNAウイルスが含まれる。他のウイルスには、例えば、ノーウォークウイルス、トガウイルス、フラビウイルス、レオウイルス、パポバウイルス、ヘパドナウイルス、および肝炎ウイルスが含まれる。レトロウイルスの例には、トリ白血病肉腫、哺乳動物C型、B型ウイルス、D型ウイルス、HTLV-BLVグループ、レンチウイルス、スプーマウイルスが含まれる(Coffin, J. M., Retroviridae: The viruses and their replication, In Fundamental Virology, Third Edition, B. N. Fields, et al., Eds., Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1996)。

30

40

【0287】

本明細書において用いられる場合、「遺伝子座」という用語は、ゲノム中の(例えば、遺伝子の)DNA配列の特異的な物理的位置である。「遺伝子座」という用語は、染色体上のまたは感染物質のゲノム配列上の、低頻度切断エンドヌクレアーゼ標的配列の特異的な物理的位置を指すことができる。そのような遺伝子座は、本発明による配列特異的エンドヌクレアーゼによって認識され、かつ/または切断される標的配列を含むことができる

50

。本発明の関心対象の遺伝子座は、細胞の遺伝物質の本体に（すなわち、染色体に）存在する核酸配列だけではなく、該遺伝物質の本体から独立して存在することができる遺伝物質の一部分、例えば、プラスミド、エピソーム、ウイルス、トランスポゾン、または、非限定的な例としてミトコンドリアなどのオルガネラ中のものが適格となり得ることが理解される。

【0288】

「切断」という用語は、ポリヌクレオチドの共有結合性骨格の破損を指す。切断は、ホスホジエステル結合の酵素的または化学的な加水分解を含むがそれらに限定されない、様々な方法によって開始され得る。一本鎖切断および二本鎖切断の両方が可能であり、二本鎖切断は、2つの別個の一本鎖切断事象の結果として起こり得る。二本鎖DNA、RNA、またはDNA/RNAハイブリッドの切断は、平滑末端または付着末端のいずれかの産生を結果としてもたらすことができる。

10

【0289】

「同一性」とは、2つの核酸分子またはポリヌクレオチドの間の配列同一性を指す。同一性は、比較の目的で整列させてもよい各配列における位置を比較することによって、決定することができる。比較される配列における位置が、同じ塩基によって占められる場合、その時分子は、その位置で同一である。核酸またはアミノ酸の配列間の類似性または同一性の程度は、核酸配列によって共有される位置の同一のまたは一致するヌクレオチドの数の関数である。GCG配列解析パッケージ（University of Wisconsin, Madison, Wis.）の一部として利用可能であり、例えばデフォルト設定で用いることができるFAS TAまたはBLASTを含む、種々のアラインメントアルゴリズムおよび/またはプログラムが、2つの配列間の同一性を計算するために用いられてもよい。例えば、本明細書に記載される特定のポリペプチドに対して少なくとも70%、85%、90%、95%、98%、または99%の同一性を有し、かつ好ましくは実質的に同じ機能を呈するポリペプチド、ならびにそのようなポリペプチドをコードするポリヌクレオチドが、企図される。

20

【0290】

本明細書において用いられる「対象」または「患者」という用語は、非ヒト霊長類およびヒトを含む、動物界のすべてのメンバーを含む。

【0291】

本発明の上記の説明は、当業者が同一物を作製し、使用することが可能であるように、それを作製し、使用する様式およびプロセスを提供し、この実施可能性は、特に、元の説明の一部を作り上げる添付の特許請求の範囲の主題のために提供される。

30

【0292】

数値的限定または範囲が本明細書において述べられる場合、終点が含まれる。また、数値的限定または範囲内のすべての値および部分範囲は、あたかも明示的に完全に書かれているように具体的に含まれる。

【0293】

本発明を概括的に説明してきたが、例証の目的だけで本明細書において提供され、特許請求される発明の範囲を限定するようには意図されていない特定の具体例を参照することによって、さらなる理解を得ることができる。

40

【実施例】

【0294】

実施例1：内在性遺伝子のロックアウトを伴う、内在性プロモーターの制御下の種々の遺伝子座でのヒト初代T細胞におけるAAV駆動相同組換え
序文

配列特異的エンドヌクレアーゼ試薬、例えば、TALEN（登録商標）（Cellestis, 8 rue de la Croix Jarry, 75013 PARIS）は、所望の遺伝子座でのゲノムにおける二本鎖切断（DSB）の部位特異的導入を可能にする。細胞酵素によるDSBの修復は、主に、2つの経路：非相同末端結合（NHEJ）および相同性指向修復（HDR）を通して起こる。HDRは、DNAの相同な片（鋳型DNA）を用いて、組換えによりDSBを修復し、鋳型DNA

50

に含まれる任意の遺伝子配列を導入するために用いられ得る。その中で示されるように、前記鋳型DNAは、部位特異的DSBを導入するために、操作されたヌクレアーゼ、例えばTALEN（登録商標）と共に組換えアデノ随伴ウイルス（rAAV）によって送達され得る。

【0295】

組込みマトリックスの設計

1.1. 内在性PD1遺伝子コード配列のノックアウトを伴う、上方制御される遺伝子座におけるアポトーシスCARの挿入

TALEN標的部位の位置を、標的とされる内在性PDCD1遺伝子（PD1と呼ばれるプログラム細胞死タンパク質1 - Uniprot # Q15116）に位置するように設計している。TALEN標的の1000 bp上流および下流を包含する配列を、SEQ ID NO.1およびSEQ ID NO.2に示す。TALEN（SEQ ID: SEQ ID NO.3およびNO.4）の標的配列を、SEQ ID NO.5に示す。組込みマトリックスを、TALEN部位の内在性遺伝子上流に相同な配列（300 bp）（SEQ ID NO.1）、その後の2A調節エレメント（SEQ ID NO.6）、その後の開始コドンに伴わないアポトーシス誘導CARをコードする配列（SEQ ID NO.7）、その後の終止コドン（TAG）、その後のポリアデニル化配列（SEQ ID NO.8）、その後のTALEN部位の内在性遺伝子下流に相同な配列（1000 bp）（SEQ ID NO.2）から構成されるように設計する。挿入マトリックスを、続いて、プロモーターのないrAAVベクター中にクローニングして、AAV6を産生するために用いる。

【0296】

1.2 内在性遺伝子のノックアウトを伴う、上方制御される遺伝子座におけるインターロイキンの挿入

TALEN標的部位の位置を、標的とされる内在性PDCD1遺伝子（プログラム細胞死タンパク質1、PD1）に位置するように設計する。TALEN標的の1000 bp上流および下流を包含する配列を、SEQ ID NO.1およびSEQ ID NO.2に示す。TALEN（SEQ ID: SEQ ID NO.3およびNO.4）の標的配列を、SEQ ID NO.5に示す。組込みマトリックスを、TALEN部位の内在性遺伝子上流に相同な配列（300 bp）（SEQ ID NO.1）、その後の2A調節エレメント（SEQ ID NO.6）、その後の操作された一本鎖のヒトIL-12 p35（SEQ ID NO.9）およびp40（SEQ ID NO.10）サブユニット融合タンパク質をコードする配列、その後の終止コドン（TAG）、その後のポリアデニル化配列（SEQ ID NO.8）、その後のTALEN部位の内在性遺伝子下流に相同な配列（1000 bp）（SEQ ID NO.2）から構成されるように設計する。挿入マトリックスを、続いて、プロモーターのないrAAVベクター中にクローニングして、AAV6を産生するために用いる。

【0297】

1.3 内在性遺伝子のノックアウトを伴わない、弱く発現する遺伝子座におけるアポトーシスCARの挿入 N末端挿入

TALEN標的部位の位置を、標的とされる内在性LCK遺伝子（LCK、LCKプロトオンコジーン、Srcファミリーチロシンキナーゼ [ホモ・サピエンス（ヒト）]）の開始コドンのできるだけ近くに位置するように設計する。開始コドンの1000 bp上流および下流を包含する配列を、SEQ ID NO.11およびSEQ ID NO.12に示す。組込みマトリックスを、開始コドンの内在性遺伝子上流に相同な配列（1000 bp）、その後の開始コドンを含むアポトーシス誘導CARをコードする配列（SEQ ID NO.13）、その後の2A調節エレメント（SEQ ID NO.8）、その後の開始コドンの内在性遺伝子下流に相同な配列（1000 bp）（SEQ ID NO.12）から構成されるように設計する。挿入マトリックスを、続いて、プロモーターのないrAAVベクター中にクローニングして、AAV6を産生するために用いる。

【0298】

1.4 内在性遺伝子のノックアウトを伴わない、弱く発現する遺伝子座におけるアポトーシスCARの挿入 C末端挿入

TALEN標的部位の位置を、標的とされる内在性LCK遺伝子（LCK、LCKプロトオンコジーン、Srcファミリーチロシンキナーゼ [ホモ・サピエンス（ヒト）]）の終止コドン

のできるだけ近くに位置するように設計する。終止コドンの1000 bp上流および下流を包含する配列を、SEQ ID NO.14およびSEQ ID NO.15に示す。組込みマトリックスを、終止コドンの内在性遺伝子上流に相同な配列(1000 bp)、その後の2A調節エレメント(SEQ ID NO.8)、その後の開始コドンを有さないアポトーシス誘導CARをコードする配列(SEQ ID NO.7)、その後の終止コドン(TAG)、その後の終止コドンの内在性遺伝子下流に相同な配列(1000 bp)(SEQ ID NO.15)から構成されるように設計する。挿入マトリックスを、続いて、プロモーターのないrAAVベクター中にクローニングして、AAV6を産生するために用いる。

【0299】

形質導入細胞における配列特異的ヌクレアーゼ試薬の発現

10

TALEN(登録商標)mRNAを、mMessage mMachine T7 Ultraキット(Thermo Fisher Scientific, Grand Island, NY)を用いて、各TALENがT7プロモーターの下流にクローニングされるように合成し、RNeasyカラム(Qiagen, Valencia, CA)を用いて精製して、「cytoporation medium T」(Harvard Apparatus, Holliston, MA)において溶出する。ヒトT細胞を、ALLCELLS(Alameda, CA)によって提供される末梢全血から、20 ng/mlヒトIL-2(Miltenyi Biotech, San Diego, CA)、5%ヒトAB血清(Gemini Bio-Products, West San Francisco, CA)、および1:1のビーズ:細胞比のDynabeads Human T-activator CD3/CD28(Thermo Fisher Scientific, Grand Island, NY)を補給したX-Vivo-15培地(Lonza, Basel, Switzerland)において収集し、活性化する。ビーズを3日後に取り除き、 5×10^6 細胞に2種類の妥当なTALEN(登録商標)の各々の10 µg mRNAを、Cytopulse(BTX Harvard Apparatus, Holliston, MA)を用いて、0.4 cm間隙のキュベット中で200 µlの「cytoporation medium T」(BTX Harvard Apparatus, Holliston, Massachusetts)の最終体積において、3,000 V/cmでの2回の0.1 mSパルス、およびその後の325 V/cmでの4回の0.2 mSパルスを印加することによってエレクトロポレーションする。細胞を直ちに、20 ng/mL IL-2を含むX-Vivo-15培地に希釈し、37 °C、5% CO₂でインキュベートする。2時間後、細胞を、1細胞あたり 3×10^5 ウイルスゲノム(vg)のAAV6粒子とインキュベートする(37 °C、16時間)。細胞を、それぞれの挿入された遺伝子配列の発現についてフローサイトメトリーによって検討するまで、5%ヒトAB血清および20 ng/mL IL-2を補給したX-Vivo-15培地において継代し、維持する。

20

30

【0300】

(表4)実施例1において言及される配列

40

50

配列名	参照配列	ポリヌクレオチドまたはポリペプチド配列	
PD1 左 相同性	SEQ ID NO.1	<p>CCAAGCCCTGACCCTGGCAGGCATATGTTTCAGGAGGTCCTTGTCTTGGGA GCCCAGGGTCGGGGGCCCCCGTGTCTGTCCACATCCGAGTCAATGGCCCAT CTCGTCTCTGAAGCATCTTTGCTGTGAGCTCTAGTCCCCACTGTCTTGCTGG AAAATGTGGAGGCCCACTGCCACTGCCAGGGCAGCAATGCCATAACC ACGTGGTCCCAGCTCCGAGCTTGTCTGAAAAGGGGGCAAAGACTGGACC CTGAGCCTGCCAAGGGGCCACACTCCTCCAGGGCTGGGGTCTCCATGGG CAGCCCCCACCACCCAGACCAAGTTACACTCCCTGTGCCAGAGCAGTGC AGACAGGACCAGGCCAGGATGCCAAGGGTCAGGGGCTGGGGATGGGT AGCCCCAAACAGCCCTTTCTGGGGAACTGGCCTCAACGGGGAAAGGGG GTGAAGGCTCTTAGTAGGAAATCAGGGAGACCCAAGTCAGAGCCAGGTG CTGTGCAGAAGCTGCAGCCTCACGTAGAAGGAAGAGGCTCTGCAGTGG GGCCAGTGCCCATCCCCGGGTGGCAGAGGCCCCAGCAGAGACTTCTCAAT GACATCCAGCTGGGGTGGCCCTTCCAGAGCCCTTGTGCCGAGGGATG TGAGCAGGTGGCCGGGAGGCTTTGTGGGGCCACCCAGCCCTTCTCAC CTCTCTCATCTCTCAGACTCCCCAGACAGGCCCTGGAACCCCCCACCTC TCCCCAGCCCTGCTCGTGGTGACCGAAGGGGACAACGCCACCTTCACTGC AGCTTCTCCAACACATCGGAGAGCTTCTGTGCTAAACTGGTACCGCATGAGC CCCAGCAACCAGACGGACAAGCTGGCCGCTTCCCCGAGGACCGCAGCCA GCCCCGGCCAGGACTGCCGCTTCCGTGTACACAACCTGCCAACGGGCGTG ACTTCCACATGAGCGTGGTCAAGGGCCCGCGCAATGACAGCGGCACC</p>	10
PD1 右 相同性	SEQ ID NO.2	<p>GCCTGCGGGCAGAGCTCAGGGTGACAGGTGCGGCCTCGGAGGCCCGGG GCAGGGGTGAGCTGAGCCGGTCTGGGGTGGGTGTCCCTCTGCACAG GATCAGGAGCTCCAGGGTCTGAGGGCAGGGACCCCCAGTCCAGTCCAG GGCTCTGTCTGCACCTGGGGAATGGTGACCGCATCTCTGTCTTAGCT CTGGAAGCACCCAGCCCTTAGTCTGCCTCACCCCTGACCTGACCCCTC CACCTGACCCCGTCTAACCCCTGACCTTTGTGCCCTTCCAGAGAGAAGG GCAGAAGTGCCACAGCCACCCAGCCCTCACCCAGGCCAGCCGGCCA GTTCCAAACCTGGTGGTGGTGTCTGTGGGCGCCTGCTGGGACGCTGG TGCTGTAGTCTGGGTCTGGCCGTCTGTCTCCCGGGCCGACAGGTA ACGTATCCAGCCCTCGGCTGCCCTGCCCTAACCTGCTGGCGGCCCT CACTCCCGCTCCCTTCTCCACCTTCCCTCACCCACCCACCTCCCCC ATCTCCCGCCAGGCTAAGTCCCTGATGAAGGCCCTGGACTAAGACCCC CACCTAGGAGCACGGCTCAGGGTGGCCTGGTGACCCCAAGTGTGTTCT CTGCAGGACAATAGGAGCCAGGCGCACCGGCCAGCCCCTGGTGTGCTC ACTTTTTCTGCATGATCCACTGTGCCTTCTTCTGGGTGGGACAGGTT GGAAGGACAGGCTGGGACCACGGCCTGCAGGACTCACATTCTATTATA GCCAGGACCCACCTCCCCAGCCCCAGGCAGCAACCTCAATCCCTAAAGC CATGATCTGGGGCCCCAGCCACCTGCGGTCTCCGGGGTGGCCGGCCCA TGTGTGTGCCTGCGGTCTCCAGGGGTGCTGGCCACGCGTGTGCC CGCTGCGGTCTTGGGGGTGCCCGGCCACATATGTGCC</p>	20
PD1_T3C-L2	SEQ ID NO.3	<p>ATGGGCGATCCTAAAAAGAAACGTAAGGTCATCGATATCGCCGATCTACG CACGCTCGGCTACAGCCAGCAGCAACAGGAGAAGATCAAACCGAAGGTTT GTTTCGACAGTGGCGCAGCACACGAGGCACTGGTGGCCACGGGTTTACA CACGCGCACATCGTTGCGTTAAGCCAACACCCGGCAGCGTTAGGGACCGT CGCTGTCAAGTATCAGGACATGATCGCAGCGTTGCCAGAGGCGACACAG AAGCGATCGTTGGCGTGGCAACAGTGGTCCGGCGCACGCGCTCTGGA GGCCTTGCTCACGGTGGCGGGAGATTGAGAGGTCCACCGTTACAGTTGG</p>	30
			40

	<p>ACACAGGCCAACTTCTCAAGATTGCAAAACGTGGCGGCGTGACCGCAGTG GAGGCAGTGCATGCATGGCGCAATGCACTGACGGGTGCCCGCTCAACTT GACCCCGAGCAAGTGGTGGCTATCGCTTCCAAGCTGGGGGAAAGCAG GCCCTGGAGACCGTCCAGGCCCTTCTCCAGTGCTTTGCCAGGCTCACGGA CTGACCCCTGAACAGGTGGTGGCAATTGCCTCACACGACGGGGCAAGCA GGCACTGGAGACTGTCCAGCGGCTGCTGCCTGTCTTCCAGGCCACG GACTCACTCTGAGCAGGTGCTGGCCATTGCCAGCCACGATGGGGGCAAA CAGGCTCTGGAGACCGTGCAGCGCCTCTCCAGTGCTGTGCCAGGCTCAT GGGCTGACCCACAGCAGGTCGTCGCCATTGCCAGTAACGGCGGGGGGA AGCAGGCCCTCGAAACAGTGCAGAGGCTGCTGCCGTCTTGTGCCAAGCA CACGGCTGACACCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCTCTCATGACGGCGG CAAGCAGGCCCTTGAGACAGTGCAGAGACTGTTGCCCGTGTGTGTCAGG CCCACGGGTTGACACCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGG GGAAAGCAGGCCCTTGAGACCGTGCAGCGGTTGCTTCCAGTGTTGTGCCA GGCACACGGACTGACCCCTAACAGGTGGTGCATCGCCAGCTACAAGG GCGGAAAGCAGGCTCTGGAGACAGTGCAGCGCCTCTGCCGTGCTGTGT CAGGCTCACGGACTGACACCACAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGTAACGG GGGCGGCAAGCAGGCTTTGGAGACCGTCCAGAGACTCTCCCGTCTTT GCCAGGCCACGGGTTGACACCTCAGCAGGTGTCGCCATTGCCTCAAC AACGGGGCAAGCAGGCCCTCGAAACTGTGCAGAGGCTGCTGCCTGTGCT GTGCCAGGCTCATGGGCTGACACCCAGCAGGTGGTGGCCATTGCCTTA ACAACGGCGGCAACAGGCACTGGAGACCGTGCAAAGGCTGCTGCCGT CCTCTGCCAAGCCACGGGCTCACTCCACAGCAGGTGTCGCCATCGCCTC AAACAATGGCGGGAAGCAGGCCCTGGAGACTGTGCAAGGCTGCTCCCT GTGCTCTGCCAGGCACACGGACTGACCCCTCAGCAGGTGGTGGCAATCGC TTCCAACAACGGGGAAAGCAGGCCCTCGAAACCGTGCAGCGCCTCTCC CAGTGCTGTGCCAGGCACATGGCCTCACACCCGAGCAAGTGGTGGCTATC GCCAGCCACGACGGAGGGAAGCAGGCTCTGGAGACCGTGCAGAGGCTGC TGCCTGTCTGTGCCAGGCCACGGGCTTACTCCAGAGCAGGTGTCGCCA TCGCCAGTCATGATGGGGGAAGCAGGCCCTTGAGACAGTCCAGCGGCT GCTGCCAGTCCTTTGCCAGGCTCACGGCTTACTCCGAGCAGGTGTCGGC CATTGCCTCAAACATTGGGGGCAACAGGCCCTGGAGACAGTGCAGGCC TGCTGCCGTGTTGTGTGTCAGGCCACGGCTTACACCCAGCAGGTGGTC GCCATTGCCTCTAATGGCGGCGGAGACCCGCTTGAGAGCATTGTTGC CCAGTTATCTCGCCCTGATCCGGCGTTGGCCGCTTGACCAACGACCCT CGTCGCCTTGGCCTGCCTCGGCGGGCGTCTGCGCTGGATGCAGTGAAAA AGGGATTGGGGGATCCTATCAGCCGTTCCAGCTGGTGAAGTCCGAGCTG GAGGAGAAGAAATCCGAGTTGAGGCACAAGCTGAAGTACGTGCCCCACG AGTACATCGAGCTGATCGAGATCGCCCGAACAGCACCCAGGACCGTATC CTGGAGATGAAGGTGATGGAGTTCTTCATGAAGGTGTACGGCTACAGGG GCAAGCACCTGGGCGGCTCCAGGAAGCCGACGGCGCCATCTACACCGTG GGCTCCCCATCGACTACGGCGTATCGTGGACACCAAGGCCTACTCCGG CGGCTACAACCTGCCATCGCCAGGCCGACGAAATGCAGAGGTACGTGG AGGAGAACCAGACCAGGAACAAGCACATCAACCCCAACAGTGGTGGAA GGTGTACCCCTCCAGCGTACCGAGTTCAAGTTCCTGTTCTGTCCGGCCA CTTCAAGGGCAACTACAAGGCCAGCTGACCCAGGCTGAACACATACCA ACTGCAACGGCGCCGTGCTGTCCGTGGAGGAGCTCCTGATCGGGCGGA GATGATCAAGGCCGGCACCCCTGACCTGGAGGAGGTGAGGAGGAAGTTC</p>
--	--

10

20

30

40

		AACAAACGGCGAGATCAACTTCGCGGCCGACTGATAA
PD1T3R	SEQ ID NO.4	<p>ATGGGCGATCCTAAAAAGAAACGTAAGGTCATCGATATCGCCGATCTACG CACGCTCGGCTACAGCCAGCAGCAACAGGAGAAGATCAAACCGAAGGTTT GTTTCGACAGTGGCGCAGCACCAGGCACTGGTTCGGCCACGGTTTACA CACGCGCACATCGTTGCGTTAAGCCAACACCCGGCAGCGTTAGGGACCGT CGCTGTCAAGTATCAGGACATGATCGCAGCGTTGCCAGAGGCGACACAG AAGCGATCGTTGGCGTCGGCAAACAGTGGTCCGGCGCACGCGCTCTGGA GGCCTTGCTCACGGTGGCGGGAGAGTTGAGAGGTCACCCGTTACAGTTGG ACACAGGCCAACTTCTCAAGATTGCAAAACGTGGCGGCGTGACCCGAGTG GAGGCAGTGATGCATGGCGCAATGACTGACGGGTGCCCCGCTCAACTT GACCCCGAGCAAGTCTGCGCAATCGCCAGCCATGATGGAGGGAAGCAA GCCCTCGAAACCGTGACGCGGTTGCTTCTGTGCTTCCAGGCCACGCGC CTTACCCTCAGCAGGTGGTGGCCATCGCAAGTAACGGAGGAGGAAAGCA AGCCTTGAGACAGTGACGCGCCTGTTGCCGTGCTGTGCCAGGCACACG GCCTCACACCAGAGCAGGTCTGCGCCATTGCCTCCATGACGGGGGAA CAGGCTCTGGAGACCGTCCAGAGGCTGCTGCCGTCTCTGTCAAGTCAC GGCCTGACTCCCCAACAAAGTGGTCCCATCGCCTAATGGCGCGGGAA GCAGGCACTGGAACAAGTGCAGAGACTGCTCCCTGTCTTTGCCAAGCTC ATGGGTTGACCCCAACAGGTCGTGCTATTGCCTCAAACGGGGGGGGC AAGCAGGCCCTTGAGACTGTGCAGAGGCTGTTGCCAGTGTGTGTCAGGC TCACGGGCTCACTCCACAACAGGTGGTTCGCAATTGCCAGCAACGGCGGCG GAAAGCAAGCTCTTGAAACCGTGAACGCTCCTGCCGTGCTGTGTCAGG CTCATGGCTGACACCACAACAAGTCGTGGCCATCGCCAGTAATAATGGC GGGAAACAGGCTCTTGAGACCGTCCAGAGGCTGCTCCAGTGTCTGCCA GGCACACGGGCTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCTATCGCCAGCAATATTG GGGGCAAGCAGGCCCTGGAACAGTCCAGGCCCTGCTGCCAGTGTCTTGC CAGGCTCACGGGCTCACTCCCAGCAGGTCGTGGCAATCGCCTCAACGG CGGAGGGAAGCAGGCTCTGGAGACCGTGCAGAGACTGCTGCCGTCTTGT GCCAGGCCACGGACTCACACCTGAACAGGTCGTGCCATTGCCTCACG ATGGGGGCAAACAAGCCCTGGAGACAGTGCAGCGGCTGTTGCCTGTGTTG TGCCAAGCCACGGCTTGACTCCTCAACAAGTGGTCCCATCGCCTCAAAT GGCGCGGAAACAAGCTCTGGAGACAGTGCAGAGTTGCTGCCGTCC TCTGCCAAGCCACGGCTGACTCCCAACAGGTCGTGCCATTGCCAGCA ACAACGGAGGAAAGCAGGCTCTGAAACTGTGCAGCGGCTGCTTCTGTG CTGTGTGAGGCTCATGGGCTGACCCCGAGCAAGTGGTGGCTATTGCCCT AATGGAGGCAAGCAAGCCCTTGAGACAGTCCAGAGGCTGTTGCCAGTGT GTGCCAGGCCACGGGCTCACACCCAGCAGGTGGTCCCATCGCCAGTA ACAACGGGGGCAAACAGGCTTGAAACCGTCCAGCGCTGCTTCCAGTG CTCTGCCAGGCACACGGACTGACACCCGAACAGGTTGGTGGCCATTGCATC CCATGATGGGGGCAAGCAGGCCCTGGAGACCGTGCAGAGACTCCTGCCA GTGTTGTGCCAAGCTCACGGCCTCACCCCTCAGCAAGTGTGGCCATCGCC TCAAACGGGGGGGGCCGCTGACTGGAGAGCATTGTTGCCAGTTATC TCGCCCTGATCCGGCGTTGGCCGCTTGACCAACGACCACTCGTCCGCTT GGCCTGCCTCGGGGGCGTCTGCGCTGGATGCAGTAAAAAGGGATTG GGGGATCCTATCAGCCGTTCCAGCTGGTGAAGTCCGAGCTGGAGGAGAA GAAATCCGAGTTGAGGCACAAGCTGAAGTACGTGCCACAGTACATCG AGCTGATCGAGATCGCCCGAACAGCACCCAGGACCGTATCTGGAGATG AAGGTGATGGAGTTCTCATGAAGGTGTACGGCTACAGGGCAAGCACCT</p>
		10
		20
		30
		40

		GGGCGGCTCCAGGAAGCCCGACGGCCCATCTACACCGTGGGCTCCCCCA TCGACTACGGCGTGATCGTGGACCAAGGCCTACTCCGGCGGCTACAAC CTGCCATCGGCCAGGCCGACGAAATGCAGAGGTACGTGGAGGAGAACC AGACCAGGAACAAGCACATCAACCCCAACGAGTGGTGAAGGTGTACCCC TCCAGCGTGACCGAGTTCAAGTTCCTGTTCTGTCCGGCCACTTCAAGGGC AACTACAAGGCCAGCTGACCAGGCTGAACCACATCACCAACTGCAACGG CGCCGTGCTGCCGTGGAGGAGCTCCTGATCGGCGGCGAGATGATCAAG GCCGGCACCTGACCCTGGAGGAGGTGAGGAGGAAGTTCAACAACGGCG AGATCAACTTCGCGGCCGACTGATAA	
PD1-T3	SEQ ID NO.5	TACCTCTGTGGGGCCATCTCCCTGGCCCCCAAGGCGCAGATCAAAGAGA	10
2A-エレメント	SEQ ID NO.6	TCCGGTGAGGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGA ATCCGGGCCCC	
アポトーシスCAR (開始コドン を有さない)	SEQ ID NO.7	GCTTTCCTGCTCACTGCCTTGCTGCTTCCACTTGCTGTTGTTGCACGCCG CAAGACCCGAGGTCAAGCTCCAGGAAAGCGGACCCAGGGCTGGTGGCCCC TAGTCAGTCATTGAGCGTCACTTGACCGTCAGCGCGTGTCTCTGCCCGA TTACGGCGTGAGCTGGATCAGACAGCCCCAAGGAAGGGACTGGAGTGG CTGGGCGTCATCTGGGGGAGCGAGACTACCTACTACAACAGCGCCCTGAA GAGCAGGCTGACCATCATAAGGACAACCTCAAGTCCAGGTCTTTCTGAA AATGAACAGCCTGCAGACTGATGACTGCCATCTACTACTGCGCCAAGCA TTACTACTACGGGGGAGCTACGCTATGGACTACTGGGGCAGGGGACCT CTGTACAGTGTCAAGTGGCGGAGGAGCAAGTGCGGGAGGGGGAAGTG GGGGCGGGCAGCGACATCCAGATGACCCAGACAACATCCAGCCTCTCC GCCTCTGGGGCAGAGGTGACAATCAGCTGCCGGGCCAGTCAGGACAT CAGCAAGTATCTCAATTGGTACCAGCAGAAACCAGACGGGACAGTGAAAT TGCTGATCTACCACATCCAGGCTGCACTCAGGAGTCCCCAGCAGGTTTT CCGGCTCCGGCTCCGGGACAGATTACAGTCTGACATTTCCAACCTGGAGC AGGAGGATATTGCCACATACTTTTCCAGCAAGGCAACACTCTGCCCTATA CCTTCGGCGGAGGCACAAAACCTGGAGATTACTCGGTCCGATCCCGAGCCC AAATCTCCTGACAAAACCTCACACATGCCACCGTGCCAGCACCTCCCCTG GCCGGCCCGTCAGTGTTCCTTCCCCCAAAACCAAGGACACCTCATG ATCGCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGA GGACCCTGAGGTCAAGTTCAGTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCAT AATGCCAAGACAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCACGTACCGTG TGGTGAGCGTCTCACCGTCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAGGAG TACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAAGCCCTCCAGCCCCATCGAGAAAAC CATCTCCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAAACCAGGTGTACACCTGC CCCCATCCCGGGATGAGCTGACCAAGAACCCAGGTGACCTGACCTGCCTG GTCAAAGGCTTCTATCCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAATGG GCAACCGGAGAACAACACTACAAGACCAGCCTCCCGTGTGGACTCCGACG GCTCCTTCTTCTACAGCAAGCTCACCGTGGACAAGAGCAGGTGGCAGC AGGGGAACGTGTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAATCACT ATACCCAGAAATCTGAGTCTGAGCCCAGGCAAGAAGGATATTTGGGG TGGCTTTGCCCTTCTTTTGGCAATTCCACTAATTGTTGGGTGAAGAGAA AGGAAGTACAGAAAACATGCAGAAAGCACAGAAAGGAAAACCAAGGTT TCATGAATCTCCAACCTTAAATCCTGAAACAGTGGAATAAATTTATCTGAT GTTGACTTGAGTAAATATATCACCACTATTGCTGGAGTCATGACACTAAGT	20 30 40

		CAAGTTAAAGGCTTTGTTTCGAAAGAATGGTGTCAATGAAGCCAAAATAGA TGAGATCAAGAATGACAATGTCCAAGACACAGCAGAACAGAAAGTTCAAC TGCTTCGTAATTGGCATCAACTTCATGGAAAGAAAGAAGCGTATGACACAT TGATTGCAGATCTCAAAAAAGCCAATCTTTGACTCTTGACAGAGAAAATTC AGACTATCATCCTCAAGGACATTACTAGTACTCAGAAAATTCAAACTTCA GAAATGAAATCCAGAGCTTGGTCGAA	
BGH ポリア	SEQ ID NO.8	TCTAGAGGGCCCGTTTAAACCCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGT TGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCTCCCGCTGCCTTCCTTGACCTGGAAG GTGCCACTCCCACTGTCTTTCTAATAAAATGAGGAAATGCATCGCATT GTCTGAGTAGGTGCATTCTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAG CAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGT GGGCTCTATGACTAGTGGCAATTC	10
インターロイキン-12 サブユニット α	SEQ ID NO.9	MCPARSLLLVATLVLLDHLSLARNLPVATPDPMFPLHHSQNLLRAVSNML QKARQTLFYPCTSEEDHEDITKDKTSTVEACLPLELTKNESCLNSRETSFITNG SCLASRKTSMALCLSSIEDLKMVQVEFKTMNAKLLMDPKRQIFLDQNM AVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLILLHAFRIRAVTIDRVMSYL NAS	
インターロイキン-12 サブユニット β	SEQ ID NO.10	MCHQQLVISWFSLVFLASPLVAIWELKKDVVVELDWYDPAGEMVVLTCDT PEEDGITWLDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYCHKGGEVLSHLLLLHK KEDGIWSTDILKDQKEPKNKTFLRCEAKNYSGRFTCWLLTISTDLTFSVKSSR GSSDPQGVTCGAATLSAERVGRDNKEYEYSVEQCQDSACPAEESLPIEVMV DAVHKLKYENYTSFFIRDIIKPDPPKNLQKPLKNSRQVEVSWEPDWTWSTPH SYFSLTFCVQVQGKSKREKKDRVFTDKTSATVICRKNASISVRAQDRYSSWS EWASVPCS	20
Lck 左 相同性	SEQ ID NO.11	GGGATAGGGGGTGCCTCTGTGTGTGTGTGTGAGAGTGTGTGTGTAGG GTGTGTATATGTATAGGGTGTGTGTGAGTGTGTGTGTGTGAGAGAGTGTG TGTGTGGCAGAATAGACTGCGGAGGTGGATTTTCATCTTGATATGAAAGGT CTGGAATGCATGGTACATTAACCTTTGAGGACAGCGCTTTCCAAGCACTCT GAGGAGCAGCCCTAGAGAAGGAGGAGCTGCAGGGACTCCGGGGCTTCA AAGTGAGGGCCCCACTCTGCTCAGGCAAAACAGGCACACATTTATCACTT TATCTATGGAGTTCTGCTTGATTTTCATCAGACAAAAAATTCCTGCTAAA ACAGGCAATAAACAAAAAAGTTATGGCCAACAGAGTCACTGGAGG GTTTTCTGCTGGGGAGAAGCAAGCCCGTGTGAAAGAACCTGTGAGAT GACTGTGGGCTGTGTGAGGGGAACAGCGGGGGCTTGATGGTGGACTTCG GGAGCAGAAGCCTCTTCTCAGCCTCCTCAGCTAGACAGGGGAATTATAAT AGGAGGTGTGGCGTGCACACCTCTCCAGTAGGGGAGGGTCTGATAAGTC AGGTCTCTCCAGGCTTGGGAAAGTGTGTGCATCTCTAGGAGGTGGTCTC CCCAACACAGGGTACTGGCAGAGGGAGAGGGAGGGGGCAGAGGCAGGA AGTGGGTAAGTACTAGACTAACAAAGGTGCCTGTGGCGGTTTCCCATCCAG GTGGGAGGGTGGGGCTAGGGCTCAGGGGCGGTGTGAATTTACTTGTA GCCTGAGGGCTCAGAGGGAGCACCGTTTGGAGCTGGGACCCCTATTTT AGCTTTTCTGTGGCTGGTGAATGGGATCCAGGATCTACAATCTCAGGT ACTTTTGGAACTTTCCAGGGCAAGGCCCATATATCTGATGTTGGGGGAG CAGATCTTGGGGGAGCCCTTCCAGCCCTCTTCCATTCCTCAGGGACC	30
Lck 右 相同性	SEQ ID NO.12	GGCTGTGGCTGCAGCTCACACCCGGAAGATGACTGGATGGAAAACATCGA TGTGTGTGAGAAGTCCATATCCATAGTCCACTGGATGGCAAGGGCA CGGTAAGAGGCGAGACAGGGGCTTGGTGGGGAGTTGGGTAGAGAAT GCAACCCAGGAGAAAGAAATGACCAGCACTACAGGCCCTTGAAGAATA GAGTGGCCCTCTCCCTGAAATACAGAAAGGAAAAGAGGCCCCAGAGAGG GGAAGGGAATCTCCTAAGATCACACAGAAAGTAGTTGGTAAACTCAGGGA	40

		<p>TAACATCTAACCAAGGCTGGAGAGGCTGAGAGCAGAGCAGGGGGGAAGG GGGCCAGGGTCTGACCCAATCTTCTGCTTTCTGACCCACCCCTCATCCCCA CTCCACAGCTGCTCATCCGAAATGGCTCTGAGGTGCGGGACCCACTGGTTA CCTACGAAGGCTCCAATCCGCCGGCTTCCCCTGCAAGGTGACCCAGGC AGCAGGGCCTGAAAGACAAGGCCTGCGGATCCCTGGCTGTTGGCTCCAC CTCTCCCCACCTACTTTCTCCCCGGTCTTGCCTTCTTGTCCCCACCCTGT AACTCCAGGCTTCTGCCGATCCCAGCTCGGTTCTCCTGATGCCCTTGTG TTTACAGACAACCTGGTTATCGCTCTGCACAGCTATGAGCCCTCTCACGAC GGAGATCTGGGCTTTGAGAAGGGGGAACAGCTCCGCATCTGGAGCAGT GAGTCCCTCTCCACCTTGCTCTGGCGGAGTCCGTGAGGGAGCGGCATCT CCGCGACCCGAGCCCTCCTGCGGCCCTTGACCAGCTCGGGGTGCGCGCC CTTGGGACAAAATTCGAGGCTCAGTATTGCTGAGCCAGGGTTGGGGGAG GCTGGCTTAAGGGGTGGAGGGGTCTTTGAGGGAGGGTCTCAGGTGACG GCTGAGCGAGCCCACTGACCCACCTCCGTGGCGCAGGAGCGGCGAGTG</p>	10
<p>アポトーシスCAR (開始コドン を有する)</p>	<p>SEQ ID NO.13</p>	<p>ATGGCTTTCCTGCTACTGCCTTGTGCTTCCACTGCTCTGTTGTTGCACG CCGCAAGACCCGAGGTCAAGCTCCAGGAAAGCGGACCAGGGCTGGTGGC CCCTAGTCAGTCAATTGAGCGTCACTTGACCCGTACGGCGTGTCTCTGCC CGATTACGGCGTGAGCTGGATCAGACAGCCCCAAGGAAGGGACTGGAG TGGCTGGGCGTCACTGCGGGAGCGAGACTACCTACTACAACAGCGCCCT GAAGAGCAGGCTGACCATCATTAAAGACAACCTCAAGTCCCAGGCTTTTCT GAAAATGAACAGCCTGCAGACTGATGACACTGCCATCTACTACTGCGCAA GCATTACTACTACGGGGCAGCTACGCTATGGACTACTGGGGCAGGGG ACCTCTGTACAGTGTCAAGTGGCGGAGGAGGAGTGGCGGAGGGGGAA GTGGGGCGGCGGACGACATCCAGATGACCCAGACAACATCCAGCCTC TCCGCCTCTGCGGACAGAGTGACAATCAGCTGCCGGGCCAGTCAGGA CATCAGCAAGTATCTCAATTGGTACCAGCAGAAACCAGACGGGACAGTGA AATTGCTGATCTACCACACATCCAGGCTGCACTCAGGAGTCCCCAGCAGGT TTCCGGCTCCGGCTCCGGGACAGATTACAGTCTGACCATTTCCAACCTGG AGCAGGAGGATATTGCCACATACTTTGCCAGCAAGGCAACACTCTGCCCT ATACCTTCGGCGGAGGCACAAAACCTGGAGTACTCGGTGGATCCCGAG CCCAAATCTCTGACAAAACCTCACACATGCCACCCTGCCAGCACCTCCC GTGGCCGGCCCGTCAAGTTCCTTCCCCAAAACCAAGGACACCCTC ATGATCGCCCGGACCCCTGAGGTACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCA CGAGGACCCCTGAGGTCAAGTTCAACTGGTACGTGGACGGCGTGGAGGTG CATAATGCCAAGACAAAAGCCGCGGGAGGAGCAGTACAACAGCAGTACC GTGTGGTCAAGCTCCTCACCTCCTGCACCAGGACTGGCTGAATGGCAAG GAGTACAAGTGAAGGTGTCAAACAAAGCCCTCCCAGCCCCATCGAGAA AACCATCTCAAAGCCAAAGGGCAGCCCCGAGAACCAAGGTGTACACCC TGCCCCATCCCGGATGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACCTGC CTGGTCAAAGGCTTCTATCCAGCGACATCGCCGTGGAGTGGGAGAGCAA TGGGAACCGGAGAACAACTACAAGACCAAGCCTCCCGTGTGGACTCCG ACGGCTCCTTCTTCTCTACAGCAAGCTACCGTGGACAAGAGCAGGTGGC AGCAGGGGAACGTGTTCTCATGCTCCGTGATGCATGAGGCCCTGCACAAT CACTATACCCAGAAATCTCTGAGTCTGAGCCAGGCAAGAAGGATATTTG GGGTGGCTTGCCTTCTTTTCCAAATCCACTAATTGTTGGGTGAAGA GAAAGGAAGTACAGAAAACATGCAGAAAGCACAGAAAGGAAACCAAGG TTCTCATGAATCTCAACCTTAAATCCTGAAACAGTGGCAATAAATTTATCT GATGTTGACTTGAGTAAATATATCACCCTATTGCTGGAGTCATGACACTA</p>	<p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>

Miltenyi (それぞれ、カタログ番号130-094-363、130-112-790、130-109-021、および130-104-892) から、48ウェル処理プレート (CytoOne, カタログ番号C7682-7548) を、ヒトIL-15 Quantikine ELISAキットをR&D systems (カタログ番号S1500) から、ONE-GloをPromega (カタログ番号E6110) から入手した。様々なマトリックスを含有するAAV6バッチをVirovekから入手し、PBMC細胞をAllcells (カタログ番号PB004F) から入手し、Raji-ルシフェラーゼ細胞を、ATCC (カタログ番号CCL-86) 由来のRaji細胞のホタルルシフェラーゼをコードするレンチウイルス粒子の形質導入後に得た。

【0302】

方法

2.1-トランスフェクション-形質導入

TRACおよびPD1またはCD25遺伝子座での二重標的指向組込みを、以下のように行った。PBMC細胞を、X-vivo-15完全培地 (X-vivo-15、5% AB血清、20 ng/mL IL-2) において最初に融解し、洗浄し、再懸濁して培養した。1日後に、細胞を、Dynabeads human T activator CD3/CD28 (25 μ Lのビーズ/ $1E^6$ CD3陽性細胞) によって活性化し、 $1E^6$ 細胞/mLの密度で3日間、X-vivo完全培地において37 °Cで、5% CO₂の存在下で培養した。細胞を、次いで、新鮮な完全培地において分割し、以下の手順に従って次の日に形質導入/トランスフェクトした。形質導入-トランスフェクションの日に、細胞を最初に、磁気分離 (EasySep) によって脱ビーズ化 (de-beaded) し、Cytoporation buffer T (BTX Harvard Apparatus, Holliston, Massachusetts) において2回洗浄して、同じ溶液に28E⁶細胞/mLの最終濃度で再懸濁した。細胞懸濁液を、200 μ Lの最終体積において、TRAC TALEN (登録商標) アーム (SEQ ID NO:16および17) をコードする5 μ g mRNAと、CD25またはPD1 TALEN (登録商標) のいずれかのアーム (それぞれSEQ ID NO:18および19ならびにSEQ ID NO:20および21) をコードする15 μ gのmRNAの存在下または非存在下で混合した。TALEN (登録商標) は、TALEとFok-1との融合に起因するTALEヌクレアーゼの標準形式である。トランスフェクションは、Pulse Agile技術を用いて、0.4 cm間隙のキュベット中で200 μ LのCytoporation buffer T (BTX Harvard Apparatus, Holliston, Massachusetts) の最終体積において、3,000 V/cmでの2回の0.1 mSパルス、およびその後の325 V/cmでの4回の0.2 mSパルスを印加することによって行った。エレクトロポレーションした細胞を、次いで直ちに、1 mLのあらかじめ温めたX-vivo-15無血清培地を含有する12ウェルプレートに移し、37 °Cで15分間インキュベートした。細胞を、次いで、48ウェルレギュラー処理プレート中で、ドナーマトリックスを含むAAV6粒子 (MOI = $3E^5$ vg/細胞) の存在下で、250 μ Lの同じ培地において8E⁶細胞/mLに濃縮した。30 °Cでの2時間の培養後に、250 μ Lの、10% AB血清および40 ng/mL IL-2を補給したX-vivo-15培地を細胞懸濁液に添加し、混合物を24時間、同じ培養条件でインキュベートした。1日後に、細胞を、完全X-vivo-15培地において1E⁶細胞/mLで播種し、37 °Cで、5% CO₂の存在下で培養した。

【0303】

2.2- LNGFRの活性化依存的発現およびIL15の分泌

操作されたT細胞を、以前に記載されたトランスフェクション-形質導入プロセスから回収し、100 μ L最終体積の完全X-vivo-15培地において単独で、またはRaji細胞 (E:T = 1:1) もしくはDynabeads (12.5 μ L/ $1E^6$ 細胞) の存在下で、1E⁶細胞/mLで播種した。細胞を、48時間培養し、その後回収し、標識して、フローサイトメトリーによって解析した。細胞を、2種類の独立した抗体のセットで標識した。第1の抗体のセットは、LNGFR、CAR、およびCD3細胞の存在の検出を目標にして、QBEND10-APC (1/10希釈)、vioblue標識抗CD3 (1/25希釈)、およびPE標識抗 LNGFR (1/25希釈) からなった。第2の抗体のセットは、内在性CD25およびPD1の発現の検出を目標にして、APC標識抗CD25 (1/25希釈) およびvioblue標識抗PD1 (1/25希釈) からなった。

10

20

30

40

50

【0304】

同じ実験設定を用いて、培地中のIL-15分泌を研究した。細胞混合物を、2、4、7、および10日間共培養において保ち、その後、上清を収集して、IL-15特異的ELISAキットを用いて解析した。

【0305】

2.3-連続死滅アッセイ

操作されたCAR T細胞の抗腫瘍活性を評価するために、連続死滅アッセイを行った。このアッセイの原理は、一定量の腫瘍細胞の毎日の添加によって、CAR T細胞抗腫瘍活性に毎日挑戦するものである。腫瘍細胞増殖、制御、および再発を、腫瘍細胞株に安定に組み込まれたルシフェラーゼマーカのおかげで、発光読み取りを介してモニタリングすることができた。

【0306】

典型的には、CAR T細胞を、1 mLのXvivo 5% AB、20 ng/ μ L IL-2の総体積において、可変のE:T比 (E:T=5:1または1:1) で 2.5×10^5 個のRaji-luc腫瘍細胞の懸濁液と混合する。混合物を24時間インキュベートし、その後、ONE-Glo試薬を用いて25 μ Lの細胞懸濁液の発光を決定する。細胞混合物を、次いでスピンドウンし、古い培地を捨てて、 2.5×10^5 個のRaji-Luc 細胞を含有する1 mLの新鮮な完全X-vivo-15培地で置換し、結果として生じた細胞混合物を24時間インキュベートする。このプロトコルを、4日繰り返す。

【0307】

実験および結果

本実施例は、IL-15 / 可溶性IL-15受容体 ヘテロ二量体 (IL15/sIL15r) 発現カセットを、PD1およびCD25遺伝子を調節する内在性T細胞プロモーターの制御下に組み込むことによって、CAR T細胞療法の治療転帰を改善する方法を記載する。遺伝子は両方とも、CAR T細胞による腫瘍係合時に上方制御されることが公知であるため、それらに乗っ取って腫瘍の近傍においてのみIL-IL15/sIL15r を再発現させることができる。本方法は、活性化誘導性T細胞死 (AICD) を低減させる、T細胞生存を促進する、T細胞抗腫瘍活性を増強する、およびT細胞アレルギーを逆転させるその能力を維持しながら、IL15/sIL15r 全身性分泌の潜在的な副作用を低減させることを目標にする。

【0308】

IL15/sIL15r をPD1およびCD25遺伝子座に組み込むように開発された方法は、AV6によってベクター化されたDNA修復マトリックスの存在下で、TALENを用いて両方の遺伝子座に二本鎖切断を生成することであった。このマトリックスは、2Aシス作用性エレメントおよび調節エレメント (停止コドンおよびポリA配列) によって分離されるIL15/sIL15r コード領域を埋め込む、2個の相同性アームからなる。標的とされる遺伝子座およびT細胞活性におけるその関与に応じて、標的とされる内在性遺伝子を、特異的なマトリックス設計を介して不活性化するまたは不活性化しないことができる。CD25遺伝子を標的とする遺伝子座として考えた場合、この遺伝子のタンパク質産物は、T細胞機能にとって不可欠とみなされるため、挿入マトリックスを、CD25を不活性化することなくIL15/sIL15r をノックイン (KI) するように設計した。対照的に、PD1は、T細胞阻害 / T細胞の消耗に関与しているため、挿入マトリックスを、IL15/sIL15r の発現および分泌を可能にしながら、その発現を阻止するように設計した。

【0309】

このアプローチを例証し、初代T細胞における二重標的指向挿入の実現可能性を実証するために、3種類の異なるマトリックスを設計した (図2A、2B、および2C)。SEQ ID NO:36によって表される、CARmと名づけられた第1のものは、TRAC TALEN (登録商標) (SEQ ID NO:16および17) の存在下で、TRAC遺伝子座に抗CD22 CAR cDNAを挿入するように設計した。第2のものであるIL-15_CD25m (SEQ ID NO:37) は、CD25 TALEN (登録商標) (SEQ ID NO:18および19) を用いて、CD25内在性コード配列の終止コドンの直前に、2Aシス作用性エレメントによって分離された、IL15、sI

10

20

30

40

50

L15r、および LNGFR cDNAと名づけられた表面マーカーを組み込むように設計した。第3のものであるIL-15_PD1m (SEQ ID NO:38)は、同じ発現カセットを含有し、PD1 TALEN (登録商標) (SEQ ID NO:20および21)を用いて、PD1オープンリーディングフレームの中央に組み込むように設計した。3種類のマトリックスは、IL15/sIL15r およびCARと、標的とされる内在性遺伝子との同時発現を可能にする、発現カセットの上流に位置する追加的な2Aシス作用性エレメントを含有していた。

【0310】

本発明者らは、T細胞における二重標的指向挿入の効率を、それらにIL15/sIL15rマトリックスをコードするAAV6 (SEQ ID NO:41; pCLS30519)の1つを、CARをコードするものと共に形質導入し、続いて対応するTALEN (登録商標)をトランスフェクトすることによって、最初に評価した。TRAC TALEN (登録商標) (SEQ ID NO:22および23)ならびにPD1 TALEN (登録商標) (SEQ ID NO:24および25)またはCD25 TALEN (登録商標) (SEQ ID NO:26および27)をコードするmRNAの存在下でのマトリックスのAAV6に補助されたベクター化により、操作されたT細胞の最大で46%における抗CD22 CARの発現が可能になった (図3)。

10

【0311】

CD25およびPD1遺伝子座でのIL15m組込みの程度を判定するために、操作されたT細胞を、抗CD3/CD28コーティングビーズまたはCD22発現Raji腫瘍細胞のいずれかで活性化した。活性化の2日後に、細胞を回収し、IL15/sIL15r 分泌の代用物としてLNGFR発現を用いて、FACSによって解析した (図4および5)。本発明者らの結果により、抗CD3/CD28コーティングビーズは、抗CD22 CARの存在から独立して、IL-15m_CD25またはIL-15m_PD1を含有するT細胞による LNGFRの発現を誘導したことが示された (図4A~B)。しかし、腫瘍細胞は、CARmおよびIL-15mの両方によって処理されたT細胞による LNGFRの発現のみを誘導した。これにより、LNGFRの発現を、CARによる腫瘍細胞係合を通して特異的に誘導できたことが示された (図5および6)。

20

【0312】

期待されたように、内在性CD25遺伝子は、活性化された処理T細胞において依然として発現し (図7および8)、他方、PD1発現は強く損なわれた (図12)。

【0313】

LNGFRの発現が、培地中のIL15の分泌と関連したことを検証するために、抗CD22 CARおよび LNGFRを発現するT細胞を、CD22発現Raji腫瘍細胞 (E:T比 = 1:1)の存在下で、合計で10日間インキュベートした。上清を2、4、7、および10日目に回収し、IL15の存在をELISAアッセイによって定量した。本発明者らの結果により、IL15は、CARmおよびIL15mマトリックスの両方によって、それらの対応するTALEN (登録商標)と共に同時処理されたT細胞によってのみ、培地に分泌されたことが示された (図13)。これらのマトリックスのいずれか1つで処理されたT細胞は、静止T細胞に関していかなる有意なレベルのIL15も分泌することができなかった。興味深いことに、IL-15分泌レベルは、一過性であることが見出され、最大ピークの中心は4日目であった (図14)。

30

【0314】

分泌されたIL-15 (SEQ ID NO:59)のレベルがCAR T細胞活性に影響を及ぼし得るかどうかを評価するために、CAR T細胞を、5:1のE:T比の腫瘍細胞の存在下で4日間、共培養した。それらの抗腫瘍活性に、IL-2を欠き、新鮮な腫瘍細胞を含有する培養培地中でそれらをピペティングし、再懸濁することによって毎日挑戦した。CAR T細胞の抗腫瘍活性を、ルシフェラーゼを発現する残りのRaji腫瘍細胞の発光を測定することによって毎日モニタリングした。本発明者らの結果により、IL-15を同時発現するCAR T細胞は、考えられたすべての時点で、IL15を欠くものよりも高い抗腫瘍活性を有することが示された (図15)。

40

【0315】

従って、合わせて本発明者らの結果により、本発明者らが、TRACおよびCD25または

50

PD1遺伝子座でのCARおよびIL15 cDNAの同時標的指向挿入を可能にする方法を開発したことが示された。この二重標的指向挿入は、抗CD22 CARの堅牢な発現、および培地中のIL15の分泌をもたらした。分泌されたIL15のレベルは、CAR T細胞の活性を増強するのに十分であった。

【0316】

(表5) 実施例2および3において言及される配列

SEQ ID NO#	配列名	ポリペプチド配列	RVD 配列
16	TALEN 右 TRAC	MGDPKKKRKVIDYPYDVPDYAIDIADLRTLGYSSQQQKEIKPKVRSTVA QHHEALVGHGFTHAHIVALSQHPAALGTVAVKYQDMIAALPEATHEAIV GVGKQWWSGARALEALLTVAGELRGPPLQLDTGQLLKIARGGVTAVEA VHAWRNALTGAPLNLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHG LTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGG GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLC QAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIA SHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQAL LPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQ VVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALE TVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGL TPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGK QALETVQALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLC QAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIAS NNGGRPALESIVAQLSRDPALAALNDHLVALACLGGRPALDAVKKGL GDPISRSQVVKSELEEKSELRHKLKYPHEYIELIEIARNSTQDRILEMK VMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKPDAIYTVGSPIDYGVIVDTKAYS GGY NLPIGQADEMQRYVEENQTRNKHINPNEWKVPSSVTEFKFLFVSGH FKGNYKAQLTRLNHITNCNGAVLSVEELLIGGEMIKAGTLLEEVRRKFN NGEINFAAD	NG-NN-NG-HD- HD-HD-NI-HD-NI- NN-NI-NG-NI-NG- HD-NG#
17	TALEN 左 TRAC	MGDPKKKRKVIDKETAALKFERQHMSIDIADLRTLGYSSQQQKEIKPK VRSTVAQHHEALVGHGFTHAHIVALSQHPAALGTVAVKYQDMIAALPEA THEAIVGVGKQWWSGARALEALLTVAGELRGPPLQLDTGQLLKIARGGV TAVEAVHAWRNALTGAPLNLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLC QAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAI ASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQA LLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPE QVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQA LETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQA HGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASN GGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLP VLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQV VAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETV QRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGL TPQQVVAIASNNGGRPALESIVAQLSRDPALAALNDHLVALACLGGRP	HD-NG-HD-NI-NN- HD-NG-NN-NN- NG-NI-HD-NI-HD- NN-NG#

10

20

30

40

50

		ALDAVKKGLGDPISRSQVLKSELEEKSELRHKLKYPHEYIELIEIARNS TQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKPDGAIYTVGSPIDYGVIVD TKAYSGGYNLPIGQADEMQRVVEENQTRNKHINPNEWWKVYSSSVTE FKFLFVSGHFKGNKYAQLTRLNHITNCNGAVLSVEELLIGGEMIKAGTLT LEEVRRKFNGEINFAAD		
18	TALEN 右 CD25	MGDPKKKRKVIDYDVPDYAIDIADLRTLGYSSQQQEKIKPKVRSTVA QHHEALVGHGFTAHIVALSQHPAALGTAVKYQDMIAALPEATHEAIV GVGKQWSGARALEALLTVAGELRGPPLQLDTGQLLKIARKGGVTAVEA VHAWRNALTGAPLNLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHG LTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGG GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPV CQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAI ASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQ RLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTP QQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQ ALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQ AHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIAS NNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQR LPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQ VVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALE TVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGL TPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNNGGK QALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLC QAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIAS NNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLL PVLCQAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQV VAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETV QALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLT PEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQ ALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQ AHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASN GGGRPALESIVAQLSRPDPSGSGSGGDPISRSQVLKSELEEKSELRH KLKYPHEYIELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRK PDGAIYTVGSPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEMQRVVEENQTRNK HINPNEWWKVYSSSVTEFKFLFVSGHFKGNKYAQLTRLNHITNCNGAV LSVEELLIGGEMIKAGTLTLEEVRRKFNGEINFAAD	NN-NG-NG-HD- NG-NG-NG-NG- NN-NN-NG-NG- NG-NG-HD-NG#	10
19	TALEN 左 CD25	MGDPKKKRKVIDYDVPDYAIDIADLRTLGYSSQQQEKIKPKVRSTVA QHHEALVGHGFTAHIVALSQHPAALGTAVKYQDMIAALPEATHEAIV GVGKQWSGARALEALLTVAGELRGPPLQLDTGQLLKIARKGGVTAVEA VHAWRNALTGAPLNLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGL TPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGK QALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLC QAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIAS NIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLL PVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQV VAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETV QALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLT PEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQ ALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNIGGKQALETVQRLLPVLCQ AHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASN GGGRPALESIVAQLSRPDPSGSGSGGDPISRSQVLKSELEEKSELRH KLKYPHEYIELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRK PDGAIYTVGSPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEMQRVVEENQTRNK HINPNEWWKVYSSSVTEFKFLFVSGHFKGNKYAQLTRLNHITNCNGAV LSVEELLIGGEMIKAGTLTLEEVRRKFNGEINFAAD	NI-HD-NI-NN-NN- NI-NN-NN-NI-NI- NN-NI-NN-NG-NI- NG#	20
20	TALEN 右 PD1	MGDPKKKRKVIDYDVPDYAIDIADLRTLGYSSQQQEKIKPKVRSTVA QHHEALVGHGFTAHIVALSQHPAALGTAVKYQDMIAALPEATHEAIV GVGKQWSGARALEALLTVAGELRGPPLQLDTGQLLKIARKGGVTAVEA VHAWRNALTGAPLNLTPEQVVAIASKLGGKQALETVQALLPVLCQAHGL TPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGG KQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPV CQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAI ASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASYGGKQALETVQ RLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLT QQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQ ALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQ AHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASH GGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLP VLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVA IASNNGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQ ALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLT KGLGDPISRSQVLKSELEEKSELRHKLKYPHEYIELIEIARNSTQDRIL EMKVMKVPHEYIELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRK PDGAIYTVGSPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEMQRVVEENQTRNK HINPNEWWKVYSSSVTEFKFLFVSGHFKGNKYAQLTRLNHITNCNGAV LSVEELLIGGEMIKAGTLTLEEVRRKFNGEINFAAD	KL-HD-HD-NG-HD- NG-YK-NG-NN- NN-NN-NN-HD- HD-NI-NG#	30

10

20

30

40

21	TALEN 左 PD1	MGDPKKKRVIDKETAATAAKFERQHMSIDIADLRTLGYSSQQQEQEKIKPK VRSTVAQHHEALVGHGFTHAHIVALSQHPAALGTAVVKYQDMIAALPEA THEAIVGVGKQWSGARALEALLTVAGELRGPPLQLDTGQLLKIAKRGV TAVEAVHAWRNALTGAPLNLTPQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVL CQAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAI ASHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQ RLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTP QQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQ ALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCOA HGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASH DGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNGGGKQALETVQRLL PVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPEQV VAIASNGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETV QRLLPVLCOAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCOAHGLT PQQVVAIASNGGGRPALESIVAQLSRPDPALAALTNDHLVALACLGGRP ALDAVKKGLDPIRSQVLKSELEEKSELRHKLKYVPHEYIELIEIARNS TQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKPDGAIYTVGSPIDYGVVD TKAYSGGYNLPIGQADEMQRYVEENQTRNKHINPNEWVKVYSSVTE FKFLFVSGHFKGNKAQLTRLNHITNCNGAVLSVEELLIGGEMIKAGTLT LEEVRRKFNNGEINFAAD	HD-NG-HD-NG- NG-NG-NN-NI-NG- HD-NG-NN-N-NN- HD-NG#
----	----------------	---	---

10

【 0 3 1 7 】

(表 5) 続き : 実施例 2 および 3 において言及される配列

SEQ ID NO#	配列 名	ポリヌクレオチド配列
22	TALEN TRAC pCLS11370	ATGGGCGATCCTAAAAAGAAACGTAAGGTCATCGATTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTAT CGATATCGCCGATCTACGCACGCTCGGCTACAGCCAGCAGCAACAGGAGAAAGATCAAACCGAA GGTTTCGTTGCAGAGTGGCGCAGCACCACGAGGCACTGGTCGGCCACGGGTTTACACACGCGC ACATCGTTGCGTTAAGCCAACACCCGGCAGCGTTAGGGACCGTGTCAAGTATCAGGACA TGATCGCAGCGTTGCCAGAGGCGACACACGAAGCGATCGTTGGCGTCGGCAACAGTGGTCC GGCGCACGCGCTCTGGAGGCCCTTGTCTACGGTGGCGGGAGAGTTGAGAGGTCCACCGTTACA GTTGGACACAGGCCAATTCTCAAGATTGCAAAACGTGGCGGCGTGACCCGAGTGAGGAGCAGT GCATGCATGGCGCAATGCACTGACGGGTGCCCGCTCAACTTGACCCCCAGCAGGTGGTGG CCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTG CTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGG CAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGA CCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGT CCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCA TCGCCAGCCACGATGGCGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTG TGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCACGATGGCGGCAA GCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCC CGGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCACGATGGCGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCA GCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCG CCAGCAATATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGCGCTGTTGCCGGTGCTGTGC CAGGCCACGGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCACGATGGCGGCAAGCA GGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCG GAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGC GCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCA GCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAG GCCACGGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATATTGGTGGCAAGCAGGC GCTGGAGACGGTGCAGGCGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCGAGC AGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCT GTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCA ATATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGCGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCC CACGGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCT GGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCGAGCAG GTGGTGGCCATCGCCAGCCACGATGGCGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTT GCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCTCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATG GCGGCGGAGGCCGCGCTGGAGACGATTGTTGCCAGTTATCTCGCCCTGATCCGGCGTTG GCCGCTTGACCAACGACCCTCGTCGCCCTTGGCCTGCCCTGGCGGGCGCTCCTGCGCTGGA TGCAGTAAAAAGGATTGGGGGATCCTATCAGCCGTTCCAGCTGGTGAAGTCCGAGCTGGA GGAGAAGAAATCCGAGTTGAGGCACAAGCTGAAGTACGTCGCCACGAGTACATCGAGCTGAT

20

30

40

50

		<p>CGAGATCGCCCGGAACAGCACCCAGGACCGTATCCTGGAGATGAAGGTGATGGAGTTCTTCAT GAAGGTGTACGGCTACAGGGGCAAGCACCTGGCGGCTCCAGGAAGCCCGACGGCGCCATCT ACACCGTGGGGTCCCCCATCGACTACGGCGTGTACGTGGACACCAAGGCCTACTCCGGCGGC TACAACCTGCCCATCGGCCAGGGCCAGCAATGCAAGAGTACGTGGAGGAGAACCAGACCG GAACAAGCACATCAACCCCAACGAGTGGTGAAGGTGTACCCCTCCAGCGTGACCGAGTTCAA GTTCTGTTCGTGTCCGGCCACTTCAAGGGCAACTACAAGGCCAGCTGACCAGGCTGAACCA CATCACCAACTGCAACGGCCCGTGTCTGCCGTGGAGGAGCTCCTGATCGGGCGCGAGATGA TCAAGGCCGGCACCCCTGACCCCTGGAGGAGGTGAGGAGGAAGTTCAACACGGCGAGATCAAC TTCGGCGCCACTGATAA</p>
23	TALEN TRAC pCLS11369	<p>ATGGGCGATCCTAAAAAGAAACGTAAGGTCATCGATAAGGAGACC GCCGCTGCCAAGTTCGAG AGACAGCACATGGACAGCATCGATATCGCCGATCTACGCACGCTCGGCTACAGCCAGCAGCAA CAGGAGAAGATCAAACCGAAGGTTCTGTTTCGACAGTGGCGCAGCACCCAGAGGCACTGGTCCG CCACGGGTTTACACACGCGCACATCGTTGCGTTAAGCCAACACCCGGCAGCGTTAGGGACCGT CGCTGTCAAGTATCAGGACATGATCGCAGCGTTGCCAGAGGCGACACACGAAGCGATCGTTGG CGTCCGCAACAGTGGTCCGGCGCACGCGCTCTGGAGGCCCTTGTCTACGGTGGCGGGAGAGT TGAGAGGTCCACCGTTACAGTTGGACACAGGCCAACTTCTCAAGATTGCAAAAACGTGGCGGGC TGACCGCAGTGGAGGCACTGCATGCAATGGCGCAATGCACTGACGGTGCCCGCTCAACTTG ACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCAGCATGGCGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGG TCCAGCGGCTGTTGCCGGTGTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCC ATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGTCT GTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCAGCATGGCGGCG AAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGTGTGCCAGGCCACGGCTTGAC CCCGGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGC AGGCGCTGTTGCCGGTGTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATC GCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGTGTG CCAGGCCACCGGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCAGCATGGCGGCAAG CAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCC CCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCA CGGCTGTTGCCGGTGTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGC CAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGTGTGCC AGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAG GCCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCCA GAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGG CTGTTGCCGGTGTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAG CAATATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGCGCTGTTGCCGGTGTGTGCCAGG CCCACGGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCAGCATGGCGGCAAGCAGGC GCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCGAGC AGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGCGCT TTGCCGGTGTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCA CGATGGCGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGTGTGCCAGGCC CACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCT GGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCTCAGCAG TGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGCGCAGGCGCGCTGGAGACGATTGTTGCCAGTTA TCTCGCCCTGATCCGGCGTTGCCCGGTTGACCAACGACCCACCTCGTCGCCTTGGCCTGCCTC GCGGGCGCTCCTCGCTGGATGCAAGTGAAGGATTGGGGGATCCTATCAGCCGTTCCCA GCTGGTGAAGTCCGAGCTGGAGGAGAAGAAATCCGAGTTGAGGCACAAGCTGAAGTACGTGCC CCACGAGTACATCGAGCTGATCGAGATCGCCCGAACAGCACCCAGGACCGTATCCTGGAGAT GAAGGTGATGGAGTTCTCATGAAGGTGTACGGCTACAGGGGCAAGCACCTGGCGGCTCCA GGAAGCCCGACGGCGCCATCTACACCGTGGGCTCCCCATCGACTACGGCGTGTATCGTGGAC ACCAAGGCTACTCCGGCGGTACAACCTGCCATCGGCCAGGCGGACGAAATGCAGAGGTA CGTGGAGGAGAACCAGACGAACAAGCACATCAACCCCAACGAGTGGTGGAAAGGTGTACC CCTCCAGCGTGACCGAGTTCAAGTTCCTGTTCTGTCCGGCCACTTCAAGGGCAACTCAAGG CCCAGCTGACCAAGCTGAACCAATCAACCACTGCAACGGCGCGCTGTGTCCGTGGAGGAG CTCTGATCGGCGGCGAGATGATCAAGGCCGGCACCCCTGACCCCTGGAGGAGGTGAGGAGGAA GTTCAACAACGGCGAGATCAACTTCGGCGCCACTGATAA</p>
24	TALEN CD25 pCLS30480	<p>ATGGGCGATCCTAAAAAGAAACGTAAGGTCATCGATTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTAT CGATATCGCCGATCTACGCACGCTCGGCTACAGCCAGCAGCAACAGGAGAAGATCAAACCGAA GTTCTGTTTCGACAGTGGCGCAGCACCCAGGCACTGGTCCGGCCAGGGTTTACACACGCGC ACATCGTTGCGTTAAGCCAACACCCGGCAGCGTTAGGGACCGTCCGTTCAAGTATCAGGACA TGATCGCAGCGTTGCCAGAGGCGACACACGAAGCGATCGTTGGCGTCCGCAACAGTGGTCC GGCGCACGCGCTCTGGAGGCTTGTCTCACGGTGGCGGGAGAGTTGAGAGGTCCACCGTTACA GTTGGACACAGGCCAACTTCTCAAGATTGCAAAAACGTGGCGGCTGACCCAGTGGAGGCACT GCATGCATGGCGCAATGCACTGACGGGTGCCCGCTCAACTTGACCCCCAGCAGGTGGTGG CCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGT CTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGG CAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGTGTGCCAGGCCACGGCTTGA CCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGT CCAGCGGCTGTTGCCGGTGTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCA TCGCCAGCCAGCATGGCGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGTGT TGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAA GCAAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCC CCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCA</p>

10

20

30

40

50

		<p>GCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCG CCAGCAATGGCCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGC CAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCCGGTGGCAAGCA GGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCC AGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGG CTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAG CAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGG CCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCCGGTGGCAAGCAGGCG CTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCA GGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTG TTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAA TGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCC CACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCCGGTGGCAAGCAGGCGCT GGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCGAGCAG GTGGTGGCCATCGCCAGCCAGTGGCGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTT GCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCTCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATG GCGGCGCAGGCGCGGCTGGAGAGCATTGTTGCCAGTTATCTCGCCCTGATCCGAGTGGC AGCGGAAGTGGCGGGGATCCTATCAGCCGTTCCAGCTGGTGAAGTCCGAGCTGGAGGAGAA GAAATCCGAGTTGAGGCACAAGCTGAAGTACGTGCCCCACGAGTACATCGAGCTGATCGAGAT CGCCGGAAACAGCACCCAGGACCGTATCCTGGAGATGAAGGTGATGGAGTTCTTCATGAAGGT GTACGGCTACAGGGGCAAGCACCTGGCGGCTCCAGGAAGCCGACGGCGCCATCTACACCC TGGGCTACCCCATCGACTACGGCGTATCGTGGACACCAAGGCCTACTCCGGCGGCTACAAAG TGCCATCGCCAGGCCAGGCAAAATGCAGAGGTACGTGGAGGAGAACCAGACAGGAAACAAAG CACATCAACCCCAACGAGTGGTGAAGGTGTACCCCTCCAGCGTGAACGAGTTCAAGTTCCTG TTGTTGCCGGCACCTTCAAGGGCAACTACAAGGCCACGCTGACCAGGCTGAACCCACATACC AACTGCAACGGCGCCGTGCTGTCCTGGAGGAGCTCCTGATCGGCGCGGAGATGATCAAGGC CGGCACCCTGACCCTGGAGGAGGTGAGGAGGAAGTTCAACAACGGCGAGATCAACTTCGCGG CCGACTGATAA</p>	10
25	TALEN CD25 pCLS30479	<p>ATGGGCGATCCTAAAAAGAAACGTAAGGTCATCGATTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTAT CGATATCGCCGATCTACGCACGCTCGGCTACAGCCAGCAGCAACAGGAGAAGATCAACCCGAA GGTTCGTTCCGACAGTGGCGCAGCACCCAGGCACTGGTCCGCCACGGGTTTACACACGCGC ACATCGTTGCGTTAAGCCAAACCCGGCAGCGTTAGGGACCGTCCGCTGTCAAGTATCAGGACA TGATCGCAGCGTTGCCAGAGGCGACACACGAAGCGATCGTTGGCTCGGCAACAGTGGTCC GGCGCAGCGCTCTGGAGGCTTGTCTACGGTGGCGGAGAGTTGAGAGTCCACCGTTACA GTTGGACACAGGCCAATTCTCAAGATTGCAAAACGTGGCGGCTGACCCGAGTGGAGGCGAT GCATGCATGGCCGCAATGCACTGACGGGTGCCCGCTCAACTTGACCCCGAGCAGGTGGTGG CCATCGCCAGCAATATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGCGCTGTTGCCGGTG CTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCGGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCCACGATGGCGG CAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGA CCCCGGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGT CAGGCGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCAT CGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGT GCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAG CAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCC GGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGG CGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCC AGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCA GGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGG CGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCGAG CAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGCGCT GTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCA ATATTGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGCGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCC CACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCT GGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCGAGCAG GTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGCGCTGTT GCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATA ATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCAC GGCTTGACCCCCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATAATGGCGGTGGCAAGCAGGCGCTGGA GACGGTCCAGCGGCTGTTGCCGGTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCCGAGCAGGTGG TGGCCATCGCCAGCAATAATGGTGGCAAGCAGGCGCTGGAGACGGTGCAGGCGCTGTTGCCG GTGCTGTGCCAGGCCACGGCTTGACCCCTCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCAGCAATGGCGG CGGCAGGCCGGCGCTGGAGAGCATTGTTGCCAGTTATCTCGCCCTGATCCGAGTGGCAGCG GAAAGTGGCGGGATCCTATCAGCCGTTCCAGCTGGTGAAGTCCGAGCTGGAGGAGAAGAAAT CCGAGTTGAGGCAACAAGTGAAGTACGTGCCCCACGAGTACATCGAGCTGATCGAGATCGCCC GGAACAGCACCCAGGACCGTATCCTGGAGATGAAGTGAAGTTCCTCATGAAGTGTACG GCTACAGGGGCAAGCACCTGGCGGCTCCAGGAAGCCGACGGCGCCATCTACACCGTGGGG TCCCCATCGACTACGGCGTATCGTGGACACCAAGGCCTACTCCGGCGCTACAACCTGCC ATCGGCCAGGCCGACGAAATGCAAGAGTACGTGGAGGAGAACCAGACCAGGAACAAGCAT CAACCCCAACGAGTGGTGAAGGTGTACCCCTCAGCGGTACCGAGTTCAGTTCTCTGTTCTG GTCCGGCCACTTCAAGGGCAACTACAAGGCCAGCTGACCAGGCTGAACACATCACCAACTG CAACGGCCCGCTGCTGTCCTGGAGGAGTCTGATCGGCGCGGAGATGATCAAGGCCGGCA CCCTGACCCTGGAGGAGGTGAGGAGGAAGTTCAACAACGGCGAGATCAACTTCGCGGCCGAC TGATAA</p>	20 20 30 40

<p>26</p> <p>TALEN PD1 pCLS28959</p>	<p>ATGGGCGATCCTAAAAAGAAACGTAAGGTCATCGATTACCCATACGATGTTCCAGATTACGCTAT CGATATCGCCGATCTACGCACGCTCGGCTACAGCCAGCAGCAACAGGAGAAGATCAAACCGAA GGTTTCGTTGACAGTGGCCGACACCCAGGCACTGGTCCGACGGGTTTACACACGCGC ACATCGTTGCGTTAAGCCAAACACCCGGCAGCGTTAGGGACCGTTCGCTGTCAAGTATCAGGACA TGATCGCAGCGTTGCCAGAGGCGACACAGCAAGCGATCGTTGGCGTCCGCAACAGTGGTCC GGCGCACGCGCTCTGGAGCCCTTCTCACCGTGGCGGGAGAGTTGAGAGGTCCACCGTTACA GTTGGACACAGGCCAATTCTCAAGATTGCAAAACGTGGCGGCTGACCCGAGTGGAGGCGAT GCATGCATGGCGCAATGCACTGACGGGTGCCCGCTCAACTTGACCCCGAGCAAGTGGTGG CTATCGCTTCCAAGCTGGGGGAAAGCAGGCCCTGGAGACCGTCCAGGCCCTTCTCCAGTG CTTTGGCAGGCTCACGGACTGACCCTGAACAGGTGGTGGCAATTGCCTCACACGACGGGG CAAGCAGGCACTGGAGACTGCCAGCGGCTGCTGCTGTCTCTGCCAGGCCACGGACTCA CTCTGAGCAGGTCGTGGCCATTGCCAGCCAGATGGGGGCAACAGGCTCTGGAGACCGTG CAGCGCCTCTCCAGTGTGTGCCAGGCTCATGGGCTGACCCACAGCAGGTCGTGCCATT GCCAGTAAACGGCGGGGGGAAGCAGGCCCTCGAAACAGTGCAGAGGCTGCTGCCCGTCTTGTG CCAAGCACACGGCCTGACACCCGAGCAGGTGGTGGCCATCGCTCTCATGACGGCGGCAAGC AGGCCCTTGAGACAGTGCAGAGACTGTTGCCCGTGTGTGTGTCAGGGCCACGGGTTGACACCCC AGCAGGTGGTCCCATCGCCAGCAATGGCGGGGAAAGCAGGCCCTTGGAGCCGTGCAGCGG TTGCTTCCAGTGTGTGCCAGGCACACGACTGACCCTCAACAGGTGGTCCGAATCGCCAGC TACAAGGGCGGAAAGCAGGCTCTGGAGACTGCAGCGCTCTGCCGTGCTGTGTCAAGC TCACGGACTGACACACAGGAGTGGTGGCCATCGCCAGTAAACGGGGGGCAAGCAGGCTT TGGAGACCGTCCAGAGACTCTCCCGCTCTTTGCCAGGCCACGGGTTGACACCTCAGCAGG TCGTCCGCAATTGCCAAACAACGGGGGAAGCAGGCCCTCGAAACTGTGCAGAGGCTGCTG CCTGTGCTGTGCCAGGCTCATGGGCTGACACCCAGCAGGTGGTGGCCATTGCCTTAACAAC GGCGGCAACAGGCACTGGAGACCGTGCAAAGGCTGCTGCCCGTCTCTGCCAAGCCACGG GCTCACTCCAAGCAGCAGGTGGTGGCCATCGCCTCAAAACAATGGCGGGAAGCAGGCCCTGGAGA CTGTGCAAAAGGCTGCTCCCTGTGCTCTGCCAGGCACACGGACTGACCCTCAGCAGGTGGTG GCAATCGCTTCCAACAACGGGGGAAGCAGGCCCTCGAAACCGTGCAGCGCTCTCCCACT GCTGTGCCAGGCACATGGCCCTCACACCCGAGCAAGTGGTGGCTATCGCCAGCCACGACGGAG GGAAAGCAGGCTCTGGAGACCGTGCAGAGGCTGCTGCTGTCTGTGCCAGGCCACGGGCTT ACTCCAGAGCAGGTCTGCTGCCATCGCCAGTCAATGATGGGGGAAGCAGGCCCTTGGAGACAGT CCAGCGGCTGCTGCCAGTCTTTGCCAGGCTCACGGCTTACTCCGAGCAGGTGGTGGCCAT TGCCCTCAAACTTTGGGGGCAACAGGCCCTGGAGACAGTGCAGGCCCTGCTGCCCGTGTGTGTG TCAGGCCACCGCTTGCACACCCAGCAGGTGGTGGCCATTGCCTCTAATGGCGGCGGGAGAG CCGCCCTGGAGAGCATTGTTGCCAGTATCTCGCCCTGATCCGGCGTGGCCCGGTTGACCA ACGACCACCTCGTCGCTTGGCCTGCCTGGCGGGCGTCTGCGCTGGATGCAGTGA AAAAG GGATTGGGGATCCTATCAGCCGTTCCAGCTGCTGAAAGTCCGAGCTGGAGGAGAAGAAATCC GAGTTGAGGCCAAGCTGAAGTACGTGCCACAGTACATCGAGCTGATCGAGATCGCCCGG AACAGCACCCAGGACCGTATCCTGGAGATGAAGTGTGAGTTCATGAAGGTGTACGGC TACAGGGGCAAGCACCTGGCGGCTCCAGGAAGCCGACGGCGCCATCTACACCGTGGGCTC CCCCATCGACTACGGCGTGTCTGTGGACACCAAGGCCTACTCCGGCGCTACAACCTGCCAT CGGCCAGGCCGACGAAATGCAAGGTACGTGGAGGAGAACCAGACCAGGAACAAGCACATCA ACCCAAAGAGTGGTGAAGGTGTACCCCTCCAGCGTACCCAGTTCAGTTCTGTTGCTGT CCGGCCACTTCAAGGGCAACTACAAGGCCAGCTGACCAGGCTGAACCACATCAACCACTGCA ACGGCGCGTGTCTGCTGGAGGAGTCTCTGATCGCGGGGAGATGATCAAGGCCGGCACCC CTGACCCTGGAGGAGGTGAGGAGGAAGTTCAACAACGGCGAGATCAACTTCGCGGCCGACTG ATAA</p>	<p>10</p> <p>20</p>
<p>27</p> <p>TALEN PD1 pCLS18792</p>	<p>ATGGGCGATCCTAAAAAGAAACGTAAGGTCATCGATAAGGAGACCGCCGCTGCCAAGTTCCGAG AGACAGCACATGGACAGCATCGATATCGCCGATCTACGCACGCTCGGCTACAGCCAGCAGCAA CAGGAGAAGATCAAACCGAAGGTTTCGTTGACAGTGGCGCAGCACCAGGCACTGGTCCG CCACGGGTTTACACACGCGCACATCGTTGCGTTAAGCCAACACCCGGCAGCGTTAGGGACCGT CGCTGTCAAGTATCAGGACATGATCGCAGCGTTGCCAGAGGCGACACACGAAGCGATCGTTGG CGTCCGCAACAGTGGTCCGGCGCACGCGCTCTGGAGGCCCTTGTCCAGGTGGCGGGAGAGT TGAGAGGTCCACCGTTACAGTTGGACACAGGCCAATTCTCAAGATTGCAAAAACGTGGCGCG TGACCCGAGTGGAGGCAAGTGCATGCATGGCGCAATGCACTGACGGGTGCCCGCTCAACTTG ACCCCGAGCAAGTCTGCAATCGCCAGCCATGATGGAGGGAAGCAAGCCCTCGAAACCGT GCAGCGGTTGCTTCTGTGCTCTGCCAGGCCACGGCCTTACCCCTCAGCAGGTGGTGGCCAT CGCAAGTAAACGGAGGAGGAAAGCAAGCCTTGGAGACAGTGCAGCGCTGTTGCCCGTGTGT GCCAGGCACACGGCCTCACACAGAGCAGGTCGTGGCCATTGCCTCCATGACGGGGGAA CAGGCTCTGGAGACCGTCCAGAGGCTGCTGCCCGTCTCTGTCAAGCTCACGGCCTGACTCC CAACAAGTGGTCCCATCGCTCTAATGGCGGCGGGAAGCAGGCACTGGAAACAGTGCAGAG ACTGCTCCCTGTGCTTTGCCAAGCTCATGGGTTGACCCCAACAGGTCGTGCTATTGCCTCA AACGGGGGGGCAAGCAGGCCCTTGGACTGTGCAGAGGCTGTTGCCAGTGTGTGTACAGGC TCACGGGCTACTCCACAACAGGTTGGTCCGAATTGCCAGCAACGGCGGCGGAAAGCAAGCTCT TGAACCGTGCAACGCTCTGCCCGTGTCTGTGAGGCTCATGGCTGACACCAACAAGT CGTGGCCATCGCCAGTAATAATGGCGGAAACAGGCTCTTGGAGCCCTCCAGAGGCTGCTCC AGTGTCTGCCAGGCACACGGGCTGACCCCGAGCAGGTGGTGGCTATCGCCAGCAATATTG GGGGCAAGCAGGCCCTGGAAACAGTCCAGGCCCTGCTGCCAGTGTCTTGGCAGGCTCACGG CTCACTCCCAAGCAGGTCGTGGCAATCGCTCCAACGGCGGAGGGAAGCAGGCTCTGGAGAC CGTGCAGAGACTGCTGCCCGTCTTGTGCCAGGCCACGGACTCACACCTGAACAGGTCGTGCG CATTGCTCTCACGATGGGGGCAACAAGCCCTGGAGACAGTGCAGCGGCTGTTGCCGTGTGT GTGCCAAGCCACGGCTTACTCCTCAACAAGTGGTGGCCATCGCTCAAAATGGCGGCGGAA ACAAGCTCTGGAGACAGTGCAGAGGTTGTGCCCGTCTCTGCCAAGCCACGGCCTGACTCC</p>	<p>30</p> <p>40</p>

		CCAACAGGTCGTGCGCCATTGCCAGCAACAACGGAGGAAAGCAGGCTCTCGAAACTGTGCAGCG GCTGCTTCTGTGCTGTGTGTCAGGCTCATGGGCTGACCCCCGAGCAAGTGGTGGCTATTGCCTC TAATGGAGGCAAGCAAGCCCTTGCAGCAGTCCAGAGGCTGTTGCCAGTGTGTGCCAGGCCCA CGGGCTCACACCCAGCAGGTGGTCCGATCGCCAGTAAACAACGGGGGCAACAGGCATTGG AAACCTGCCAGCGCTGCTTCCAGTGTCTGCCAGGCACACGGACTGACACCCGAACAGGTGG TGGCCATTGCATCCCATGATGGGGCAAGCAGGCCCTGGAGACCGTGCAGAGACTCCTGCCA GTGTTGTGCCAAGCTCACGGCCTCACCCCTCAGCAAGTCTGGCCATCGCCTCAAACGGGGG GGGCCGGCTGCACTGGAGAGCATTGTTGCCAGTTATCTCGCCCTGATCCGGCCTGGCCG CGTTGACCAAGCACCACCTCGTGCCTTGGCCTGCCTCGGGGGCGTCTCGCTGGATGCA GTGAAAAGGGATTGGGGATCCTATCAGCCGTTCCAGCTGGTGAAGTCCGAGCTGGAGGAG AAGAAATCCGAGTTGAGGCACAAGCTGAAGTACGTGCCCCACGAGTACATCGAGCTGATCGAG ATCGCCCGGAACAGCACCCAGGACCGTATCCTGGAGATGAAGGTGATGGAGTTCTTCATGAAG GTGTACGGCTACAGGGGCAAGCACCTGGGCGGCTCCAGGAAGCCCGACGGCGCCATCTACAC CGTGGGCTCCCCATCGACTACGGCGTATCGTGGACACCAAGGCCCTACTCCGGCGGCTACA ACCTGCCCATCGGCCAGGGCGACGAAATGCAGAGGTACGTGGAGGAGAACCCAGACCAGGAAC AAGCACATCAACCCCAACGAGTGGTGAAGGTGTACCCCTCCAGCGTACCGAGTTCAAGTTC CTGTTGCTGTCCGGCCACTTCAAGGGCAACTACAAGGCCAGCTGACCAGGCTGAACCAATC ACCAACTGCAACGGCGCCGTGCTGTCCGTGGAGGAGCTCCTGATCGGGCGGAGATGATCAA GGCCGGCACCCCTGACCTGGAGGAGGTGAGGAGGAAGTTCAACAACGGCGAGATCAACTTCG CGCCGACTGATAA
28	TALEN 標的 TRAC	TTGTCCACAGATATCCAGAACCCTGACCCGTCGGTGTACCAGCTGAGA
29	TALEN 標的 CD25	TACAGGAGGAAGTAGAAGAAACAATCTAGAAAACCAAAGAACA
30	TALEN 標的 PD1	TACCTCTGTGGGGCCATCTCCCTGGCCCCAAGGCGCAGATCAAAGAGA
31	マトリックス TRAC 遺伝子座 CubiCA R CD22 pCLS30056	TTGCTGGGCCTTTTTCCATGCTGCTTACTCTGCCAGAGTTATTTGCTGGGGTTTTGAAGA AGATCTATTAATAAAAGAATAAGCAGTATTATTAAGTAGCCCTGCATTTCCAGTTTCTTGAGT GGCAGGCCAGGCTGGCCGTGAACGTTCACTGAAATCATGGCCTCTTGGCCAAGATTGATAGC TTGTGCTGTCCCTGAGTCCAGTCCATCACGAGCAGCTGTTTCTAAGATGCTATTTCCCGTA TAAAGCATGAGACCGTGAATGGCAGCCCCACAGAGCCCCGCCCTTGTCCATCACTGGCATCT GGACTCCAGCCTGGGTTGGGGCAAGAGGGAAATGAGATCATGTCCTAACCCCTGATCCTCTTG TCCACAGATATCCAGTACCCCTACGACGTGCCCGACTACGCCCTCCGGTGAGGGCAGAGGAAG TCTTCTAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCGGGCCCGGATCCGCTCTGCCGTCACCCG TCTGCTGCTGCCACTGGCACTGCTGTCACGCTGCTAGGCCCGGAGGGGGAGGCAGCTGCC CCTACAGCAACCCAGCCTGTGCAGCGGAGGGCGGCGCAGCGGCGGAGGGGGTAGCCAGGT GCAGCTGCAGCAGAGCGGCCCTGGCCTGGTGAAGCCAAGCCAGACACTGTCCCTGACCTCGC CCATCAGCGCGGATTCCTGAGCTCCAACCTCCGCGCCTGGAATTGGATCAGGCAGTCCCTT CTCGGGGCTGGAGTGGCTGGGAAGGACATACTATCGGTCTAAGTGGTACAACGATTATGCCG TGCTGTGAAGAGCAGAATCACAATCAACCCTGACACCTCCAAGAATCAGTTCTCTGTCAGCT GAATAGCGTGACACCCAGAGGACACCCCGCTGTACTATTGCCAGGGAGGTGACCCGGCGAGC TGGAGGATGCTTTGACATCTGGGGCCAGGGCACAATGGTACCCTGAGCTCCGGAGGGCGG GGATCTGGCGGAGGAGGAAGTGGGGCGGGCGGAGTGATATCCAGATGACACAGTCCCATC CTCTCTGAGCGCCTCCGTGGCGGACAGAGTGACAATCACCTGTAGGGCCTCCCAGACCATCTG GTCTTACCTGAACTGGTATCAGCAGAGGCCCGGCAAGGCCCTAATCTGCTGATCTACGCAGC AAGCTCCCTGCAGAGCGGAGTGCCATCCAGATTCTGTGCCAGGGGCTCCGGCACAGACTTCAC CCTGACCATCTCTAGCCTGCAGGCCGAGGACTTCGCCACCTACTATTGCCAGCAGTCTATAGC ATCCCCCAGACATTTGCCAGGGCACCAGCTGGAGATCAAGTCCGATCCCGGAAGCGGAGG GGGAGGGCAGCTGCCCTTACAGCAACCCAGCCTGTGCAGCGGAGGGCGGGCAGCGAGCTG CCCACCCAGGGCACCCTTCCAAAGCTGTCCACCAAGTGCAGCCAGCCAGCCAGCCACCCACC GCCTGTCTTATTCCAATCTTCCCTGTGTGCTCCACCACAACCCCGCTCCAAGGCCCTTA CCCCCGCACAATATTGCTCCAGCCTCTCACTGCGGCCTGAGGCCCTGTGGCCCGCTG CTGGAGGCGCAGTGATACAAGGGGCTCGATTTCCGCTGCGATATTTACATCTGGGCACCCC TCGCCGCGCAGCTGCGGGGTGCTTCTCCTCTCCCTGGTGATTACCCCTGATTGCAGACGGGGC GGAAGAAGCTCCTCTACATTTTAAAGCAGCCTTTCATGCGGCCAGTGCAGACAACCCAGAGGA GGATGGTGTTCTCGAGATTCCCTGAGGAAGAGGAAGGGCGGTGCGAGCTGAGAGTGAAGT TCTCCAGGAGCGCAGATGCCCCGCTATCAACAGGGCCAGAACCAGCTTACAACGAGCTTA ACCTCGGGAGGCGCAAGAAATACGACGTGTTGGATAAGAGAAGGGGGCGGGACCCCGAGATG GGAGGAAAGCCCGGAGGAAGAACCTCAGGAGGGCCTGTACAACGAGCTGCAAGAAGGATAA GATGGCCGAGGCTACTCAGAGATCGGGATGAAGGGGGAGCGGCCCGGGAGGGGGCAC GATGGGCTTACCAGGGGCTGAGCACAGCCACAAGGACACATACGACGCTTGCACATGCAG GCCCTTCCACCCCGGAATAGTCTAGAGGGCCGTTTAAACCCGCTGATCAGCCTCGACTGTG CCCTTCTAGTCCAGCCATCTGTTGTTGCCCTCCCGCTGCTTCTTCCCTGACCCGGAAGGTG CCATCCCACTGTCTTCTAATAAAATGAGGAAATGATCGCATTGTCTGAGTGGTGTGAT TCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAG GCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGACTAGTGGCGAATTTCCCGTGTACCAGCTGAGAGAC TCTAAATCCAGTGACAAGTCTGTGCTGCTATTACCCGATTTTGATTCTCAAACAATGTGCACA AAGTAAGGATTCTGATGTATATCACAGACAAAAGTGTGCTAGACATGAGGTCTATGGACTTCA AGAGCAACAGTGTGTGGCCTGGAGCAACAACTGACTTTGCATGTGCAACGCCCTTCAACAA

10

20

30

40

50

		CAGCATTATTCCAGAAGACACCTTCTTCCCCAGCCAGGTAAGGGCAGCTTTGGTGCCTTCGCA GGCTGTTTCTTCTTCCAGGAATGGCCAGGTTCTGCCAGAGCTCTGGTCAATGATGTCTAAAA CTCCTCTGATTGGTGGTCTCGGCCTTATCCATTGCCACCAAAACCCCTCTTTTACTAA
32	マトリックスCD25 遺伝子座 IL15_2 A_sIL15Ra pCLS30519	GTTTATTATTCCTGTTCCACAGCTATTGTCTGCCATATAAAAACTTAGGCCAGGCACAGTGGCTC ACACCTGTAATCCCAGCACTTTGGAAGGCCGAGGCAGGCAGATCACAAGGTCAAGGAGTTCGAG ACCAGCCTGGCCAACATAGCAAAACCCCATCTCTACTAAAAATACAAAAATTAGCCAGGCATGG TGGCGTGTGCACTGGTTAGAGTGAAGACCACATTTTTTGGTCCGTGTTACACATATGACCG TGACTTTGTTACACCACTACAGGAGGAAGAGTAGAAGAACAATCGGTTCTGGCGTGAACAGAC TTTTGAATTTGACCTTCTCAAGTTGGCGGGAGACGTGGAGTCCAACCCAGGGCCCGTACCGG GTCCGCCACCATGGACTGGACTGGATTCTGTCTCTCGTGGCTGCTGCTACAAGAGTGACACAG CGGCATTGATGTTTCAATTTGGGCTGTTTCAAGTGCAGGGCTTCTAAAAACAGAAGCCAAGTGG GTGAATGTAATAAGTGATTTGAAAAAAATTAAGATCTTATTCAATCTATGCATATTGATGCTACT TTATATAACGAAAGTGATGTTACCCCAAGTTGCAAAAGTAAACAGCAATGAAGTGTCTTCTCTTGA GTTACAAAGTTATTTCACTTGAAGTCCGGAGATGCAAGTATTGATGATACAGTAGAAAAATCTGATCA TCCTAGCAAAACAGTTTGTCTTCTAATGGGAATGTAACAGAATCTGGATGCAAAAGAAATGTGAG GAACTGGAGAAAAAATATTAAAGAAATTTTGCAGAGTTTTGTACATATTGTCAAAATGTTTCATC AACACTTCTGGAAGCGGAGCTAACTTACGCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAG AACCTTGGACCTGGGACCGGCTCTGCAACCATGGATTGGACGTGGATCCTGTTTCTCGTGGA GCTGCCACAAGAGTTCACAGTACAGTGCCTTCCCTCCCTCCCTGTCGTTGGAACACGCAGACATC TGGCTCAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTACATTTGTAACCTGGTTTTCAAGCGTA AAGCCCGCACCTCCAGCTGACGGAGTGCCTGTTGAACAAGGCCACGAATGTGCGCCACTGG ACAACCCCAAGTCTCAAATGCAATTAGAGACCCCTGCCCTGGTTCAACAAAGGCCAGCCACCC TCCACAGTAACGACGGCAGGGGTGACCCACAGCCAGAGAGCCTCTCCCTTCTGAAAAAGAG CCCGCAGCTTCACTTCCAGCTCAAACAACACAGCGGCCACAAACAGCAGCTATTGTCGGGGG TCCCAGCTGATGCTTCAAATCACCTTCCACAGGAACACAGAGATAAGCAGTCAATGATGCTCT CCACAGGACCCCTCTCAGACAACAGCCAAAGAACTGGGAATCACAAGCTCCGCTCCACCC AGCCGCGAGGTGTATCCACAGGGCCACAGCCAGCAGCCTCTCCCTTCTGAAAAAGAG ACCTGCGGGCAGCTCGAGGAGAACCCTCGGGCCATGGGGCAGGTGCCACCCGCGCCGCA TGGACGGGCGCGCCTGCTGCTGTTGCTGCTTCTGGGGGTGTCCTTGGAGGTGCCAAGGAG GCATGCCCCACAGGCCTGTACACACACACAGCGGTGAGTGTGCAAAAGCCTGCAACCTGGGCGA GGGTGGGGCCAGCCTTGTGGAGCAACAGACCGTGTGTGAGCCCTGCCTGGACAGCGTGA CGTTCTCCGACGTGGTGGAGCGCAGCCGAGCCGTGCAAGCCGTGCAACCGAGTGCCTGGGGCTC CAGAGCATGTGCGCCGCGTGCCTGGAGGCGGATGACGCGCTGTGCCGCTGCGCCTACGGCTA CTACCAGGATGAGACGACTGGGCGCTGCGAGGCGTGCCTGCTGCGAGGGGGGCTCGGGC CTCGTGTCTCTGCCAGGACAAGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCCTGACGGCACGAT TCCGACGAGGCCAACACAGTGGACCCGTGCCTGCCCTGCAACCGTGTGCGAGGACACCGAGCG CCAGCTCGCGAGTGACACGCTGGCCGACGCGGAGTGCAGGAGATCCCTGGCCGTTGAG TTACAGCGTCCACACCCCAAGGGCTCGGACAGCACAGCCCAAGCAGCAGGAGCCTGAG GCACCTCCAGAAACAGCCTCATAGCCAGCACGGTGGCAGGTGTGGTACCACAGTATGAGG CAGCTCCAGCCCGTGGTGAACCCAGGACACCCGACAACCTCATCCCTGTCTATTGCTCCAT CCTGGCTGCTGTGGTTGTGGGTCTTGTGGCTTACATAGCCTTCAAAGAGGTGAAAAACCAAGA ACAAGAAATTTCTGGTAAGAGCCGGGAACAGACAACAGAACTGATGAAGCCCAAGTGAATCA AAGTGCTAAATGTCGCCAGGAGACATCCGTTGTGCTTGCCTGCGTTTTGGAAGCTCTGAA GTACATCAAGGACACGGGCGCAGTGGCAACCTTGTCTATGCCAGCTCAGTCCCTCAGAG AGCGAGCGCTACCCACTTCAAATAGCAATTTGCGCGTTGAAGAGGAAGGGCAAAACCACTAGA ACTCTCCATCTTATTTTCATGTATATGTGTTCA
33	マトリックスPD1 遺伝子座 IL15_2 A_sIL15Ra pCLS30513	GACTCCCCAGACAGGCCCTGGAACCCCCACCTTCTCCCCAGCCCTGCTCGTGGTACCAGAA GGGGACAACGCCACCTTCACTGCAGCTTCTCAACACATCGGAGAGCTTCTGCTAAACTGG TACCGCATGAGCCCCAGCAACCAAGAGCGACAAGCTGGCCGCTTCCCCGAGGACCCGAGCCA GCCCGGCCAGGACTGCCGCTTCCGTGTACACAACCTGCCAACGGGCGTGACTTCCACATGAG CGTGGTCAAGGGCCGCGCAATGACAGCGGCACCTACCTCTGTGGGCGCGTTCTGGCGTGA AACAGACTTTGAATTTGACCTTCTCAAGTTGGCGGGAGACGTGGAGTCCAACCCAGGGCCCG GTACCGGGTCCGCCACCATGGACTGGACCTGGATTCTGTTCTCTGTTGCTGTCTACAAAGAG TGACAGCGGCATTCATGCTTCAATTTGGGCTGTTTCAAGTGCAGGGCTTCTAAAAACAGAAAG CAACTGGGTGAATGTAATAAGTGAATTTGAAAAAAATTAAGATCTTATTCAATCTATGCATATTGA TGCTACTTTATACGGAAGTGAATTTCAACCCAGTTGCAAAAGTAAACAGCAATGAAGTGTCTTC TCTTGGAGTTACAAGTTATTTCACTTGAAGTCCGGAGATGCAAGTATTGATGATACAGTAGAAAAAT CTGATCATCTAGCAAAACAGTGTCTTCTAATGGGAATGTAACAGAACTGGATGCAAAAGA ATGTGAGGAACTGGAGGAAAAAATTTAAAGAAATTTTGCAGAGTTTTGTACATATTGTCAAAAT GTTTCATCAACACTTCTGGAAGCGGAGCTACTAAGTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGT GGAGGAGAACCCTGGACTGGGACCGGCTGCAACCATGGATTGGAGCTGGATCCTGTTTCT CGTGGCAGCTGCCACAAGAGTTCACAGTATCACGTGCCCTCCCTCCATGTCCTGGAAACAGC AGACATCTGGGTCAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTACATTTGTAACCTGTTTTC AAGCGTAAAGCCGCGCAGCTCCAGCCTGACGGAGTGCCTGTTGAACAAGGCCACGAATGTCGC CCAAGTGGACAACCCCAAGTCTCAAATGCAATTAGAGACCCCTGCCCTGGTTCAACAAAGGCCAGC GCCACCCCTCCACAGTAACGAGGCGAGGGGTGACCCACAGCCAGAGAGCCTCTCCCTTCTG GAAAAAGCCCGCAGCTTCTCTCCAGCTCAAACAACACAGCGGCCACAACAGCAGTATTG TCCCGGGCTCCAGCTGATGCCTTCAAATCACCTTCCACAGGAACACAGAGATAAGCAGTCA TGAGTCTCCACGGCACCCCTCTCAGACAACAGCCAAAGAACTGGGAATCACAAGCATCCGC CTCCACCCAGCCGCGAGGTGTATCCACAGGGCCACAGCGACACCACTGAGGGCAGAGGCA GCCTGCTGACCTGCGGCGACGTCGAGGAGAACCCCGGGCCATGGGGCAGGTGCCACCGG CCGCGCATGGACGGGCGCGCTGCTGCTGTTGCTGCTTCTGGGGGTGTCCTTGGAGGTG

10

20

30

40

50

		<p>CCAAGGAGGCATGCCACAGGCCTGTACACACACAGCGGTGAGTGTGCAAAGCCTGCAAC CTGGGCGAGGGTGTGGCCAGCCTTGTGGAGCCAACAGACCGTGTGTGAGCCCTGCCTGGA CAGCGTGACGTTCTCCGACGTGGTGAGCGCGACCGAGCCGTGCAAGCCGTGCACCGAGTGGC TGGGGCTCCAGAGCATGTCCGCGCCGTGCGTGGAGGCCGATGACGCCGTGTGCCGTGCGC CTACGGCTACTACAGGATGAGACGACTGGGCGCTGCAGGGCTGCCGCGTGTCCGAGGCGG GCTCGGGCCTCGTGTCTCCTGCCAGGACAAGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCCCCGAC GGCACGTATCCGACGAGGCCAACACCGTGGACCCGTGCCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGA CACCGAGCGCCAGCTCCGCGAGTGCACACCGTGGGCCGACCGGAGTGCAGGGAGATCCCT GGCCGTTGGATTACACGGTCCACACCCCGAGGGGCTCGGACAGCACAGCCCGCAGCACCA GGAGCCTGAGGCACCTCCAGAACAGACCTCATAGCCAGCAGCGTGGCAGGTGTGGTGACCA CAGTGATGGGCGAGCTCCAGCCCGTGGTACCCGAGGCACCACCGACAACCTCATCCCTGTCT ATTGGCTCCATCCTGGCTGCTGTGGTTGTGGTCTTGTGGCTACATAGCCTTCAAAGAGGTGATC TAGAGGGCCCGTTTAAACCCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCCTTAGTGGCCAGCCATCTGTT GTTGGCCCTCCCGCGTGCCTTCCCTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGCTTTCCATA AAAATGAGGAAATGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCTATTCTATTCTGGGGGTGGGTGGG GCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCT CTATAGTGTGGCGAATTCCGCGCAGATCAAAGAGAGCCCTGCGGGCAGAGCTCAGGGTGACA GGTGGCGCCTCGGAGGCCCGGGGCGAGGGTGAGCTGAGCCGCTCCTGGGGTGGGTGCC CTCCTGCACAGGATCAGGAGCTCCAGGGTCTGAGGGCAGGGACCCCGCAGCTCCAGTCCAGG GCTCTGTCTGCACCTGGGGAATGGTGACCGGCATCTGTCTCTAGCTTGGAAACCCCGC AGCCCTCTAGTGTGCCCTCACCCCTGACCCTGACCCTCCACCCTGACCCCGTCTAACCCCT GACCTTTG</p>	10
34	マトリクス CD25 遺伝子座 IL12a_2A_IL12b pCLS30520	<p>GTTTATTATTCCTGTTCCACAGCTATTGTCTGCCATATAAAAACTTAGGCCAGGCACAGTGGCTC ACACCTGTAATCCAGCACTTTGGAAGGCCGAGGCAGGCAGATCACAAGTCAAGGATTCGAG ACCAGCCTGGCCAACATAGCAAAACCCCATCTCTACTAAAAATACAAAATAGCCAGGCATGG TGGCGTGTGCACTGGTTTGTAGAGTGAAGGACCAATTTTTTGGTGGCCGTGTACACATATGACCG TGACTTTGTACACCACTACAGGAGGAAGATAGAAGAACAATCGTTCTGGCGTGAAGACAGC TTTGAATTTGACCTTCTCAAGTTGGCGGAGACGTGGAGTCCAACCCAGGCCCATGTGGCC CCCTGGGTGACCTCCAGCCACCCGCCCTCACCTGCCGCGGCCACAGGTCTGCATCCAGCGG CTCGCCCTGTGCCCTGCAGTGCAGTGCAGCATGTGTCCAGCGCCGACGCCCTCCTCTTGTGG CTACCCCTGGTCCCTCCTGGACCACTCAGTTTGGCCAGAACCTCCCGGTGCCACTCCAGAC CAGGAAATGTTCCCATGCCCTCACCACTCCAAAACCTGCTGAGGGCCGTACGCAACATGCTCCA GAAGGCCAGACAACTCTAGAATTTACCCTTGCCTTCTGAAGAGATTGATCATGAAGATATCA CAAAAGATAAAACAGCACAGTGGAGGCCCTGTTTACCATTGGAATTAACCAAGAAATGAGAGTTG CCTAAATCCAGAGAGACCTCTTTCACTAATAATGGAGTTGCTGGCCCTCCAGAAAACCTCT TTTATGATGGCCCTGTGCCCTAGTAGTATTATGAAGACTTGAAGATGTACCAGGTGGAGTTCAA GACCATGAATGCAAAGCTTCTGATGGATCCTAAGAGGCAGATCTTCTAGATCAAAACATGCTG GCAGTTATTGATGAGCTGATGCAGGCCCTGAATTTCAACAGTGAAGACTGTGCCCAAAAACCT CCCTTGAAGAACCGGATTTTTATAAACTAAATCAAGCTCTGCATACTTCTCATGCTTTCAGAA TTCCGGCAGTGAATTTGATGAGTATGAGCTATCTGAATGCTTCCGGAAGCGGAGCTACTAA CTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCCTGGACCTATGTGTACCAGCA GTTGGTCACTCTTGGTTTTCCCTGGTTTTCTGGCATCTCCCTCGTGGCCATATGGGAACTGA AGAAAGATGTTTATGTCGTAGAATTGGATTGGATCCGGATGCCCTGGAGAAATGGTGGCTC CACCTGTGACACCCCTGAAGAAGATGGTATCACCTGGACCTTGGACAGAGCAGTGAAGTCTT AGGCTGTGGCAAAACCTGACCATCAAGTCAAAGATTTGGAGATGCTGGCCAGTACACCTGT CACAAAGGAGCGGAGGTTCTAAGCCATTTCGCTCCTGCTGCTTCCAAAAAGGAAAGTGAATTT GGTCCACTGATATTTAAAGGACCAAGAAACCCAAAAATAAGACCTTTCTAAGATGCGAGGC CAAGAATTTCTGGACGTTTACCTGCTGGTGGCTGACGACAACTGACTGATTTGACATTTCA GTGTCAAAAGCAGCAGAGGCTCTTCTGACCCCAAGGGGTGACGTGCGGAGCTGTACTACTCT CTGCAGAGAGAGTCAAGGGGACAACAAGGAGTATGAGTACTCAGTGGAGTGGCAGGAGGAC AGTGCCTGCCAGCTGCTGAGGAGAGTCTGCCATTGAGGTCATGGTGGATGCCCTTCAAA CTCAAGTATGAAAACCTACACAGCAGCTTCTTTCATCAGGGACATCATAAACCTGACCCACCCA AGAACTTGCAGCTGAAGCCATTAAGAATTTCTCGGCAGGTGGAGTCAAGTGGGATACCCTG ACACCTGGAGTACTCCACATTCTACTTCTCCCTGACATTCTGCTTCCAGTCCAGGGCAAGAG CAAGAGAGAAAAGAAAGATAGAGTCTTACGGACAAAGACCTCAGCCACGGTCACTGCGCGCAA AAATGCCAGCATTAGCGTGGGGCCAGGACCGCTACTATAGCTCATCTTGGAGCGAATGGGC ATCTGTGCCCTGCAGTGAAGGCGAGGACGCTGCTGACCTCGCGGACGCTGAGGAGAACC CCGGGCCCATGGGGCAGGTGCCACCGCCGCGCCATGGACGGGCGCGCCTGCTGCTGTT GCTGCTTCTGGGGGTGTCCCTTGGAGGTGCCAAGGAGGCATGCCCCACAGGCCGTGACACAC ACAGCGGTGAGTGTGCAAAAGCCTGCAACCTGGGCGAGGGTGTGGCCAGCCTTGTGGAGCC AACGACCCGTGTGTGAGCCCTGCTGGACAGCGTACGTTCTCCGACGTTGGTGAAGCGGAC CGAGCCGTGCAAGCCGTGCACCGAGTGCCTGGGGCTCCAGAGCATGTGCGCGCCGTGCGTG GAGGCCGATGACGCGCTGTGCCGCTGCGCCTACGGCTACTACAGGATGAGACGACTGGGGC CTGCGAGGCGTGCAGGCTGTGCGAGGCGGGCTCGGGCCTCGTGTCTCCTGCCAGGACAAG AGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCCTGACGGCAGCAGTATCCGACGAGGCCAACACCTGGA CCGTGCTGCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGCGCCAGCTCCGCGAGTGCACACGCTG GGCCGACGCCGAGTGCAGGAGATCCTGGCCGTTGGATTACACGTTCCACACCCCGAGAGG GCTCGGACAGCACAGCCCGAGCAGCAGGAGCCTGAGGCACCTCCAGAACAGACCTCAT GCCAGCACGGTGGCAGGTGTGGTGACCACAGTATGGGCGACTCCAGCCCGTGGTGACCCG AGGCACACCGACAACCTCATCCCTGTCTATTGCTCCATCCTGGCTGCTGTGGTTGTGGTCTT GTGGCCTACATAGCCTTCAAGAGGTGAAAAACCAAAAGAACAAATTTCTTGGTAAGAAGCCG GGAACAGACAACAGAAAGTCAAGAGCCCAAGTGAATCAAAGGTGCTAAATGGTCCGCCAGGA GACATCCGTTGTGCTGCTGCTGCTTTTGAAGCTGAAAGTCAATCACAGGACAGGGGCGAG TGGCAACCTTGTCTATGCCAGCTCAGTCCATCAGAGAGCGAGCGCTACCCACTTCTAAATA</p>	20 30 40

35	マトリックス PD1 遺伝子座 IL12a 2A_IL12b pCLS30511	<p>GCAATTTGCGCGTTGAAGAGGAAGGGCAAACCACTAGAACTCTCCATCTTATTTTCATGTATAT GTGTTTCAT</p> <p>GACTCCCCAGACAGGCCCTGGAACCCCCACCTTCTCCCCAGCCCTGCTCGTGGTACCGAA GGGGACAACGCCACCTTACCTGCAGCTTCTCCAACACATCGGAGAGCTTCGTGCTAAACTGG TACCGCATGAGCCCCAGCAACAGACGGACAAGCTGGCCGCCTTCCCCGAGGACCAGCCAGCCA GCCCGGCCAGGACTGCCGCTTCCGTGTACACAACCTGCCAACGGGCGTGACTTCCACATGAG CGTGGTACAGGCCCGGCCAATGACAGCGGCACCTACCTCTGTGGGGCCGTTCTGGCGTGA AACAGACTTTGAATTTTGACCTTCTCAAGTTGGCGGGAGACGTGGAGTCCAACCCAGGGCCCAT GTGGCCCCCTGGGTGAGCTCCAGCCACCCGCCCTCACCTGCCGCGGCCACAGGCTCGCATC CAGCGGCTCGCCCTGTGCTCCGTGAGTGCAGTGCAGGCTCAGCATGTGTCCAGCGCGCAGCCCTCTC CTTGTGGTACCCTGGTCTCCTGGACCACCTCAGTTTGGCCAGAAACCTCCCCGTGGCCACT CCAGACCCAGGAATGTTCCATGCCTTACCCTCCAAAACCTGCTGAGGGCCGTGAGCAAC ATGCTCCAGAGGCCAGACAACTCTAGAATTTTACCCTTGCATCTTGAAGAGATTGATCATGA AGATATCACAAGAGATAAAACCCAGCACAGTGGAGGCTGTTTACCATTGGAATTAACCAAGAA GAGAGTTGCCATAAATCCAGAGAGACCTTTTCATAACTAATGGGAGTTGCCTGGCCCTCCAGAA AGACCTCTTTTATGATGGCCCTGTGCCTTAGTAGTATTTATGAAGACTTGAAGATGTACCAGGTG GAGTTCAAGACCATGAATGCAAAAGCTTCTGATGGATCCTAAGAGGCAGATCTTTCTAGATCAAAA CATGCTGGCAGTTATTGATGAGCTGATGCAGGCCCTGAAATTTCAACAGTGAGACTGTGCCACAA AACTCCTCCCTGAAGAACCGGATTTTATAAACTAAAATCAAGCTCTGCATACTTCTTTCATGCT TTCAGAAATTCGGGCACTGACTATTGATAGAGTGTAGAGTATCTGAATGTTCCGGAGGCGGAG CTACTAATTTAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGACCTATGTGTC ACCAGCAGTTGGTCTCTCTGGTTTTCCCTGGTTTTCTGGCATCTCCCTCGTGGCCATATGG GAACTGAAGAAAGATGTTTATGTCGTAGAATTGGATTGGTATCCGGATGCCCTGGAGAAATGG TGGTCTCACCTGTGACACCCCTGAAGAAGATGGTATCACCTGGACCTTGGACAGAGCAGTG AGGTCTTAGGCTCTGGCAAAACCCCTGACCATCCAAGTCAAAGAGTTTGGAGATGCTGGCCAGTA CACCTGTACAAAAGGAGGCGAGGTTCTAAGCCATTCGCTCCTGCTGCTTCCAAAAAGGAAGAT GGAATTTGGTCCACTGATATTTAAAGGACCAGAAAGAACCAAAAAAAGACCTTTCTAAGATG CGAGGCCAAGAAATTTCTGGACGTTTTACCTGCTGGTGGCTGACGACAATCAGTACTGATTTG ACATTCAGTGTCAAAGCAGCAGAGGCTTCTGACCCCCAAGGGGTGACGTGCCGAGCTGCT ACACTCTCGCAGAGAGAGTCAAGGGGACAACAAGGAGTATGAGTACTCAGTGGAGTGGCAG GAGGACAGTGCCTGCCAGCTGCTGAGGAGAGTCTGCCATTGAGGTATGGTGGATGCCGTT CACAAGCTCAAGTATGAAAACACACAGCAGCTTCTCATCAGGGACATCATAAACCTGACC CACCCAAAGACTTGCAGCTGAAGCCATTAAGAATTTCTGGCAGGTGGAGGTCACTGGGAGT ACCTGACACCTGGAGTACTCCACATTCCTACTTCTCCCTGACATTCGCTTCCAGGTCAGGG CAAGAGCAAGAGAGAAAAGAAAGATAGAGTCTCACGGACAAGACCTCAGCCACGGTCATCTG CCGCAAAAATGCCAGCATTAGCGTGCAGGCCCCAGGACCCGCTACTATAGCTCATCTTGGAGCGA ATGGGCATCTGTGCCCTGCAGTGAAGGACAGGACAGCCTGCTGACCTGCCGCGCAGCTCCGAG AGAACCCCGGGCCATGGGGGCAAGTGCACCCGCGCCGCGCATGGACGGCCCGCCCTGCT GCTGTTGCTGCTTCTGGGGGTGTCCTTGGAGGTGCCAAGGAGGCATGCCCCACAGGCTGTA CACACACAGCGGTGAGTGTGCAAAAGCCTGCAACCTGGGCGAGGGTGTGGCCAGCCCTTGTG GAGCCAAACAGACCCGTGTGAGCCCTGCCTGGACAGCCTGACCTTCTCCGACGTGGTGAAGC GCCACCGAGCCGTGCAAGCCGTGCACCGAGTGCCTGGGGCTCCAGAGCATGTCCGGCCCGT GCGTGGAGGCCGATGACGCCGTGTCGCGCTGCGCCTACGGCTACTACCAGGATGAGACGACT GGGCGCTGCGAGGCGTGCAGCGTGTGCGAGGCGGGCTCGGGCCCTCGTGTTCCTGCCAGG ACAAGCAGAACACCCGTGTGCGAGGAGTGCACCCGACGGCAGTATTCCGACGAGGCCAACCC GTGGACCCGTGCTGCCCTGCACCCGTGTGCGAGGACACCCGAGCCGAGCTCCGCGAGTGCAC ACGCTGGGCGCAGCCGAGTGCAGGAGATCCCTGGCCGTTGGATTACACGGTCCACACCCC CAGAGGGCTCGGACAGCACAGCCCCAGCACCAGGAGCCTGAGGCACCTCCAGAACAGAC CTCATAGCCAGCACCGGTGGCAGGTGTGGTACCACAGTATGGGCGAGCTCCAGCCCGTGGT GACCCGAGGCCACCCGACAACCTCATCCCTGTCTATTGCTCATCTGGCTGCTGTGGTGTG GGTCTTGTGGCTACATAGCCTTCAAGAGGTGATCTAGAGGGCCCGTTAAACCCGCTGATCA GCCTCGACTGTGCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCTCCCCCGTGCCTTCCCTTGA CCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGCTTCTTCTAATAAAATGAGGAAATTCATCGCATTGCT GAGTAGGTGTCAATCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGG AAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGACTAGTGGCGAATTCGGCCAG ATCAAAGAGAGCCTGCGGGCAGAGCTCAGGGTGACAGGTGCGGCCCTCGGAGGCCCGGGGG AGGGGTGAGCTGAGCCGCTCCTGGGGTGGGTGTCCCTCCTGCACAGGATCAGGAGCTCCAG GGTCTGAGGACAGGACCCCAAGCTCCAGTCCAGGGCTGTCTGACCTGGGGAATGCT GACCCGCTCTGCTCCTAGCTCTGGAAGCACCACCCAGCCCTCTAGTCTGCCCTCACCCT GACCTGACCCTCCACCCTGACCCTCCTAACCCCTGACCTTTG</p>
36	挿入された マトリックスTRAC 遺伝子座_CubiCA R_CD22 (60 ヌクレオチド 上流および 下流)	<p>ATGAGATCATGTCCAAACCTGATCCTCTTGTCCACAGATATCCAGAACCCTGACCCTGTTGCT GGGCTTTTTCCATGCCTGCCCTTACTCTGCCAGATTATTTGCTGGGGTTTTGAAGAAGATC CTATTAATAAAAGAATAAGCAGTATTATTAAGTAGCCCTGCATTTAGGTTTCCCTTGAAGTGGCA GGCCAGGCTGGCCGTGAACGTTCACTGAATCATGGCTCTTGGCCAAAGATTGATAGCTTGT GCCTGTCCCTGAGTCCCAGTCCATCAGGACAGCTGGTTTCTAAGATGCTATTTCCCGTATAAA GCATGAGACCGTGACTTGCAGCCCCACAGAGCCCCGCTTGTCCATCACTGGCATCTGGAC TCCAGCCTGGGTTGGGCAAAAGAGGAAATGAGATCATGTCTTAACCTGATCCTCTTGTGCCA CAGATATCCAGTACCCTACGACGTGCCGACTACGCTCCGGTGGGGCAGAGGAAGTCTTC TAACATGCGGTGACGTGGAGGAGAATCCGGGCCCGGATCCGCTCTGCCCTGACCCGCTG CTGCTGCCACTGGCACTGCTGCTGCACGCTGCTAGGCCGGAGGGGGAGGCGAGCTGCCCTA CAGCAACCCAGCCTGTGCAGCGGAGCGGCGGCGAGCGGGGAGGGGGTGGCAGGTGCAG CTGCAGCAGAGCGGCCCTGGCCTGGTGAAGCAAGCCAGACACTGTCCCTGACCTGGCCAT</p>

10

20

30

40

50

		<p>CAGCGGCGATTCCGTGAGCTCCAACCTCCGCCGCTGGAATTGGATCAGGCAGTCCCTTCTCG GGGCTGGAGTGGCTGGGAAGACATACTATCGGTCTAAGTGGTACAACGATTATGCCGTGTC TGTGAAGAGCAGAAATCACAATCAACCTGACACCTCCAAGAATCAGTTCTCTGACGTGAAT AGCGTGACACACAGAGGACACCGCCGTGTAATAATTGCGCCAGGGAGGTGACCGGCGACCTGGA GGATGCCCTTTGACATCTGGGGCCAGGGCAACAATGGTACCCTGAGCTCCGGAGGGCGCGGAT CTGGCGAGGAGGAAGTGGGGCGGGGAGTGATATCCAGATGACACAGTCCCATCTCT CTGAGCGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGACAATCACCTGTAGGGCCTCCAGACCATCTGGTCT TACCTGAACTGGTATCAGCAGAGGCCCCGGCAAGGCCCTAATCTGCTGATCTACGCAGCAAGC TCCCTGCAGAGCGGAGTGCCATCCAGATTCTGCGAGGGGCTCCGGCACAGACTTACCCTG ACCATCTAGCCTGCAGGCCGAGGACTTCCGCCACTACTATTGCCAGCAGTCTTAGCATCC CCCAGACATTTGGCCAGGGCACCAGCTGGAGATCAAGTCCGATCCCGGAAGCGGAGGGGGA GGCAGCTGCCCTACAGCAACCCAGCCTGTGCAGCGGAGGGCGGCGGACGCGAGCTGCCCA CCCAGGGCACCTTCTCAAACGTGTCCACCAACGTGAGCCAGCCAAAGCCACCACCGCCT GTCCTATTCCAATCCCTTCCGTGTGTCTCCACCAACCCCGCTCCAAGGCCCTACCCT CGCACCAACTATTGCTCCAGCCACTCTCACTGCGGCCCTGAGGCCTGTCCGGCCGCTGCTGG AGGGCGAGTGCATACAAGGGGCTCGATTTCCGCTGCGATATTACATCTGGGCACCCCTCGC CGGCACCTGCGGGGTGCTTCTCCTCTCCCTGTTGATTACCCTGATTGCAGACGGGGCGGAA GAAGCTCCTTACATTTAAGCAGCCTTTCATGCGGCCAGTGACAGACAACCCAAAGAGGAGGAT GGTGTTCTCGAGATCCCTGAGGAAGAGGAAGGGCGGTGCGAGCTGAGAGTGAAGTCTC CAGGAGCGCAGATGCCCGCCTATCAACAGGGCCAGAACCAGCTTACACAGCTTAACT CGGGAGCGCGAAGAATACGACGTGTTGGATAAGAGAGGGGGCGGGACCCCGAGATGGGA GGAAGCCCGGAGGAAGAACCCTCAGGAGGGCCTGTACAACGAGCTGCAGAAAGGATAAGAT GGCCGAGGCCTACTCAGAGATCGGATGAAGGGGAGCGGCCCGCGGGAAGGGGCACGAT GGGCTCTACCAGGGGCTGAGCACAGCCACAAAGGACACATACGACGCTTGCACATGCAGGC CCTCCACCCCGGAATAGTCTAGAGGGCCGTTTAAACCCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCC TTCTAGTGGCAGCCTCTGTTGTTGCCCTCCCGCTGCCCTTCCCTGACCCCTGGAAGGTGCC ACTCCAAGTGTCTTCTAATAAAATGAGAAATTCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCTTC TATTCGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGC ATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGACTAGTGGCGAATCCCGTGTACCAGCTGAGAGACTC TAAATGACCTTCAAGTCTGCTGCTGCTTACCGATTTGATTCTCAAAACAATGTGTACAAA GTAAGGATCTGATGTATATACAGACAAAAGTGTCTAGACATGAGGTCTATGACTTCAAG AGCAACAGTGTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTGCAAAAGCCTTCAACAACA GCATTTCCAGAAAGACACCTTCTCCCGAGCCAGGTAAGGGCAGCTTTGGTGCCTCCGAG GCTGTTCCCTGCTCAGGAATGGCCAGGTTCTGCCAGAGCTCTGGTCAATGATGTCTAAAAC TCCCTGATTGGTGTCTCGCCTTATCCATTGCCACCAAAACCTCTTTTACTAAGAAACAGT GAGCCTTGTCTGGCAGTCCAGAGAATGACACGGGAAAAAAGCAGATGAAGA</p>	<p>10</p> <p>20</p>
<p>37</p>	<p>挿入された マトリクスCD25 遺伝子座_IL15_2 A_sIL15Ra (60 ヌクレオチド 上流および 下流)</p>	<p>AGTGCTGGCTAGAAACCAAGTGCCTTACTGCATGCACATCTTTAGCACAGTTAGTTGCTGTTTA TTATTCCTGTTCCACAGCTATTGTCTGCCATATAAAAATAGGCCAGGCACAGTGGCTCACACC TGTAATCCCAGCCTTTGGAAGGCCGAGGCGAGGACAGTACAAGTCCAGGAGTTCGAGACCCG CTGGCCACATAGCAAAACCCCTCTCTACTAAAAATACAAAAATAGCCAGCATGGTGCCG TGTGCACTGGTTAGAGTGAAGACACATTTTTTGGTGCCGTGTTACACATATGACCGTACTT TGTACACCACTACAGGAGGAGAGTGAAGAACAATCGTTCGGCTGAAACAGACTTTGAA TTTTGACCTTCTCAAGTTGGCGGGAGACGTGGAGTCCAACCCAGGGCCCGGTACCGGGTCCGC CACCATGGACTGGACCTGGATTCTGTTCTCGTGGCTGCTGCTACAAGAGTGCACAGCGGCAT TCATGTCTTCAATTTGGGCTGTTTCAGTGCAGGGCTTCTAAAACAGAAGCCAACTGGTGAAT GTAATAAGTGAATTTGAAAAAATGAAGATCTTATCAATCTAGCATATTGATGCTACTTTATATA CGGAAAGTGAATTTACCCAGTTCGAAAGTAACAGCAATGAAGTGCCTTCTCTGGAGTTACA AGTTATTTACCTTGAAGTCCGAGATGCAAGTATTCATGATACAGTAGAAAAATCTGATCATCTAG CAAAACAACAGTTGTCTTCAATGGAAATGTAACAGAACTGGATGCAAAAGATGTGAGAACT GGAGGAAAAAATATTAAAGAAATTTTGCAGAGTTTTGTACATATTGTCAAATGTTTCATCAAC TTCTGGAAGCGGAGCTACTAACTTCAAGCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAAACCC TGGACCTGGGACCGGCTCTGCAACCATGGATTGGACGTGGATCCTGTTTCTCGTGGCAGCTGC CACAAGAGTTCACAGTATCACGTGCCCTCCCCCATGTCCGTGGAACAGCAGACATCTGGGT CAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTACATTTGTAACCTGTTTCAAGCGTAAAGCC GGCAGCTCCAGCCTGACGGAGTGCCTGTTGAAACAAGGCCACGAAATGTCGCCCACTGGACAAC CCCAAGTCTCAAAATGCATTAGAGACCCTGCCCTGTTTACCAAAGGCCAGCGCACCCCTCCAC AGTAACGACGGCAGGGGTGACCCACAGCCAGAGACCTCTCCCTTCTGAAAAAGGCCG CAGCTTCACTCCAGCTCAAAACAACAGCGGCCACAACAGCAGCTATTGTCGGGGCTCCC AGCTGATGCCCTCAAAATCACCTTCCACAGGAACCACAGAGATAAGCAGTCAATGATCCTCCCA CGCCACCCCTCTCAGACAACAGCCAAGAACTGGAACTCACAGCATCCGCTCCACACAGCC GCCAGGTGTATCCACAGGGCCACAGCGACACCACTGAGGGCAGAGGACGCTGCTGACCT GCGGCGAGCTCGAGGAGAACCCCGGGCCATGGGGCAGGTGCCACCGGCCGCGCCATGGA CGGGCCGCGCTGCTGCTGTTGCTGCTTCTGGGGGTGTCCTTGGAGGTGCCAAGGAGGCAAT GCCCCACAGGCTGTACACACACAGCGGTGAGTGTGCAAAAGCCTGCAACCTGGGCGAGGGT GTGGCCAGCCTTGTGGAGCAACAGACCGTGTGTGAGCCCTGCTGGACAGCGTGACGTT CTCCGACGTGGTGAAGCGGACCGAGCCGTGCAAGCCGTGCACCGAGTGGTGGGGCTCCAGA GCATGTCCGGCCCGTGCCTGGAGGCCGATGACCCGTGTCCGCTGCGCTACGGCTACTAC CAGGATGAGACGACTGGGCGCTGCGAGGCGTCCCGCTGTGCGAGGGCGGGCTCGGGCCTCG TGTTCTCCTGCCAGGACAAGCAGAACCCGTGTGCGAGGAGTGCCTCCGACGGCAGCTATTCCG ACGAGGCCAACACGTGGACCCGTGCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGCGCCAG CTCCGCGAGTGCACAGCTGGGCCGACCGCAGTGCAGGAGATCCCTGGCCGTTGGATTAC ACGGTCCACACCCCAAGGGCTCGGACAGCACAGCCCAAGCAGCAGGAGCCTGAGGCTGAGGCAC CTCCAGAACAGACCTCATAGCCAGCAGGTTGGCAGGTGTTGACACAGTGTGGGAGCT CCCAGCCCGTGGTACCCGAGGCACACCGACAACCTCATCCTGTCTATTGCTCCATCCTGG</p>	<p>30</p> <p>40</p>

10

20

30

40

50

		<p>CTGCTGTGGTTGTGGGCTTTGTGGCCACATAGCCTTCAAGAGGTGAAAAACAAAAGAACAAG AATTTCTTGGTAAGAAGCCGGGAACAGACAACAGAAGTCATGAAGCCCAAGTAAATCAAAGT GCTAAATGGTGCAGGAGACATCCGTTGTGCTTGGCTGCGTTTGGAAAGCTCTGAAGTCACA TCACAGGACACGGGGCAGTGGCAACCTTGTCTATGCCAGCTCAGTCCCATCAGAGAGCGAG CGCTACCCACTTCTAAATAGCAATTTCCGCGTTGAAGAGGAAGGGCAAACCACTAGAAGCTCTC CATCTTATTTTTCATGTATGTGTTTCATTAAGCATGAATGGTATGGAACTCTCTCCACCCTATAT GTAGTATAAAGAAAAGTAGGTT</p>
<p>38</p>	<p>挿入された マトリックスPD1 遺伝子座_IL15_2 A_sil15Ra (60 ヌクレオチド 上流および 下流)</p>	<p>GGTGGCCGGGAGGCTTTGTGGGGCCACCCAGCCCTTCTCACCTCTCTCCATCTCTCAGAC TCCCAGACAGGCCCTGGAACCCCCCACCCTTCTCCCAGCCCTGCTCGTGGTGACCGAAGG GGACAACGCCACCTTACCTGTCAGCTTCTCCAACACATCGGAGAGCTTCGTGCTAAACTGGTAC CGCATGAGCCCCAGCAACAGACGGACAAGCTGGCCGCTTCCCAGGAGCCGACGCCAGCC CGGCCAGGACTGCCGCTTCCGTGTACACAACTGCCAACGGGGCTGACTTCCACATGAGCGT AGTCAGGGCCCGCGCAATGACAGCGGCACCTACCTCTGTGGGGCCGGTTCTGGCGTGAAC GACTTTGAATTTTACCTTCTCAAAGTTGGCGGGAGACGTGGAGTCCAACCCAGGGCCGGTA CCGGGTCCGCCACCATGGACTGGACCTGGATTCTGTTCTCGTGGCTGCTGCTACAAGAGTGC ACAGCGGCATTATGTCTTCAATTTGGGCTGTTTCAAGTGCAGGGCTTCTAAAACAGAAAGCCAA CTGGGTGAATGTAATAAGTGAATTTGAAAAAATTAAGATCTTATTCAATCTATGCATATTGATGC TACTTTATATACGGAAAGTGATGTTCAACCCAGTTGCAAAGTAACAGCAATGAAGTGTCTTCT TGGAGTTACAAGTTATTTCACTTGAAGTCCGGAGATGCAAGTATTCATGATACAGTAGAAAATCTG ATCATCTAGCAAAACAAGTTTGTCTTCTAATGGGAATGTAACAGAACTGGATGCAAAAGATG TGAGGAACTGGAGAAAAAATTAAGAAATTTTGCAGAGTTTTGTACATATTGTCAAATGTT CATCAACACTTCTGGAAGCGGAGCTACTAAGTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGA GGAGAACCCTGGACCTGGGACCGGCTCTGCAACCATGGATTGGAGCTGGATCCTGTTTCTCGT GGCAGCTGCCACAAGAGTTTACAGTATCACGTGCCCTCCCCCATGTCCGTGGAACACGGCAGA CATCTGGGTCAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTACATTTGTAACCTGTGTTTTCAAG CGTAAAGCCGGCAGCTCCAGCCTGACGGAGTGCCTGTTGAACAAGGCCACGAATGTCCGCCA CTGGACAACCCCCAGTCTCAAATGCATTAGAGACCTGCCCTGGTTACCAAAGGCCAGCGCC ACCCCTCAACAGTAACGACGGCAGGGGTGACCCACAGCCAGAGAGCCCTCCCTTCTGGAAA AGAGCCCGCAGCTTCACTCTCCAGCTCAAACAACACAGCGGCCACAAACAGCAGCTATTGTC GGCTCCCGAGCTGATGCCCTCAAATCACCTTCCACAGGAACCCACAGAGATAAGCAGTCAG TCTCCACGGCACCCCTCTCAGACAACAGCCAAAGAACTGGAACTCACAGCATCCGCTCC CACCAGCCGCAAGGTGTGATCCACAGGGCCACAGCGACACCACTGAGGGCAGAGGCAGCCT GCTGACCTGCCGCGACGTGAGGAGAACCCCGGGCCATGGGGCAGGTGCCACCGCCGC GCCATGACGGGCGCGCCTGCTGCTGTGTGCTTCTGGGGGTGCCCTTGGAGGTGCCAA GGAGGCATGCCCCACAGCCCTGTACACACACAGCGGTGAGTGTGCAAAAGCCTGCAACCTGG GCGAGGGTGTGGCCAGCCTTGTGGAGCCAAACAGACCGTGTGTGAGCCCTGCCGTGGACAGC GTGACGTTCTCCGAGCTGTTGAGCGCGACCGAGCCGTGCAAGCCGTGACCCGAGTGCCTGGG GCTCCAGAGCATGTCGGCGCGTGCCTGGAGGCGCATGACGCCGTGTGCCGTGCGCCTACG GCTACTACCAGGATGAGACGACTGGGCGCTGCGAGGCGTGCCTGCTGCGAGGCGGGCTC GGGCTCGTGTCTCTGCCAGGACAAGCAGAACACCCGTGTGGAGGAGGTGCCCCGACGGCA CGTATTCCGACGAGGCCAACCCACGTGACCCCGTGCCTGCCCTGACCCGTGTGCGAGGACACC GAGCGCCAGCTCCGCGAGTGCACACGCTGGGCGGACGCCGAGTGCAGGAGATCCCTGGCC GTTGGATTACACGGTCCACACCCCCAGAGGGCTCGGACAGCACAGCCCCAGCACCCAGGAG CCTGAGGCACCTCCAGAACAAGACCTCATAGCCAGCACGGTGGCAGGTGTGGTGACCAAGTG ATGGGCAAGCTCCAGCCCGTGGTGAACCCGAGGCACCCAGCAACCTCATCCCTGTCTATTG TCCATCCTGGCTGCTGGTGTGGTGTGGTCTTGTGGCCTACATAGCCTTCAAGAGGTGATCTGAG GGCCCGTTAAACCCGCTGATCAGCCTGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTT CCCTCCCCCGTGCCTTCTTACCCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCTTTCTAATAAAAAA GAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGCTATTCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAG GACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTAT GACTAGTGGCGAATTCCGGCGCAGATCAAAGAGAGCCTGCGGGCAGAGCTCAGGGTGACAGGT GCGGCCTCGGAGCCCGGGGCGAGGGTGAAGTGAAGCGGTGCTGAGCCGCTGGGGTGGGTGCCCTC CTGCACAGGATCAGGAGCTCCAGGGTCTGAGGGCAGGGACCCCCAGCTCCAGTCCAGGGCT CTGCTCCTGACCTGGGAATGGTGACCGCATCTGTCTCTAGCTCTGGAAGCACCCAGC CCCTCTAGTCTGCCCTCACCCCTGACCCTGACCCTCACCCCTGACCCCGTCTAACCCCTGAC CTTTGTGCCCTTCCAGAGAGAAGGGCAGAAGTCCCCACAGCCACCCAGCCCTCACCCAGG CC</p>
<p>39</p>	<p>挿入された マトリックスCD25 遺伝子座_IL12a 2A_IL12b (60 ヌクレオチド 上流および 下流)</p>	<p>AGTGTGGCTAGAAAACCAAGTGCTTTACTGCATGCACATCATTTAGCACAGTTAGTTGCTGTTA TTATTCCTGTCCACAGCTATTGTCTGCCATATAAAAACCTTAGGCCAGGCACAGTGGCTCACACC TGTAATCCCAGCACTTTGGAAGGCCGAGGCAGGCAGATCACAAAGTCAAGGATTCGAGACCAG CCTGGCCAACTAGCAAAAACCCATCTCTACTAAAAATACAAAAATAGCCAGGCATGGTGGCG TGTGCACTGGTTAGAGTGAGGACCACATTTTTTTGGTGGCGTGTACACATATGACCGTCACT TGTACACCACTACAGGAGGAAGAGTAGAAGAACAATCGGTTCTGGCGTGAACAGACTTTGAA TTTTGACCTTCTCAAGTTGGCGGGAGACGTGGAGTCCAACCCAGGGCCATGTGGCCCTGG GTCAGCCCTCCAGCCACCCCTCACCTGCCGCGGCCACAGGTCTGCATCCAGCGGCTCGCC CTGTGTCCCTGCAAGTGCAGGCTCAGCATGTGTCCAGCGCGCAGCCCTCCTCTTGTGGCTACCC TGGTCTCCTGGACCACCTCAGTTTGGCCAGAACCCTCCCGTGGCCACTCCAGACCCAGGAA TGTTCCCATGCCTTCAACCTCCAAAACCTGCTGAGGGCGTCAAGCAATGCTCCAGAAAG CCAGACAACTCTAGAAATTTACCCTTGCATCTCTGAAGAGATTGATCATGAAGATATCACAAAA GATAAAACAGCACAGTGGAGGCCCTGTTTACCATTGGAATTAACCAAGAATGAGAGTTGCCTAA ATTCCAAGAGACCTTTTCACTAATGGGAGTTGCCTGGCCTCCAGAAAGACCTTTTATG ATGGCCCTGTGCCTTAGTAGTATTTATGAAGACTTGAAGATGTACCAGGTGGAGTTCAAGACCA</p>

10

20

30

40

50

		<p>TGAATGCAAAGCTTCTGATGGATCCTAAGAGGCAGATCTTTCTAGATCAAAAACATGCTGGCAGTT ATTGATGAGCTGATGCAGGCCCTGAATTTCAACAGTGAGACTGTGCCACAAAAATCCTCCCTTG AAGAACCGGATTTTTATAAACTAAAACAAGCTCTGCATACTTCTTCATGCTTTCAGAAATTCGGG CAGTGACTATTGATAGAGTGATGAGCTATCTGAATGCTTCCGGAAGCGGAGCTACTAACTTCAG CCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGACCTATGTGTACCAGCAGTTGGT CATCTCTTGGTTTTCCCTGGTTTTCTGGCATCTCCCTCGTGGCCATATGGAACTGAAGAAA GATGTTTATGTCGTAGAATTGGATTGGTATCCGGATGCCCTGGAGAAATGGTGGTCTCACCT GTGACACCCCTGAAGAAGATGGTATCACCTGGACCTTGGACCAGAGCAGTGAGGTCTTAGGCT CTGGCAAACCCCTGACCATCCAAGTCAAAGAGTTTGGAGATGCTGGCCAGTACACCTGTCAAA AGGAGGGCAGGTTCTAAGCCATTGCTCCTGTGCTTCAAAAAAGGAAGATGGAATTTGGTCC ACTGATTTTTAAAGGACCAGAAAGAACCCAAAAATAAGACCTTTCTAAGATGCGAGGCCAAGAA TTATTTCTGGACGTTTTACCTGCTGGTGGCTGACGACAATCAGTACTGATTTGACATTCAGTGTCA AAAGCAGCAGAGGCTCTTCTGACCCCAAGGGGTGACGTGCGGAGCTGTACACTCTCTGCAG AGAGAGTCAGAGGGGACAAAGGAGTATGAGTACTCAGTGGAGTCCAGGAGGACAGTCCC TGCCACGCTGCTGAGGAGAGTCTGCCATTGAGGTGATGGTGGATGCCGTTCAACAGCTCAAG TATGAAAACACACCAGCAGCTTCTCATCAGGGACATCATCAAACCTGACCCACCCAAAGAACTT GCAGCTGAAGCCATTAAGAATTCTCGGCAGGTGGAGGTGAGCTGGGAGTACCCCTGACACCTG GAGTACTCCACATTCCTACTTCTCCCTGACATTCGCGTTCAGGTCCAGGGCAAGAGCAAGAGA GAAAAGAAAGATAGAGTCTTACGGACAAGACCTCAGCCACGGTCTATGCGCCAAAAATGCCA GCATTAGCGTGGGGGCCAGGACCGCTACTATAGCTCATCTGGAGCGAATGGGCATCTGTGC CCTGCAGTGAAGGACAGGACAGCCTGCTGACCTGCGGGCAGCTCGAGGAGAAACCCCGGGCC CATGGGGCAGGTGCCACCGGCCGCCATGGACGGGCCGCCCTGCTGCTGTTGCTGCTT TGGGGGTGTCCTTGGAGGTGCCAAGGAGGCATGCCCAAGGGCTGTACACACACAGCGGT GAGTGTGCAAAGCCTGCAACCTGGGCGAGGGTGTGGCCAGCCTTGTGGAGCCAAACAGAC CGTGTGAGCCCTGCTGAGGACAGCGTGACGTTCTCCGACGTGGTGAAGCGGACCCAGCCCT GCAAGCCGTGACCCGAGTGCCTGGGGCTCCAGAGCATGTGCGGCCGTGCGTGGAGGCCGA TGACGCCGTGTCGCGCTGCGCCTACGCTACTACAGATGAGACGACTGGGCGCTGCGAGG CGTGGCCGCTGTGCGAGGCGGGCTCGGGCCTCGTGTTCCTGCCAGGACAAGCAGAAACCC GTGTGCGAGGAGTGGCCGACGCGACGATTCGACGAGGGCCAAACAGTGGACCCGTGCCT GCCCTGCAGCCGTGTGCGAGGACACCGAGCCAGCTCCGCGAGTGCACACGCTGGGGCCGAC GCCGAGTGCAGGAGATCCCTGGCCGTTGATTACAGGTCCACACCCCAAGAGGCTCGGA CAGCACAGCCCCAGCACCAGGAGCCTGAGGCACCTCCAGAAACAGACCTCATAGCCAGCA CGGTGGCAGGTGTGGTGAACACAGTGTGGGCACTCCAGCCGTTGGTGAACCCGAGGACCC ACCGACAACCTCATCCCTGTCTATTGCTCCATCCTGGCTGCTGTGGTGTGGGCTTGTGGCCT ACATAGCCCTTCAAGAGGTGAAAACCAAAGAACAAAGAAATTTCTGTAAGAACCCGGGAACAG ACAACAGAATCATGAAGCCCAAGTGAATCAAAGGTGCTAAATGGTGCACCAGGAGACATCC GTTGTGCTTGCCTGCGTTTTGGAAGCTCTGAAGTACATCACAGGACACGGGGCAGTGGCAAC CTTGTCTCTATGCCAGCTCAGTCCCATCAGAGAGCGAGCGCTACCCACTTCTAAATAGCAATTT CGCCGTTGAAGAGGAAAGGGCAAAACCACTAGAAGTCTCCATCTTATTTTATGATATATGTTTCA TGAATGGTATGGAAGTCTCTCCACCCTATATGATAGTATAAAGAAAAGTAGGTT</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>
<p>40</p>	<p>挿入された マトリックス PD1 遺伝子座_IL12a 2A_IL12b (60 ヌクレオチド 上流および 下流)</p>	<p>GGTGGCCGGGAGGCTTGTGGGGCCACCCAGCCCTTCTCACCTCTCTCCATCTCTCAGAC TCCCCAGACAGGCCCTGGAACCCCCCACTTCTCCCAAGCCCTGCTCGTGGTGAACCGAAGG GGACAAGCCACCTTACCTGCAGCTTCTCAACACATCGGAGAGCTTCGTGCTAAACTGGTAC CGCATGAGCCCGAGCAACCGAGCAGCAAGCTGGCCGCTTCCCGAGGACCCGAGCCAGCC CGGCCAGGACTGCCGTTCCGTGTACACAACCTGCCAACGGGCGTACTTCCACATGAGCGT GGTCAAGGGCCCGCGCAATGACAGCGGCACCTACCTGTGGGGCCGGTTCGGCGTGAAC AGACTTTGAATTTGACCTTCTCAAGTTGGCGGGAGAGCTGGAGTCCAACCCAGGGCCATGT GGCCCCCTGGGTCAGCTCCAGCCACCGCCCTACCTGCGCGGCCACAGGCTGTGCATCCA GCGGCTCGCCCTGTGTCCCTGCAGTCCGCGCTCAGCATGTGTCCAGCGCGCAGCCCTCTCTT GTGGCTACCCTGGTCTCTGACCACCTCAGTTTGGCCAGAAACCTCCCGTGGCCACTCCA GACCCAGGAATGTTCCCATGCCTTACCCTCCCAAAACCTGCTGAGGGCCGTCAGCAACATG CTCCAGAAGGCCAGACAAACTTAGAATTTACCCCTTGCATCTTGAAGAGATTGATCATGAAGA TATCAAAAAGATAAAACAGCAGCAGTGGAGCCCTGTTTACCATTGGAATTAACCAAGAAATGAG AGTTGCTTAAATTCAGAGAGACCTTTTATAAATAAGTGGAGTTGCTGGCCCTCCAGAAAGA CCTCTTTTATGATGGCCCTGTGCCTTAGTAGTATTTATGAAGACTTGAAGATGTACCAGGTGGAG TTCAAGACCATGAATGCAAAGCTTCTGATGGATCCTAAGAGGCAGATCTTTCTAGATCAAAACAT GCTGGCAGTTATTGATGAGCTGATGCAGGCCCTGAATTTCAACAGTGAGACTGTGCCACAAAA TCTCCCTTGAAGAACCGGATTTTTATAAACTAAAACAAGCTCTGCATACTTCTTCATGCTTTT AGAATTCGGGCACTGACTATTGATAGAGTGATGAGCTATCTGAATGCTTCCGGAAGCGGAGCTA CTAAGTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGACCTATGTGTACC AGCAGTTGGTCATCTCTTGGTTTTCCCTGGTTTTCTGGCATCTCCCTCGTGGCCATATGGGAA CTGAAGAAAGATGTTTATGTCGTAGAATTGGATTGGTATCCGGATGCCCTGGAGAAATGGTGG TCTCACCTGTGACACCCCTGAAGAAGATGGTATCACCTGGACCTTGGACCAGAGCAGTGAGG TCTTAGGCTGTGGCAAACCCCTGACCATCCAAGTCAAAGAGTTTGGAGATGCTGGCCAGTACAC CTGTCAAAAAGGAGGCGAGGTTCTAAGCCATTGCTCCTGCTGCTTCAAAAAGGAAGATGGA ATTTGGTCCACTGATTTTTAAAGGACCAGAAAGAACCCAAAAATAAGACCTTTCTAAGATGCGA GGCCAAGAATTTATCTGGACGTTTTACCTGCTGGTGGCTGACGACAATCAGTACTGATTTGACA TTCACTGTCAAAAAGCAGCAGAGGCTTCTGACCCCAAGGGGTGACGTGCGGAGCTGTCTACA CTCTCTGCAGAGAGAGTCAAGGGGACAAACAAGGAGTATGAGTACTCAGTGGAGTGCCAGGAG GACAGTGCCTGCCAGCTGCTGAGGAGAGTCTGCCATTGAGGTGATGGTGGATGCCGTTTAC AAGCTCAAGTATGAAAACACACCAGCAGCTTCTCATCAGGGACATCATCAAACCTGACCCAC CCAAGAATTCAGCTGAAGCCATTAAGAATTCTCGCAGGTGGAGGTGAGCTGGGAGTACC CTGACACCTGGAGTACTCCACATTCCTACTTCTCCCTGACATTCGCGTTCAGGTCCAGGGCAA GAGCAAGAGAGAAAAGAAAGATAGAGTCTTACGGACAAGACCTCAGCCACGGTCACTGCCG</p>	<p>40</p> <p>50</p>

		CAAAAATGCCAGCATTAGCGTGCGGGCCAGGACCGCTACTATAGCTCATCTTGGAGCGAATGGCATCTGTGCCCTGCAGTGAGGGCAGAGGCAGCCCTGCTGACCTGCGGGCAGCTCGAGGAGAACCCCGGGCCCATGGGGCAGGTGCCACCGGCCCGCCATGGACGGGGCCGCGCTGCTGCTGTTGCTGCTTCTGGGGGTGTCCTTGGAGGTGCCAAGGAGGCATGCCCCACAGGCCTGTACACACACAGCGGTGAGTGCTGCAAAGCCTGCAACCTGGGCGAGGGTGTGGCCAGCCCTTGTGGAGCCAACCAGACCCTGTGTGAGCCCTGCTGGACAGCGTGACGTTCTCCGACGTGGTGAGCGCCGACCGAGCCGTGCAAGCCGTGCACCGAGTGCGTGGGGCTCCAGAGCATGTGGCGCCGTGCGTGGAGGCCGATGACGCCGTGTGCCCTGCGCCCTACGGCTACTACAGGATGAGACGACTGGGCGCTGCGAGGCGTGCCGCGTGTGCGAGGCGGGCTGGGGCCTCGTGTTCCTGCCAGGACAAGCAGAACACCCGTGTGCGAGGAGTGCCCGACGGCACGTATTCCGACGAGGCCAACCCAGTGGACCCGTGCTGCCCTGCACCCGTGTGCGAGGACACCGAGCGCCAGCTCCGCGAGTGACACCGTGGGCCGACGCCGAGTGCGAGGAGATCCCTGGCCGTTGGATTACACGGTCCACACCCCCAGAGGGCTCGGACAGCACAGCCCCAGCACCCAGGAGCCCTGAGGCACCTCCAGAACAGACCCCTATAGCCAGCACGGTGGCAGGTGTGGTGACCACAGTGATGGGCAGCTCCAGCCCGTGGTGACCCGAGGCACCCGACAACTCATCCCTGTCTATTGCTCCATCCTGGCTGCTGTGGTGTGGGTCTGTGGCCCTACATAGCCTTCAAGAGGTGATCTAGAGGGCCCGTTAAACCCGCTGATCAGCCCTGACTGTGCCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTCCCTCCCGTGCCTTCCCTTGACCCCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGTCTTCCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCACTTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTATGACTAGTGGCGAATTCGGCGCAGATCAAAGAGAGCCTGCGGGCAGAGCTCAGGGTGACAGGTGCGGGCCTCGGAGGCCCGGGGCAGGGGTAGACTGAGCCGGTCTGGGGTGGGTGCCCTCCTGCACAGGATCAGGAGCTCCAGGGTCGTAGGGCAGGGACCCCCAGCTCCAGTCCAGGGCTGTCTGCACTGGGAATGGTGACCGGCATCTGTCTGTAGCTGTGAAGCACCCAGCCCTTAGTCTGCCCTCACCCTGACCCCTGACCCCTGACCCCGTCAACCCCTGACCTTTGTGCCCTCCAGAGAGAAGGGCAGAGTGCCACAGCCACCCAGCCCTCACCCAGGCC	10
41	上流 TRAC 遺伝子座 ホドヌレオホド 配列	ATGAGATCATGTCCTAACCCCTGATCCTCTTGTCCCACAGATATCCAGAACCCTGACCCTG	
42	下流 TRAC 遺伝子座 ホドヌレオホド 配列	GAAACAGTGAGCCTTGTCTGGCAGTCCAGAGAATGACACGGGAAAAAGCAGATGAAGA	20
43	上流 CD25 遺伝子座 ホドヌレオホド 配列	AGTGCTGGCTAGAAACCAAGTGCTTTACTGCATGCACATCATTAGCACAGTTAGTTGCT	
44	下流 CD25 遺伝子座 ホドヌレオホド 配列	GAATGGTATGGAACCTCTCCACCCTATATGTAGTATAAAGAAAAGTAGGTT	
45	上流 PD1 遺伝子座 ホドヌレオホド 配列	GGTGGCCGGGAGGCTTTGTGGGGCCACCCAGCCCTTCTCACCTCTCTCCATCTCTCA	30
46	下流 PD1 遺伝子座 ホドヌレオホド 配列	TGCCCTTCCAGAGAGAAGGGCAGAAGTGCCACAGCCACCCAGCCCTCACCCAGGCC	
47	IL-12a ホドヌレオホド 配列	ATGTGGCCCCCTGGGTGAGCCTCCAGCCACCGCCCTCACCTGCCGCGCCACAGGTCTGCATCCAGCGGCTCGCCCTGTGTCCCTGCAGTGCCGGCTCAGCATGTGTCCA GCGCGCAGCCTCCTCCTTGTGGCTACCTGGTCCCTCCTGGACCACCTCAGTTTGGC CAGAAACCTCCCGTGGCCACTCCAGACCCAGGAATGTTCCCATGCCTTCAACCT CCCCCAACCTGCTGAGGGCCGTGAGCAACATGCTCCAGAAGGCCAGACAACTTA GAATTTTACCCTTGCACTTCTGAAGAGATTGATCATGAAGATATCACAAAAGATAAAA CCAGCACAGTGGAGGCCTGTTTACCATTGGAATTAACCAAGAATGAGAGTTGCCATAA ATTCCAGAGAGACCTTTTATAACTAATGGGAGTTGCCTGGCCCTCCAGAAAGACCT CTTTTATGATGGCCCTGTGCCTTAGTAGTATTTATGAAGACTTGAAGATGTACCAGGT GGAGTTCAAGACCATGAATGCAAAGCTTCTGATGGATCCTAAGAGGCAGATCTTTCT AGATCAAAACATGCTGGCAGTTATTGATGAGCTGATGCAGGCCCTGAATTTCAACAG	40

10

20

30

40

50

		TGAGACTGTGCCACAAAAATCCTCCCTTGAAGAACCGGATTTTTATAAACTAAAAATC AAGCTCTGCATACTTCTTCATGCTTTCAGAATTCGGGCAGTACTATTGATAGAGTGA TGAGCTATCTGAATGCTTCC	
48	IL12b ポヌクオ升	ATGTGTACCAGCAGTTGGTCATCTCTGGTTTTCCCTGGTTTTCTGGCATCTCCCC TCGTGGCCATATGGGAACTGAAGAAAGATGTTTATGTCGTAGAATTGGATTGGTATC CGGATGCCCCCTGGAGAAATGGTGGTCTCACCTGTGACACCCCTGAAGAAGATGGT ATCACCTGGACCTTGGACCAGAGCAGTGAGGTCTTAGGCTTGGCAAACCCCTGAC CATCCAAGTCAAAGAGTTTGGAGATGCTGGCCAGTACACCTGTACAAAAGGAGGCG AGGTTCTAAGCCATTGCTCCTGCTGCTTACAAAAAGGAAGATGGAATTTGGTCCA CTGATATTTAAAGGACCAGAAAGAACCCAAAAATAAGACCTTTCTAAGATGCGAGG CCAAGAATTATTCTGGACGTTTACCTGCTGGTGGCTGACGACAATCAGTACTGATT TGACATTCAGTGTCAAAGCAGCAGAGGCTTCTGACCCCAAGGGGTGACGTGC GGAGCTGCTACACTCTCTGCAGAGAGAGTCAGAGGGGACAACAAGGAGTATGAGTA CTCAGTGGAGTGCAGGAGGACAGTGCCTGCCAGCTGCTGAGGAGAGTCTGCC ATTGAGGTGATGGTGGATGCCGTTACAAGCTCAAGTATGAAAACACACCAGCAGC TTCTTCATCAGGGACATCATCAAACCTGACCCACCCAAGAATTGACGCTGAAGCCA TTAAAGAATTTCTCGCAGGTGGAGGTGAGTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGTAC TCCACATTTCTACTTCTCCCTGACATTCTGCGTTTCAAGTCCAGGGCAAGAGCAAGAG AGAAAAGAAAGATAGAGTCTTACGGACAAAGACCTCAGCCACGGTCATCTGCCGCA AAAATGCCAGCATTAGCGTGGGGCCAGGACCGCTACTATAGCTCATCTTGGAGC GAATGGGCATCTGTGCCCTGCAGT	10
49	IL15 ポヌクオ升	GGCATTATGCTTTCATTTTGGGCTGTTTCAGTGCAGGGCTTCTAAAAACAGAAGCC AACTGGGTGAATGTAATAAGTGATTTGAAAAAATTGAAGATCTTATCAATCTATGC ATATTGATGCTACTTTATATACGGAAAGTGATGTTCAACCCAGTTGCAAAGTAACAGC AATGAAGTGCTTTCTCTGGAGTTACAAGTTATTTCACTTGAGTCCGGAGATGCAAGT ATTCATGATACAGTAGAAAACTGATCATCTAGCAAACAACAGTTTGTCTTCTAATG GGAAATGTAACAGAATCTGGATGCAAAGAATGTGAGGAACTGGAGGAAAAAATATTA AAGAAATTTTGCAGAGTTTTGTACATATTGTCCAATGTTTCATCAACTTCT	20
50	sIL15ra ポヌクオ升	ATCACGTGCCCTCCCCCATGTCCGTGGAACACGCAGACATCTGGGTCAAGAGCTA CAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTACATTTTGAACCTCTGGTTTTCAAGCGTAAAGCCGG CACGTCCAGCCTGACGGAGTGCCTGTTGAACAAGGCCACGAATGTCGCCCACTGGA CAACCCCACTGCTCAAATGCATTAGAGACCTGCCCTGGTTCAACAAAGGCCAGCG CCACCCCTCCACAGTAACGACGGCAGGGGTGACCCCAACAGCAGAGAGCCTCTCCC CTTCTGGAAAAGAGCCCGCAGCTTCTCTCCAGCTCAAACAACACAGCGGCCACA ACAGCAGCTATTGTCCCGGGCTCCAGCTGATGCCTTCAAATCACCTTCCACAGGA ACCACAGAGATAAGCAGTCATGAGTCTCCACGGCACCCCTCTCAGACAACAGC CAAGAACTGGGAACTCACAGCATCCGCTCCACCAGCCGCCAGGTGTGTATCCAC AGGGCCACAGCGACACCACT	20
51	可溶性 GP130 ポヌクオ升	ATGCTGACTGCAGACTTGGCTGGTGCAGGCACTGTTTATTTTCTGACTACTGAA TCAACTGGCGAACTGCTGGACCCTTGTGGCTACATCAGCCCTGAGTCCCCAGTGGT GCAGCTGCACAGCAACTTCACCGCCGTGTGCGTGTGAAGGAGAAGTGTATGGACT ACTTTACGTGAACGCCAATTATATCGTGTGGAAAACCAACCACTTCAATCCCCAA GGAGCAGTACACCATCATCAATAGGACAGCCAGCTCCGTGACCTTTACAGACATCG CCTCCCTGAACATCCAGCTGACCTGCAATATCCTGACATTCGCCAGCTGGAGCAG AACGTGTATGGCATCACCATCATCTCTGGCCTGCCCCCTGAGAAGCCTAAGAACCTG AGCTGCATCGTGAATGAGGGCAAGAAGATGCGGTGTGAGTGGGACGGCGGCAGAG AGACACACCTGGAGACAACTTACCCTGAAGTCCGAGTGGGCCACACACAAGTTT GCCGACTGCAAGGCCAAGCGCGATACCCCAACATCCTGTACCGTGGATTACTCTAC AGTGTATTTTGTGAACATCGAAGTGTGGGTGGAGGCCGAGAATGCCCTGGGCAAGG TGACCTCCGACCACATCAACTTCGATCCCGTGTACAAGGTGAAGCCTAACCCACCCC ACAATCTGAGCGTGTCAATTCGAGGAGCTGTCTAGCATCCTGAAGCTGACCTGGA CAAACCCATCTATCAAGAGCGTGATCATCCTGAAGTACAATATCCAGTATCGGACCA AGGACGCCCTCCACATGGAGCCAGATCCCTCCAGAGGATACCCGACGACAAAGATCC TCTTTACCGTGCAGGACCTGAAGCCCTTACAGAGTACGTGTTTCGGATCAGATGT ATGAAGGAGGACGGCAAGGGCTACTGGAGCGATTGGTCCGAGGAGGCCAGCGGCA TCACCTATGAGGACAGGCCTTCAAGGCCCCAGCTTCTGGTACAAGATCGATCCAT CCCACACCCAGGGCTATCGCACAGTGCAGCTGGTGTGGAAAACCCCTGCCCCCTTTC GAGGCCAACGGCAAGATCCTGGACTACGAGGTGACCCCTGACACGGTGGAAATGCC ACCTGCAGAACTATACCGTGAATGCCACCAAGCTGACAGTGAACCTGACAAATGATC GGTACCTGGCCACCCTGACAGTGAGAAACCTGGTGGGCAAGTCTGACGCCGCCGT GCTGACCATCCCTGCCTGCGATTTCCAGGCCACACACCCAGTGTGGACCTGAAGG CCTTTCCAAGGATAATATGCTGTGGGTGGAGTGGACCACACCTAGAGAGTCCGTG	30

10

20

30

40

50

		AAGAAGTACATCCTGGAGTGGTGCCTGCTGTCTGACAAGGCCCATGTATCACCGA CTGGCAGCAGGAGGATGGCACCCGTGCACAGGACATATCTGCGCGGCAACCTGGCC GAGTCTAAGTGTACCTGTATCACCGTGACACCCGTGTATGCAGACGGACCAGGCTC TCCTGAGAGCATCAAGGCCTACCTGAAGCAGGCACCACCAAGCAAGGGACCAACCG TGCGGACAAAGAAGGTGCGCAAGAATGAGGCCGTGCTGGAGTGGGACCAGCTGCC TGTGGATGTGACAGAACGGCTTCATCAGGAATTACACCATCTTTTATCGCACAAATCATC GGCAACGAGACAGCCGTGAATGTGGACAGCTCCACACCCGAGTATACACTGTCTAG CCTGACCTCCGATACACTGTACATGGTGAGGATGGCCGCCTATACAGACGAGGGCG GCAAGGATGGCCCCGAGTTT	
52	IgE シグナル 配列	GGTACCGGGTCCGCCACCATGGACTGGACCTGGATTCTGTTCCCTCGTGGCTGCTGC TACAAGAGTGCACAGC	
53	F2A	GGTCTCGCGTGAACAGACTTTGAATTTTGACCTTCTCAAGTTGGCGGGAGACGTG GAGTCCAACCCAGGGCCC	10
54	P2A	GGAAGCGGAGCTACTAAGTTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGA ACCCTGGACCT	
55	T2A	GAGGGCAGAGGCAGCCTGCTGACCTGCGGCGACGTGAGGAGAACCCCGGGCCC	
56	LNGFR	ATGGGGCAGGTGCCACCGGCCGCGCCATGGACGGGCGCGCCTGCTGCTGTTG CTGCTTCTGGGGGTGTCCCTTGGAGGTGCCAAGGAGGCATGCCCCACAGGCCTGT ACACACACAGCGGTGAGTGTGCAAAGCCTGCAACCTGGGCGAGGGTGTGGCCCA GCCTTGTGGAGCCAACCAGACCGTGTGTGAGCCCTGCCTGGACAGCGTGACGTTCT CCGACGTGGTGAGCGGACCGAGCCGTGCAAGCCGTGCACCGAGTGCCTGGGGC TCCAGAGCATGTGCGCGCCGTGCGTGGAGGCCGATGACGCCGTGTGCGCGTGC CTACGGCTACTACCAGGATGAGACGACTGGGCGCTGCGAGGCGTGCCCGTGTGC GAGGCGGCTCGGGCCTCGTGTCTCCTGCCAGGACAAGCAGAACACCGTGTGCG AGGAGTGCCCGACGGCACGTATCCGACGAGGCCAACCACGTGGACCCGTGCCT GCCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGCGCCAGCTCCGCGAGTGCACACGCTGG GCCGACCGCGAGTGCAGGAGATCCCTGGCCGTTGGATTACACGGTCCACACCCC CAGAGGGCTCGGACAGCACAGCCCCAGCACCCAGGAGCCTGAGGCACCTCCAGA ACAAGACCTCATAGCCAGCACGGTGGCAGGTGTGGTGACCACAGTGTGGGCAGCT CCCAGCCCGTGGTGACCCGAGGCACCACCGACAACCTCATCCCTGTCTATTGCTCC ATCCTGGCTGCTGTGGTTGTGGTCTGTGGCCTACATAGCCTTCAAGAGGTGA	20
SEQ ID NO#	配列 名	ポリペプチド配列	
57	IL-12a ポリペプチド	MWPPGSASQPPSPAAATGLHPAARPVSLQCRLSMCPARSLLLVATLVLLDHL SLARNL PVATPDGMPFCLHHSQNLRAVSNMLQKARQTLFYPCTSEEIDHEDITKDKTSTVEA CLPLELTKNESCLNSRETSFITNGSCLASRKTSMFMMALCLSSYEDLKMVQVEFKTMNAK LLMDPKRQIFLDQNMLAVIDELMQALNFNSETVPQKSSLEEDFYKTKIKLCILLHAFRIRA VTIDRVMSYLNAS	30
58	IL12b ポリペプチド	MCHQQLVSIWFSVLFLASPLVAIWELKKDVYVVELDWYPDAPGEMVVLTC DTPPEEDGIT WTLDDQSSEVLGSGKTLTIQVKEFGDAGQYTKHKGGEVLSHSLLLHKKEDGIWST DILKD QKEPKNKTLRCEAKNYSGRFTCWWTITSTDLTFVSKSSRGSSDPQGVTCGAATLSAE RVRGDNKEYEYSVEQCEDSACPAEESLPIEVMVDAVHKLKYENYTSFFIRDIIKPDPP KNLQKPLKNSRQVEVSWEYPTWSTPHSYFSLTFCVQVQKSKREKKDRVFTDKTSA TVICRKNASISVRAQDRYSSSWSEWASVPCS	30
59	IL15 ポリペプチド	GIHVFILGCFSAGLPKTEANVWVVISDLKKIEDLIQSMHIDATLYTESDVHPSCKV TAMKC FLELQVISLESGLDASIHDTVENLILANNLSNGNVTESGCKECEELEEKNIKEFLQSFV HIVQMFINTS	
60	sIL15ra ポリペプチド	ITCPPPMSVEHADIWVKSYSLYSRERYICNSGFKRKAGTSSSLTECVLNKATNVA HWTTPS LKCIRDPALVHQRAPPSTVTTAGVTPQPESLSPSGKEPAASSPSSNNTAATTAIVPGS QLMPSKSPSTGTTEISSHESSHGTPSQTTAKNWELTASASHQPPGVYPQGHSDTT	
61	可溶性 gp130	MLTLQTWLVQALFIFLTTESTGELLDPCCGYISPESPVVQLHSNFTAVCVLKEK CMDYFHV NANYIVWKTNHFTIPKEQYTIINRTASSVFTFDIASLNIQLTCNILTFGQLEQNVY GITIISGL	40

10

20

30

40

50

TAGCTCACTCATTAGGCACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGT
 GTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACG
 CCAAGCGCGTCAATTAACCCCTCACTAAAGGGAAACAAAAGCTGTTAATTAATTGCTGG
 GCCTTTTTCCATGCCTGCCCTTACTCTGCCAGAGTTATTGCTGGGGTTTTGAAGA
 AGATCCTATTAATAAAAAGAATAAGCAGTATTATTAAGTAGCCCTGCATTTAGGTTT
 CCTTGAGTGGCAGGCCAGGCCTGGCCGTGAACGTTCACTGAAATCATGGCCTCTTG
 GCCAAGATTGATAGCTTGTGCCTGTCCCTGAGTCCCAGTCCATCACGAGCAGCTGG
 TTTCTAAGATGCTATTTCCCGTATAAAGCATGAGACCGTGACTTGCCAGCCCCACAG
 AGCCCCGCCCTGTCCATCACTGGCATCTGGACTCCAGCCTGGGTTGGGGCAAAGA
 GGGAAATGAGATCATGTCTAACCCCTGATCCTCTTGCCACAGATATCCAGTACCC
 CTACGACGTGCCCGACTACGCCTCCGGTGAGGGCAGAGGAAGTCTTCTAACATGCC
 GTGACGTGGAGGAGAATCCGGGCCCGGATCCGCTCTGCCCGTCACCGCTCTGCT
 GCTGCCACTGGCCTAGCTGTGCACGCTGTAGGCCCGGAGGGGGAGGCAGCTGC
 CCCTACAGCAACCCAGCCTGTGCAGCGGAGGGCGGCGGACGCGGGAGGGGCTG
 AGCCAGGTGCAGCTGCAGCAGAGCGGCCCTGGCCTGGTGAAGCCAAGCCAGACAC
 TGTCCCTGACCTGCGCCATCAGCGGCGATTCCGTGAGCTCCAACCTCCGCCGCTGG
 AATTGGATCAGGCAGTCCCCTTCTCGGGGCTGGAGTGGCTGGGAAGGACATACTA
 TCGGTCTAAGTGGTACAACGATTATGCCGTGTCTGTGAAGAGCAGAATCACAATCAA
 CCCTGACACCTCCAAGAATCAGTTCTCTGTCAGCTGAATAGCGTGACACCAGAGGA
 CACCGCCGTGTACTATTGCGCCAGGGAGGTGACCGGCGACCTGGAGGATGCCTTT
 GACATCTGGGGCCAGGGCACAAATGGTGACCGTGAGCTCCGGAGGCGCGGATCTG
 GCGGAGGAGGAAGTGGGGCGGCGGGAGTGATATCCAGATGACACAGTCCCCATC
 CTCTCTGAGCGCCTCCGTGGGCGACAGAGTGACAAACCTGTAGGGCCTCCAGAG
 CCATCTGGTCTTACCTGAACCTGGTATCAGCAGAGGGCCCGGCAAGGCCCTAATCTG
 CTGATCTACGAGCAAGCTCCCTGCAGAGCGGAGTGCCATCCAGATTCTCTGGCAG
 GGGCTCCGGCACAGACTTACCCTGACCATCTCTAGCCTGCAGGCCGAGGACTTCCG
 CCACCTACTATTGCCAGCAGTCTTATAGCATCCCCAGACATTTGGCCAGGGCACC
 AGCTGGAGATCAAGTCCGATCCCGGAAGCGGAGGGGGAGGCAGCTGCCCTACAG
 CAACCCAGCCTGTGCAGCGGAGGGCGGCGGACGCGAGCTGCCACCCAGGGCAC
 TTCTCCAACGTGTCCACCAACGTGAGCCCAGCCAAGCCCACCACCACCGCCTGTC
 CTTATTCCAATCCTTCCCTGTGTGCTCCACCAACAACCCCGCTCCAAGGCCCCCTA
 CCCCCGACCAACTATTGCCTCCAGCCACTCTCACTGCGGCCTGAGGCCTGTCCGG
 CCCGCTGCTGGAGGCGCAGTGCATACAGGGGCTCGATTTCCGCTGCGATATTTA
 CATCTGGGCACCCCTCGCCGCGCACCTGCGGGGTGCTTCTCCTCTCCCTGGTGATTA
 CCCTGTATTGCAGACGGGGCCGGAAGAAGCTCCTCTACATTTTTAAGCAGCCTTTCA
 TCGGGCCAGTGACAGACAACCCAAGAGGAGGATGGGTGTTCCCTGCAGATTCCTGAG
 GAAGAGGAAGGCGGGTGCGAGCTGAGAGTGAAGTTCACAGGAGCGCAGATGCCC
 CCGCCTATCAACAGGGCCAGAACCAGCTCTACAACGAGCTTAACCTCGGGAGGGCG
 GAAGAATACGACGTGTTGGATAAGAGAAGGGGGCGGGACCCCGAGATGGGAGGAA
 AGCCCCGAGGAAGAACCCTCAGGAGGGCCTGTACAACGAGCTGCAGAAGGATAA
 GATGGCCGAGGCCTACTCAGAGATCGGGATGAAGGGGGAGCGCGCCCGCGGAA
 GGGGCACGATGGGCTTACCAGGGGCTGAGCACAGCCACAAAGGACACATACGAC
 GCCTTGCACATGCAGGCCCTTCCACCCCGGGAATAGTCTAGAGGGCCCGTTAAAC
 CCGCTGATCAGCCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTGCCCTC
 CCCCCTGCCTTCCCTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGTCTTTCTAATAAAA
 TGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCAATCTATTCTGGGGGGTGGGGT
 GGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGAT
 GCGGTGGGCTCTATGACTAGTGGCGAATTCCTGTACCAGCTGAGAGACTTAAA
 TCCAGTGACAAGTCTGTCTGCCTATTCACCGATTTTGATTCTCAAACAAATGTGTAC
 AAAGTAAGGATTCTGATGTGTATATCACAGACAAAACCTGTGCTAGACATGAGGTCTAT
 GGACTTCAAGAGCAACAGTGTGTGGCCTGGAGCAACAAATCTGACTTTGCATGTG
 CAAACGCCTTCAACAACAGCATTATTCAGAAGACACCTTCTTCCCAGCCCAGGTA
 AGGGCAGCTTTGGTGCCTTGCAGGGCTGTTTCCCTTGCTTACAGGAATGGCCAGGTT
 TGCCAGAGCTCTGGTCAATGATGTCTAAAACCTCTGATTGGTGGTCTCGGCCCT
 ATCCATTGCCACCAAAACCCTCTTTTACTAAGCGATCGCTCCGGTGCCCGTCAGTG
 GGCAGAGCGCACATGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGGGGGGAGGGGTCCGGCAAT
 TGAACGGGTGCCAGAGAAGGTGGCGGGGTAACCTGGGAAAGTATGTCGTGT
 ACTGGCTCCGCCTTTTCCGAGGGTGGGGGAGAACCCTATATAAGTGCAGTAGTC
 GCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGCTGAAGCTTCG
 AGGGGCTCGCATCTCTCCTTACGCGCCCGCCGCTACCTGAGGCCGCCATCCA
 CGCCGTTGAGTCGCTTCTGCCGCTCCCGCTGTGGTGCCTCCTGAACTGCGTC
 CGCGCTAGGTAAGTTAAAGCTCAGGTCGAGACCGGGCCTTTGTCGGCGCTCC
 CTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTGCTGACCCTGCTTGTCT
 CAACTCTACGCTTTTGTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTACAGATCCAAGCTGTGAC
 CGGCGCTACCTGAGATCACCGGCGCCACCATGGCTTCTTACCCTGGACACCAGCA
 TGCTTCTGCCTTTGACCAGGCTGCCAGATCCAGGGGCCACTCCAACAGGAGAAGCTG
 CCCTAAGACCCAGAAGACAGCAGGAAGCCACTGAGGTGAGGCCTGAGCAGAAGAT

10

20

30

40

50

		<p>GCCAACCCTGCTGAGGGTGTACATTGATGGACCTCATGGCATGGGCAAGACCACCA CCACTCAACTGCTGGTGGCACTGGGCTCCAGGGATGACATTGTGTATGTGCCTGAG CCAATGACCTACTGGAGAGTGTAGGAGCCTCTGAGACCATTGCCAACATCTACACC ACCCAGCACAGGCTGGACCAGGGAGAAATCTCTGCTGGAGATGCTGCTGTGGTGT GACCTCTGCCAGATCACAATGGGAATGCCCTATGCTGTGACTGATGCTGTTCTGGC TCCTCACATTGGAGGAGAGGCTGGCTCTTCTCATGCCCTCCACCTGCCCTGACCC TGATCTTTGACAGACACCCATTGCAGCCCTGCTGTGTACCCAGCAGCAAGGTAC CTCATGGGCTCCATGACCCACAGGCTGTGCTGGCTTTTGTGGCCCTGATCCCTCC AACCTCCCTGGCACCACATTGTTCTGGGAGCACTGCCTGAAGACAGACACATTGA CAGGCTGGCAAAGAGGAGAGACCTGGAGAGAGACTGGACCTGGCCATGCTGGCT GCAATCAGAAGGGTGTATGGACTGCTGGCAAACACTGTGAGATACCTCCAGTGTGG AGGCTCTTGGAGAGAGGACTGGGGACAGCTCTCTGGAACAGCAGTGCCCCCTCAA GGAGCTGAGCCCCAGTCCAATGCTGGTCCAAGACCCACATTGGGGACACCCCTGTT CACCCTGTTACAGACCCCTGAGCTGCTGGCTCCAATGGAGACCTGTACAATGTGT TTGCTGGGCTCTGGATGTTCTAGCCAAGAGGCTGAGGTCCATGCATGTGTTTCATCC TGGACTATGACCAGTCCCCTGCTGGATGCAGAGATGCTCTGCTGCAACTAACCTCTG GCATGGTGCAGACCCATGTGACCACCCCTGGCAGCATCCCCACCATCTGTGACCTA GCCAGAACCTTTGCCAGGGAGATGGGAGAGGCCAACTAAGGCGCGCCACTCGAGC GCTAGCTGGCCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGACAAACCACAACCTAGA ATGCAAGTGAATAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTATTGCTTTATTTGTAAC CATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAACAACAATTGCATTCAATTTATGTTTCAGG TTCAGGGGGAGGTGTGGGAGGTTTTTAAAGCAAGTAAAACCTCTACAAATGTGGTA TGGAAGGCGCGCCCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTACGTCGCGCTCACTGGC CGTCGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAAACCCTGGCGTTACCCAACCTAATCGCCT TGCAGCACATCCCCTTTCCGACAGCTGGCGTAATAGCGAAGAGGCCCGCACCCGAAA CGCCCTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGGAGCGCCCTGTAGCGG CGCATTAAAGCGCGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGACCCTACACTTGCC AGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTTCCGCTTTCTTCCCTTCCCTTCTCGCCACGTTCCGC GGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGGTTCGGATTTAGTGCT TTACGGCACCTCGACCCCAAAAAAATTTGATTAGGGTGTGTTGGCCTGTAGTGGG CCATAGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGTCCACGTTCTTTAATA GTGGACTTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTCGGTCTATTCTTTTGA TTTATAAGGGATTTGCCGATTTCCGCTATTGGTTAAAAAATGAGCTGATTTAACAA AAATTTAACGCGAATTTTAAACAAAATATTAACGCTTACAATTTAG</p>	<p>10</p> <p>20</p>
<p>64</p>	<p>マトリックスCD25 遺伝子座 IL15_2 A sIL15Ra pCLS30519 全配列</p>	<p>GTTTATTATTCCTGTTCCACAGCTATTGTCTGCCATATAAAAACTTAGGCCAGGCACA GTGGCTCACACCTGTAATCCCAGCAGCTTTGGAAGGCCGAGGCAGGCAGATCACAA GTCAGGAGTTCGAGACCAGCCTGGCCAACATAGCAAAAACCCATCTCTACTAAAAAT ACAAATAATTAGCCAGGCATGGTGGCGTGTGCACTGGTTTAGAGTGAGGACCACATTT TTTTGGTGCCGTGTTACACATATGACCGTGACTTTGTTACACCACTACAGGAGGAAG AGTAGAAGAACAATCGGTTCTGGCGTGAACAGACTTTGAATTTTACCTTCTCAAGT TGGCGGGAGACGTGGAGTCCAACCCAGGGCCCGGTACCGGGTCCGCCACCATGGA CTGGACCTGGATTCTGTTCTCGTGCTGCTGTACAAGAGTGCACAGCGGCATTC ATGTCTTCATTTTGGGCTGTTTCAGTGCAGGGCTTCCATAAACAGAAGCCAACCTGGG TGAATGTAATAAGTGATTTGAAAAAATGAAGATCTTATTCAATCTATGCATATTGAT GCTACTTTATATACGGAAAGTGATGTTTCAACCCAGTTGCAAAGTAAACAGCAATGAAG TGCTTTCTCTTGGAGTTACAAGTTATTTCACTTGAGTCCGGAGATGCAAGTATTCATG ATACAGTAGAAAACTGATCATCTAGCAAAACAACAGTTTGTCTTCTAATGGGAATGT AACAGAATCTGGATGCAAAGAATGTGAGGAACCTGGAGGAAAAAATATTAAGAATT TTTGCAGAGTTTTGTACATATTGTCCAAATGTTTCACTCAACACTTCTGGAAGCGGAGCT ACTAACTTACGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCCTGGACCTGG GACCGGCTCTGCAACCATGGATTGGACGTGGATCCTGTTTCTCGTGGCAGCTGCCA CAAGATTCACAGTATACGTGCCCTCCCCCATGTCCGTGGAACACGCAGACATC TGGGTCAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTACATTTGTAACCTCTGGTTT AAGCGTAAAGCCCGGCACGTCCAGCCTGACGGAGTGCCTGTTGAACAAGGCCACGA ATGTCCGCCACTGGACAACCCCAAGTCTCAAATGCATTAGAGACCCTGCCCTGGTT ACCAAAGGCCAGCGCCACCCCTCCACAGTAACGACGGCAGGGGTGACCCACAGCC AGAGAGCCTCTCCCTTCTGGAAAAGAGCCCGCAGCTTCATCTCCAGCTCAAAACA CACAGCGGCCACAACAGCAGCTATTGTCCCGGGCTCCCAGCTGATGCCTTCAAAT CACCTTCCACAGGAACCACAGAGATAAGCAGTCATGAGTCTCCACGGCACCCCT TCTCAGACAACAGCCAAGAACTGGGAACCTCACAGCATCCGCCTCCACAGCCGCC AGGTGTGTATCCACAGGGCCACAGCGACCACTGAGGGCAGAGGCAGCCTGCTG ACCTGCGGCGACGTCGAGGAGAACCCTGGGCCATGGGGCAGGTGCCACCCGGC CGCGCCATGGACGGGCGCGCTGCTGCTGTTGCTGCTTCTGGGGGTGTCCTTGG GAGGTGCCAAGGAGGCATGCCCCACAGGCCTGTACACACACAGCGGTGAGTGCTG CAAAGCCTGCAACCTGGGCGAGGGTGTGGCCAGCCTTGTGGAGCCAACCAGACC</p>	<p>30</p> <p>40</p>

GTGTGTGAGCCCTGCCTGGACAGCGTGACGTTCTCCGACGTGGTGAGCGCGACCG
AGCCGTGCAAGCCGTGCACCGAGTGCGTGGGGCTCCAGAGCATGTGGCGCCGTG
CGTGAGGGCCGATGACGCCGTGTGCCGCTGCGCCTACGGCTACTACCAGGATGAG
ACGACTGGCCGCTGCGAGGCGTGCCGCGTGTGCGAGGCGGGCTCGGGCCCTGTG
TTCTCCTGCCAGGACAAGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCCCCGACGGCACGT
ATTCCGACGAGGCCAACACGTGGACCCGTGCCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGA
CACCGAGCGCCAGCTCCGCGAGTGCACACGCTGGGCCGACGCCGAGTGCAGGA
GATCCCTGGCCGTTGGATTACACGGTCCACACCCCCAGAGGGCTCGGACAGACA
GCCCCAGCACCCAGGAGCCTGAGGCACCTCCAGAACAAGACCTCATAGCCAGCA
CGGTGGCAGGTGTGGTGACACAGTGTGGGCAGCTCCCAGCCCCGTGGTGACCCG
AGGCACCACCGACAACCTCATCCCTGTCTATTGCTCCATCCTGGCTGCTGTGGTTGT
GGGCTTTGTGGCTACATAGCCTTCAAGAGGTGAAAAACAAAAGAACAAGATTTT
TTGGTAAGAAGCCGGGAACAGACAACAGAAGTATGAAGCCCAAGTAAATCAAAG
GTGCTAAATGGTCGCCAGGAGACATCCGTTGTGCTTGCTGCTGCTTTTGAAGCTCT
GAACTGCATCACAGGACACGGGGCAGTGGCAACCTTGTCTATGCCAGCTCAGT
CCCATCAGAGAGCGAGCGCTACCCACTTCTAAATAGCAATTTCCGCCGTTGAAGAGGA
AGGGCAAACCACTAGAACTCTCCATCTATTTTTCATGTATATGTGTTTCATGCGATCG
CTCCGGTCCCCGTGAGTGGCGAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCAGAGAAGTTG
GGGGGAGGGGTGCGCAATTGAACGGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAACCT
GGGAAAGTGTGCTGTACTGGCTCCGCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACC
TATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTTCGCAACGGGTTTCCGCCACA
ACACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCTTACGCGCCCCGCCCTAC
CTGAGGCCGCCATCCACGCCGTTGAGTGCCTGCTGCGCCCTCCCGCCTGTGGT
GCCTCCTGAACTGCGTCCGCCGCTAGGTAAGTTTAAAGCTCAGGTGAGACCGGG
CCTTTGTCCGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTT
GCCTGACCCTGCTTGCTCAACTCTACGTCTTTGTTTCGTTTTCTGTTCTGCGCCGTTA
CAGATCCAAGCTGTGACCGGCGCCTACCTGAGATCACCGGCGCCACCATGGCTTCT
TACCCTGGACACCAGCATGCTTCTGCTTTGACCAGGCTGCCAGATCCAGGGGGCA
CTCCAACAGGAGAAGTGCCTAAGACCCAGAAGACAGCAGGAAGCCACTGAGGTGA
GGCCTGAGCAGAAGATGCCAACCCCTGCTGAGGGTGTACATTGATGGACCTCATGGC
ATGGGCAAGACCACCAACTCAACTGCTGGTGGCACTGGGCTCCAGGGATGACAT
TGTGTATGTGCTGAGCCAATGACCTACTGGAGAGTGTAGGAGCCTCTGAGACCA
TTGCCAATCTACACCACCCAGCACAGGCTGGACCAGGGAGAAATCTCTGCTGGA
GACTGCTGTGGTGTGATGACCTCTGCCAGATCAAAATGGGAATGCCATGCTGT
GACTGATGCTGTTCTGGCTCCTCACATTGGAGGAGAGGCTGGCTCTTCTCATGCC
CTCCACCTGCCCTGACCCTGATCTTTGACAGACACCCCATGACGCCCTGCTGTGCT
ACCCAGCAGCAAGGTACCTCATGGGCTCCATGACCCACAGGCTGTGCTGGCTTTT
TGCCCTGATCCCTCCAACCCTCCCTGGCACCAACATTGTTCTGGGAGCACTGCC
TGAAGACAGACACATTGACAGGCTGGCAAAGAGGCAGAGACTGGAGAGAGACTG
GACCTGGCCATGCTGGCTGCAATCAGAAGGGTGTATGGACTGCTGGCAAACACTGT
GAGATACCTCCAGTGTGGAGGCTTTGGAGAGAGGACTGGGGACAGCTCTCTGGAA
CAGCAGTCCCCCTCAAGGAGCTGAGCCCCAGTCCATGCTGGTCCAAGACCCAC
ATTGGGGACACCCTGTTACCCCTGTTAGAGCCCTGAGCTGCTGGCTCCCAATGG
AGACCTGACAAATGTTTTGCTGGGCTCTGGATGTTCTAGCCAAGAGGCTGAGGT
CCATGCATGTGTTATCCTGGACTATGACCAGTCCCTGCTGGATGCAGAGATGCTC
TGCTGCAACTAACCTCTGGCATGGTGCAGACCCATGTGACCACCCCTGGCAGCATC
CCCACCATCTGTGACCTAGCCAGAACCTTTGCCAGGGAGATGGGAGAGGCCAACTA
AGGCGCGCCACTCGAGCGCTAGCTGGCCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTT
GGACAAACCACAAGTGAATGCAGTGAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATG
CTATTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAAACAACAATTC
ATTCATTTATGTTTCAGGTTACGGGGGAGGTGTGGGAGGTTTTTTAAAGCAAGTAAA
ACCTCTACAAATGTGGTATGGAAGGCGGCCCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGTATT
ACGTCGCGCTCACTGGCCGTGTTTTACAACGTCGTGACTGGGAAACCCCTGGCGT
TACCCAACCTTAATCGCCTTGACAGCACATCCCCCTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGA
AGAGGCCCGCACCGAAACGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATG
GGAGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCG
TGACCGCTACACTTGCCAGCGCCCTAGCGCCGCTCCTTTGCTTTTCCCTTCCCT
TTCTCGCCAGTTCCGCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAG
GGTTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAAACTTGATTAGGGTGTG
GTTGGCCTGTAGTGGGCCATAGCCCTGATAGACGGTTTTTCCGCCCTTGACGTTGGA
GTTCCAGTTCTTTAATAGTGGACTCTTGTTCAAAACCTGGAACAACACTCAACCCTATC
TCGGTCTATTTGATTTATAAGGGATTTTCCGATTTCCGGCTATTGGTTAAAAAA
TGAGCTGATTTAAACAAAAATTAACGCGAATTTTAAACAAAATATTAACGCTTACAATTT
AGGTGGCACTTTTCCGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTATTTTTCTAAATA
CATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATATT
GAAAAAGGAAGATGATGAGTATTAACATTTCCGTGTGCCCTTATTTCCCTTTTTTGC
GGCATTGCTTCTGTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAGTAAAGATGC

10

20

30

40

50

		<p>TGAAGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTA AGATCCTTGAGAGTTTTTCGCCCGAAGAAGCTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGT TCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTC GCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAAGC ATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGTGCCATAACCATGAGTG ATAACACTGCCGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACC GCTTTTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAG CTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGTAGCAATGGC AACAAACGTTGCGCAAACATAAATGCGCAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACA ATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCCTTCTGCGCTCGGCC TTCCGGCTGGCTGGTTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGTTCTCGC GGTATCATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTATCTAC ACGACGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGG TGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTACTCATATATACTTTAG ATTGATTTAAAACCTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAAT CTCATGACCAAAATCCCTTAAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTA GAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGC AAACAAAAAACCCCGCTACCAGCGGTGGTTTTGTTGGCCGATCAAGAGCTACCAA CTCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAATACTGTTCTTCT AGTGTAGCCGATAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCCGCTACATACCT CGCTCTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCGTGTCTTAC CGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGGGGTGAACG GGGGGTTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATA CCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAAGGCGGAC AGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTCCGAACAGGAGAGCGCACAGGGGAGCTTCCAG GGGAAACGCGCTGGTATCTTTATAGTCTGTGGGTTTCGCCACCTCTGACTTGAGC GTCGATTTTTGTGATGCTGCTCAGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACGCCAGCAAC GCGGCCTTTTACGGTTCCCTGGCCTTTTGTGGCCTTTTGTCTACATGGTCTTTCT GCGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGCTGATACC GCTCGCCGACGCCGAACGACCGAGCGCAGCGAGTCACTGAGCGAGGAAGCGGAG AGCGCCCAATACGCAAAACCGCTCTCCCGCGCGTTGGCCGATTCAATATGCAGC TGGCACGACAGGTTTCCCGACTGGAAAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAATTAATGT GAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTAT GTTGTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAAACAGCTATGACCATGA TTACGCCAAGCGCGTCAATTAACCCTCACTAAAGGGAAACAAAAGCTGTTAATTA</p>	<p>10</p> <p>20</p>
<p>65</p>	<p>マトリックスPD1 遺伝子座 IL15_2 A_sIL15Ra pCLS30513 全配列</p>	<p>GACTCCCCAGACAGGCCCTGGAACCCCCCACCTTCTCCCAGCCCTGCTCGTGGT GACCGAAGGGGACAACGCCACCTTACCTGCAGCTTCTCCAACACATCGGAGAGCT TCGTGCTAAACTGGTACCGCATGAGCCCCAGCAACCAGACGGACAAGCTGGCCGCT TTCCCGAGGACCCGACCCAGCCCGGCCAGGACTGCCGCTTCCGTGTACACAAC TGCCCAACGGGCGTGACTTCCACATGAGCGTGGTCAGGGCCCGGCGCAATGACAG CGGCACTACCTCTGTGGGGCCGGTCTGGCGTGAACAGACTTTGAATTTTGACCT TCTCAAGTTGGCGGGAGACGTGGAGTCCAACCCAGGGCCCGTACCGGTCCGCC ACCATGGACTGGACCTGGATTCTGTTCTCTGTTGGTGTGCTGCTACAAGAGTGACAG CGGCATTATGTCTTCAATTTGGGCTGTTTCAGTGCAGGGCTTCTAAAACAGAAGC CAACTGGGTGAATGTAATAAGTGATTTGAAAAAATGAAGATCTTATTCAATCTATG CATATTGATGCTACTTTATATACGGAAAGTGATGTTCAACCCAGTTGCAAAGTAACAG CAATGAAGTGCTTTCTCTTGGAGTTACAAGTTATTTCACTTGAAGTCCGGAGATGCAAG TATTCATGATACAGTAGAAAATCTGATCATCCTAGCAACAACAGTTTGTCTTCTAAT GGGAATGTAACAGAATCTGGATGCAAAGAATGTGAGGAAGTGGAGGAAAAAATATT AAAGAATTTTGCAGAGTTTTGTACATATTGTCCAAATGTTCAACACTTCTGGAA GCGGAGCTACTAATTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAACCTT GGACCTGGGACCCGGCTGCAACCATGGATTGGACGTGGATCCTGTTTCTCGTGGC AGCTGCCACAAGAGTTCACAGTATCACGTGCCCTCCCCCATGTCCGTGGAACACG CAGACATCTGGGTCAAGAGCTACAGCTTGTACTCCAGGGAGCGGTACATTTGTAAT CTGGTTTCAAGCGTAAAGCCGGCAGTCCAGCCTGACGGAGTCCGTGTTGAACAAG GCCACGAATGTCGCCCACTGGACAACCCCCAGTCTCAAATGCATTAGAGACCTGC CCTGGTTACCAAAGGCCAGCGCCACCCCTCCACAGTAACGACGGCAGGGGTGACC CCACAGCCAGAGAGCCTTCCCCCTTCTGGAAAAGAGCCCGCAGCTTCACTCCCAG CTCAAAACAACAGCGGCCACAACAGCAGCTATTGTCCCGGGCTCCAGCTGATGC CTTCAAAATCACCTTCCACAGGAACACAGAGATAAGCAGTCAATGAGTCTCCACG GCACCCCTCTCAGACAACAGCCAAGAAGTGGGAAGTCAACAGTCCGCTCCAC CAGCCGCCAGGTGTGTATCCACAGGGCCACAGCGACACCACTGAGGGCAGAGGCA GCCTGCTGACCTGCGGCGACGTGAGGAGAACCCTGGGCCATGGGGCAGGTG CCACCGCCGCGCCATGGACGGCCGCGCCTGCTGCTGTTGCTGCTTCTGGGGT GTCCCTTGGAGGTGCAAGGAGGCATGCCCCACAGGCCTGTACACACACAGCGGT</p>	<p>30</p> <p>40</p>

10

20

30

40

		<p>GAGTGCTGCAAAGCCTGCAACCTGGGCGAGGGTGTGGCCAGCCTTGTGGAGCCA ACCAGACCGTGTGTGAGCCCTGCCTGGACAGCGTGACGTTCTCCGACGTGGTGAG CGCGACCCGAGCCGTGCAAGCCGTGCACCGAGTGCCTGGGGCTCCAGAGCATGTCCG GCGCCGTGCGTGGAGGCCGATGACGCCGTGCGCGCTGCGCCTACGGCTACTACC AGGATGAGACGACTGGGCGCTGCGAGGCGTGCCGCGTGTGCGAGGGCGGGCTCGG GCCTCGTGTCTCCTGCCAGGACAAGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCCCCGA CGGCACGTATTCGACGAGGCCAACACCGTGGACCCGTGCCTGCCCTGCACCGTG TGCAGGACACCGAGCGCCAGCTCCGCGAGTGCACACGCTGGGCCGACGCCGAGT GCGAGGAGATCCCTGGCCGTTGGATTACACGGTCCACACCCCCAGAGGGCTCGGA CAGCACAGCCCCAGCACCCAGGAGCCTGAGGCACCTCCAGAACAAGACCTCATAG CCAGCACGGTGGCAGGTGTGGTGACCACAGTGTGGCAGCTCCAGCCCGTGGT GACCCGAGGCCACCCGACAACCTCATCCCTGTCTATTGCTCCATCCTGGCTGCTG TGTTGTGGTCTTGTGGCTACATAGCCTTCAAGAGGTGATCTAGAGGGCCGTTT AAACCCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTGGC CCTCCCCCGTGCCTTCCCTTACCCCTGGAAGGTGCCACTCCACTGTCTTCTTAAT AAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTG GGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGG GGATGCGGTGGGCTCTATGACTAGTGGCGAATTCGGCGCAGATCAAAGAGAGCCTG CGGGCAGAGCTCAGGGTGACAGGTGCGGCCTCGGAGGCCCGGGCAGGGGTGA GCTGAGCCGGTCTGGGGTGGGTGTCCCTCCTGCACAGGATCAGGAGCTCCAGG GTCGTAGGGCAGGGACCCCCAGCTCCAGTCCAGGGCTCTGTCTGCACCTGGGG AATGGTGACCGGCATCTGTCTCTAGCTCTGGAAGCACCCAGCCCTCTAGTCT GCCCTCACCCCTGACCCCTGACCCCTCACCCCTGACCCCGTCTAACCCCTGACCTTT GGCGATCGCTCCGGTGGCGTCAAGTGGGACAGCGCACATCGCCACAGTCCCGG AGAAGTTGGGGGAGGGGTGGCAATTGAACGGGTGCCAGAGAAGGTGGCGCGG GGTAAACTGGGAAAGTGTGCTGTACTGGCTCCGCCTTTTCCCGAGGGTGGGG GAGAACCGTATAAGTGCAGTAGTCCCGTGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTG CCGCCAGAACACAGCTGAAGCTTCAGGGGCTCGCATCTCTCTTACGCGCCCGC CGCCTACCTGAGGCCGCCATCCACGCCGTTGAGTCCGCTTCTGCCCGCTCCCG CCTGTGGTGCCTCCTGAACTGCGTCCGCGTCTAGGTAAGTTAAAGCTCAGGTCG AGACCGGCCCTTGTCCGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGCTCTC CACGCTTTCCTGACCCCTGCTTCACTTACGCTTTTGTTCGTTTCTGTTCTG CGCCGTTACAGATCCAGCTGTGACCGGCGCCTACCTGAGATCACCGGCCACCA TGGCTTCTTACCCTGGACACCAGCATGCTTCTGCCTTTGACCAGGCTGCCAGATCA GGGGCCACTCCAACAGGAGAACTGCCCTAAGACCCAGAAGACAGCAGGAAGCCAC TGAGGTGAGGCCCTGAGCAGAAGATGCCAACCCCTGCTGAGGGTGTACATTGATGGAC CTCATGGCATGGGCAAGACCACCACCTCACTGCTGGTGGCACTGGGCTCCAGG GATGACATTGTGTATGTGCCTGAGCCAATGACCTACTGGAGAGTGTAGGAGCCTCT GAGACCATTGCCAACATCTACACCACCCAGCACAGGCTGGACCAGGGAGAAATCTC TGCTGGAGATGCTGCTGTGGTGTGACCTCTGCCAGATCACAATGGGAATGCCCT ATGCTGTGACTGATGCTGTTCTGGCTCCTCACATTGGAGGAGAGGCTGGCTTCTC ATGCCCTCCACCTGCCCTGACCCCTGATCTTTGACAGACACCCCAATTGCAGCCCTG CTGTGCTACCCAGCAGCAAGGTACCTCATGGGCTCCATGACCCACAGGCTGTGCT GGCTTTTGTGGCCCTGATCCCTCCAACCCTCCCTGGCAACCAATTGTTCTGGGAG CACTGCCTGAAGACAGACATTTGACAGGCTGGCAAAGAGGCAGAGACCTGGAGAG AGACTGGACCTGGCCATGCTGGCTGCAATCAGAAGGGTGTATGGACTGCTGGCAA CACTGTGAGATACCTCAGTGTGGAGGCTCTGGAGAGAGGACTGGGGACAGCTCT CTGGAACAGCAGTGCCCCCTCAAGGAGCTGAGCCCCAGTCCAATGCTGGTCCAAGA CCCCACATTGGGGACACCCCTGTTACCCCTGTTACAGAGCCCTGAGCTGCTGGCTCC CAATGGAGACCTGTACAATGTGTTTGCCTGGGCTCTGGATGTTCTAGCCAAGAGGCT GAGGTCCATGCATGTGTTTATCCTGGACTATGACCAAGTCCCTGCTGGATGCAGAG ATGCTCTGCTGCAACTAACCTCTGGCATGGTGCAGACCCATGTGACCACCCCTGGC AGCATCCCCACCATCTGTGACCTAGCCAGAACCTTTGCCAGGGAGATGGGAGAGGC CAACTAAGGCGCGCCACTCGAGCGCTAGCTGGCCAGACATGATAAGATACATTGAT GAGTTTGGACAAACCACAACCTAGAATGCAGTGAAAAAATGCTTTATTTGTGAAATTT GTGATGCTATTGCTTTATTTGTAACCATTATAAGCTGCAATAAACAAGTTAACAAACA AATTGCATTATTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGAGGTGTGGGAGGTTTTTAAAGCA AGTAAAACCTCTACAAATGTGGTATGGAAGGCGCGCCCAATTCGCCCTATAGTGAGT CGTATTACGTGCGGCTCACTGGCCGTCGTTTACAAACGTCGTGACTGGGAAAACCCCT GGCGTTACCAACTTAATCGCCTTGCAGCACATCCCCCTTTCGCCAGCTGGCGTAAT AGCGAAGAGGCCCGCACCCGAAACGCCCTTCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGC GAATGGGAGCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAAGCGCGCGGGTGTGGTGTACGCG CAGCGTGACCGTACACTTGCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCTTTTCGCTTTCTTCC CTTCTTTCTCGCCACGTTTCGCCGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCC CTTTAGGGTTCGATTTAGTGTCTTACGGCACCTCGACCCAAAAAATTTGATTAGG GTGATGGTTGGCCTGTAGTGGCCATAGCCCTGATAGACGGTTTTTTCGCCCTTTCGAC GTTGGAGTCCACGTTCTTAATAGTGGACTCTTGTTCAAAACCTGGAACAACACTCAAC</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>
--	--	--	---

		<p>CCTATCTCGGTCTATTCTTTTGATTTATAAGGGATTTTGCCGATTTGCGCCTATTGGT TAAAAATGAGCTGATTTAACAAAAATTAACGCGAATTTTAACAAAAATTAACGCTT ACAATTTAGTGGCACTTTTCGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTGTTTATTTTT CTAAATACATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAA TAATATTGAAAAAGGAAGATATGAGTATCAACATTTCCGTGTGCGCCTTATCCCT TTTTTGCGGCATTTTGCCTTCCTGTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAGTAAA AGATGCTGAAGATCAGTTGGTGCACGAGTGGTTACATCGAACTGGATCTCAACA GCGGTAAAGATCCTTGAGAGTTTTGCGCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTT TTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGTATTATCCCGTATTGACGCGCGGCAAGAGCAAC TCGGTCGCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTACCAGTCAACAG AAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGACAGTGTGCCATAACCA TGAGTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAG CTAACCGCTTTTTGCAACAACATGGGGGATCATGTAACGCGCTTGATCGTTGGGAA CCGGAGCTGAATGAAGCATACCAACGACGAGCGTGACACCAGTGCCTGTGAGC AATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCG GCAACAATTAAGACTGGATGGAGCGGATAAAGTTGACAGGACCACTTCTGCGCT CGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGT TCTCGCGGTATCATTGACGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGT TATCTACACGACGGGGAGTCAAGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTG AGATAGGTGCCTCACTGATTAAGCATTGGTAACTGTCAGACCAAGTTTACTCATATAT ACTTTAGATTGATTTAAAATTCATTTTTAATTTAAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTT TTGATAATCTCATGACCAAAATCCCTAACGTGAGTTTTCGTTCCTGAGCGTCAGA CCCCGTAGAAAAAGATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGC TGCTTGCAACAACAAAAACCACCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGGCCGATCAAGAG CTACAACCTTTTTCCGAAGGTAACCTGGCTTACGACAGAGCGCAGATACCAAACT GTTCTTCTAGTGTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCACCGCCT ACATACCTCGCTCTGTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCCG TGCTTACCAGGGTTGGACTCAAGACGATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTCCGG CTGAACGGGGGTTCTGTGCACACAGCCAGCTTGAGCGAACGACCTACACCGAA CTGAGATACCTACAGCGTGAAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAA GGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCAGGGTGGAAACAGGAGAGCGCACGAGGGA GCTTCCAGGGGGAAACGCTGGTATCTTTATAGTCTGTGCGGTTTTCCGCCACTCTG ACTTGAGCGTGCATTTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGAAAAACG CCAGCAACGCGGCCTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGTGCGCCTTTTGTCTCACATGG TCTTTGCGGTTATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCGCCTTTGAGTGAGC TGATACCGCTCGCCGACGCCAACGACCGAGCGCAGCGAGTCAAGTGAAGCGAGGAA GCGGAGAGCGCCCAATACGCAAAACCGCCTCTCCCGCGCGTGGCCGATTCAATTA TGCAGCTGGCAGCAGGTTTTCCGACTGGAAGCGGGCAGTGAGCGCAACGCAA TTAATGTGAGTTAGCTCACTCATTAGGCACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGC TCGTATGTTGTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGA CCATGATTACGCCAAGCGCGTCAATTAACCCTCACTAAAGGGAAACAAAAGCTGTAA TTAA</p>	<p>10</p> <p>20</p>
<p>66</p>	<p>マトリクス CD25 遺伝子座_IL12a_2A_IL12b pCLS30520 全配列</p>	<p>GTTTATTATTCCTGTTCCACAGCTATTGTCTGCCATATAAAAACTTAGGCCAGGCACA GTGGCTCACACCTGTAATCCCAGCACTTTGGAAGGCCGAGGCAGGCAGATCACAAG GTCAGGAGTTTCGAGACCAGCCTGGCCAACATAGCAAAACCCATCTCTACTAAAAAT ACAAAAATTAGCCAGGCATGGTGGCGTGTGCACTGGTTTAGAGTGAGGACCACATTT TTTTGGTGGCGTGTACACATATGACCGTACTTTGTTACACCACTACAGGAGGAAG AGTAGAAGAACAATCGGTTCTGGCGTGAACAGACTTTGAATTTTGACCTTCTCAAGT TGCGGGGAGACGTGGAGTCCAACCCAGGGCCATGTGGCCCCCTGGGTACGCTC CCAGCCACCGCCCTCACCTGCCGCGGCCACAGGTCTGCATCCAGCGGCTCGCCCT GTGTCCTGCAGTGCCGGCTCAGCATGTGTCCAGCGCGCAGCCTCCTCCTGTGGC TACCCTGGTCTCCTGGACCACCTCAGTTTGGCCAGAAACCTCCCGTGGCCACTC CAGACCCAGGAATGTTCCCATGCCTTACCCTCCAAAACCTGCTGAGGGCCGTC AGCAACATGCTCCAGAAGGCCAGACAACTCTAGAATTTTACCCTTGCACTTCTGAA GAGATTGATCATGAAGATATCACAAAAGATAAAACCAGCAGTGGAGGCGCTGTTTA CCATTGGAATTAACCAAGAATGAGAGTTGCCTAAATTCAGAGAGACCTCTTTCATAA CTAATGGGAGTTGCCTGGCCTCCAGAAAGACCTCTTTTATGATGGCCCTGTGCCTTA GTAGTATTTATGAAGACTTGAAGATGTACCAGGTGGAGTTCAAGACCATGAATGCAA AGCTTCTGATGGATCCTAAGAGGCAGATCTTTCTAGATCAAAACATGCTGGCAGTTA TTGATGAGCTGATGCAGGCCCTGAATTTCAACAGTGAGACTGTGCCACAAAAATCCT CCCTTGAAGAACCAGGATTTTTATAAACTAAAATCAAGCTCTGCATCTTCTCATGC TTTCAGAATTCGGGCAGTGAATTTGATAGAGTGTGAGCTATCTGAATGCTTCCGG AAGCGGAGCTACTAACTCAGCCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTGGAGGAGAAC CTGGACCTATGTGTACCAGCAGTTGGTCATCTTTGGTTTTCCCTGGTTTTTCTGG CATCTCCCTCGTGGCCATATGGAACTGAAGAAAGATGTTTATGTCGTAGAATTGG</p>	<p>30</p> <p>40</p>

		<p>ATTGGTATCCGGATGCCCTGGAGAAATGGTGGTCTCACCTGTGACACCCCTGAA GAAGATGGTATCACCTGGACCTTGGACCAGAGCAGTGAGGTCTTAGGCTCTGGCAA AACCTGGACCATCCAAGTCAAAGATTTGGAGATGCTGGCCAGTACACCTGTCACAA AGGAGCGGAGGTTCTAAGCCATTGCTCTGCTGCTTACAAAAAGGAAGATGGAA TTTGGTCCACTGATATTTAAAGGACCAGAAAAGAACCCAAAAAATAAGACCTTTCTAAG ATGCGAGGCCAAGAATTATTCTGGACGTTTACCTGCTGGTGGCTGACGACAATCAG TACTGATTTGACATTCAAGTGTCAAAAGCAGCAGAGGCTTCTGACCCCAAGGGGT GACGTGCGGAGCTGCTACACTCTCTGCAGAGAGAGTCAAGAGGGGACAACAAGGAG TATGAGTACTCAGTGGAGTGCCAGGAGGACAGTGCCTGCCAGCTGCTGAGGAGA GTCTGCCATTGAGGTGATGGTGGATGCCGTTTCAAGCTCAAGTATGAAAACTACA CCAGCAGCTTCTTCATCAGGGACATCATCAAACCTGACCCACCAAGAACTTGCAGC TGAAGCCATTAAGAATTCTCGGCAGGTGGAGGTGAGTGGGAGTACCCTGACACC TGGAGTACTCCACATTCCTACTTCTCCCTGACATTCTGCGTTTCAAGTCCAGGGCAAG AGCAAGAGAGAAAAGAAAGATAGAGTCTTACGGACAAGACCTCAGCCACGGTCAAT CTGCGCAAAAATGCCAGCATTAGCGTGCAGGGCCAGGACCGTACTATAGTCTCAT CTTGGAGCGAATGGGCATCTGTGCCCTGCAGTGAGGGCAGAGGCGAGCCTGCTGAC CTGCGGCGACGTGAGGAGAAACCCGGGCCATGGGGCAGGTGCCACCGGGCCG CGCCATGGACGGGCCGCGCCTGCTGCTGTTGCTGCTTCTGGGGGTGTCCCTTGG GGTCCAAGGAGGCATGCCCCACAGGCCTGTACACACACAGCGGTGAGTGTGCA AAGCCTGCAACCTGGGCGAGGGTGTGGCCAGCCTTGTGGAGCCAACAGACCGT GTGTGAGCCCTGCCTGGACAGCGTGACGTTCTCCGACGTGGTGGAGCGCAGCCGAG CCGTGCAAGCCGTGCACCGAGTGCCTGGGGCTCCAGAGCATGTCCGGCGCCGTGCC TGGAGGCCGATGACGCCGTGTGCCGCTGCGCCTACGGCTACTACCAGGATGAGAC GACTGGGCGCTGCGAGGCGTGCAGCGTGTGCGAGGCGGGCTCGGGCCTCGTGT CTCCTGCCAGGACAAGCAGAACCCGTGTGCGAGGAGTGCCCGACGGCAGCTAT TCCGACGAGGCCAACACCTGACCCCGTGCCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGACA CCGAGCGCCAGCTCCGCGAGTGCACACGCTGGGCCGACGCCGAGTGCAGGAGA TCCCTGGCCGTTGGATTACACGGTCCACACCCCCAGAGGGCTCGGACAGCACAGC CCCCAGCACCCAGGAGCCTGAGGCACCTCCAGAACAAGACCTCATAGCCAGCAGC GTGGCAGGTGTGGTGAACACAGTGTGGGCAGCTCCAGCCCGTGGTGAACCCGAG GCACCCGACAACCTCATCCCTGTCTATTGCTCCATCTGGCTGTGTGGTTGTGG GTCTTGTGGCCTACATAGCCTTCAAGAGGTGAAAAACCAAAAGAACAAGATTTCTT GGTAAGAAGCCGGGAACAGACAACAGAAGTGTGAAGCCCAAGTGAATCAAAGT GCTAAATGGTGCAGGAGGAGACATCCGTTGTGCTTGCCTGCGTTTTTGAAGCTGT AAGTACATCACAGGACACGGGGCAGTGGCAACCTTGTCTCTATGCCAGCTCAGTC CCATCAGAGAGCGAGCGCTACCCACTTCTAAATAGCAATTTCCGCCGTTGAAGAGGAA GGGCAAAACCACTAGAACTCTCCATCTTATTTTTCATGTATATGTGTTTATGCGATCGC TCCGGTGCCTGTCAGTGGGCGAGGCGCACATCGCCACAGTCCCGAGAAAGTTGG GGGGAGGGGTCGGCAATTGAACGGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAACCTG GGAAAGTGATGTCGTGACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCCT ATATAAGTGCAGTAGTGCCTGGAACGTTCTTTTTCGCAACGGGTTTTGCCCGCAGAA CACAGCTGAAGCTTCGAGGGGCTCGCATCTCTCCTTACGCGCCCGCCGCCCTACC TGAGGCGCCATCCACGCCGTTGAGTGCCTTCTGCCGCTCCCGCCTGTGGTG CCTCTGAAGTGCCTGCGCCGCTAGGTAAGTTAAAGCTCAGTGTGAGACCGGGC CTTTGTCCGGCGCTCCCTTGGAGCCTACCTAGACTCAGCCGGCTCTCCACGCTTTG CCTGACCCCTGCTTGTCAACTCTACGTCTTTGTTTCTGTTTCTGTTCTGCGCCGTTAC AGATCAAAGCTGTGACCGGCGCCTACCTGAGATCACCGGCGCCACCATGGCTTCTT ACCCTGGACACCAGCATGCTTCTGCCTTTGACCAGGCTGCCAGATCCAGGGGCCAC TCCAACAGGAGAAGTGCCTAAGACCCAGAAAGACAGCAGGAAAGCCACTGAGGTGAG GCCTGAGCAGAAGATGCCAACCCCTGCTGAGGGTGTACATTGATGGACCTCATGGCA TGGCAAGACACCACCACTCAACTGCTGGTGGCACTGGGCTCCAGGGATGACATT GTGTATGTGCTGAGCCAATGACCTACTGGAGAGTGTAGGAGCCTCTGAGACCAT TGCCAACATCTACACCACCCAGCACAGGCTGACACGGGAGAAAATCTCTGCTGGAG ATGCTGCTGTGGTGTGACCTCTGCCAGATCACAATGGGAATGCCCTATGCTGTGA CTGATGCTGTTCTGGCTCCTCACATTGGAGGAGAGGCTGGCTCTTCTCATGCCCTC CACCTGCCCTGACCCCTGATCTTTGACAGACACCCCATGACAGCCCTGCTGTGCTACC CAGCAGCAAGGTACCTCATGGGCTCCATGACCCACAGGCTGTGCTGGCTTTTGTG GCCCTGATCCCTCAAACCTCCCTGGCACCACATTGTTCTGGGAGCACTGCCTGA AGACAGACACATTGACAGGCTGGCAAAGAGGCAAGACCTGGAGAGAGACTGGAC CTGGCCATGCTGGCTGCAATCAGAAGGGTGTATGGACTGCTGGCAAACACTGTGAG ATACCTCAGTGTGGAGGCTCTGGAGAGAGGACTGGGGACAGCTCTCTGGAACAG CAGTGCCCCCTCAAGGAGCTGAGCCCCAGTCCAATGCTGGTCCAAGACCCACATT GGGGACACCCTGTTACCCCTGTTAGAGCCCTGAGCTGCTGGCTCCCAATGGAGA CCTGTACAATGTGTTTGCCTGGGCTCTGGATGTTCTAGCCAAGAGGCTGAGGTCCAT GCATGTGTTTATCCTGGACTATGACCAGTCCCCTGCTGGATGCAGAGATGCTCTGCT GCAACTAACCTCTGGCATGGTGCAGACCCATGTGACCACCCCTGGCAGCATCCCA CCATCTGTGACCTAGCCAGAACCTTTGCCAGGGAGATGGGAGAGGCCAACTAAGGC</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>
--	--	---	---

		<p>GCGCCACTCGAGCGCTAGCTGGCCAGACATGATAAGATACATTGATGAGTTTGGAC AAACCACAAC TAGAATGCAAGTGA AAAAATGCTTTATTTGTGAAATTTGTGATGCTAT TGCTTTATTTGTAACCAATTAAAGCTGCAATAAAACAAGTTAAACAACAACCAATTGCATT ATTTTATGTTTCAGGTTTCAGGGGAGGTGTGGGAGGTTTTTAAAGCAAGTAAACC TCTACAAATGTGGTATGGAAGGCGGCCCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGTATTACG TCGCCCTCACTGGCCGTCTGTTTACAACTCGTACTGGGAAAACCCCTGGCGTTAC CCTACTTAATCGCCTTGACACATCCCCCTTCGCCAGCTGGCGTAATAGCGAAGA GGCCCGCACCGAAACGCCCTTCCCAACAGTTGCGCAGCCTGAATGGCGAATGGGA GCGCCCTGTAGCGGCGCATTAAGCGCGCGGGTGTGGTGGTTACGCGCAGCGTGA CCGCTACACTTGCAGCGCCCTAGCGCCCGCTCCTTCGCTTTCTCCCTTCCTTTC TCGCCACGTTCCGCGGCTTTCCCGTCAAGCTCTAAATCGGGGGCTCCCTTTAGGG TTCCGATTTAGTGCTTTACGGCACCTCGACCCCAAAAACCTTGATTAGGGTGATGGT TGGCCTGTAGTGGGCCATAGCCCTGATAGACGGTTTTTCGCCCTTTGACGTTGGAGT CCACGTTCTTTAATAGTGGACTTTGTTCCAAACTGGAACAACACTCAACCCTATCTC GGTCTATTCTTTGATTTATAAGGGATTTTGGCGATTTTCGCCCTTTGTTAAAAAAA GAGCTGATTTAAACAAAATTTAACGCGAATTTTAAACAAAATTTAACGCTTACAATTTA GGTGCACTTTTCGGGGAAATGTGCGCGGAACCCCTATTTGTTATTTTTCTAAATAC ATTCAAATATGTATCCGCTCATGAGACAATAACCCTGATAAATGCTTCAATAATTGA AAAAGGAAGAGTATGAGTATTCAACATTTCCGTGTCGCCCTTATTCCTTTTTTGGCG CATTTTGCCTTCCTGTTTTGCTCACCCAGAAACGCTGGTGAAAGTAAAAGATGCTGA AGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAGA TCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAAGTTCCTTCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCT GCTATGTGGCGCGTATTATCCCGTATTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCCGCC GCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCACTCACAGAAAAGCATCT TACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAAGTGCCTGCCATAACCATGAGTGATA CACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTT TTTTGCACAACATGGGGGATCATGTAACCTCGCTTGATCGTTGGGAAACCGGAGCTGA ATGAAGCCATACCAACGACGAGCGTGACACCAGATGCCTGTAGCAATGGCAACA ACGTTGCGCAAACATAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTA TAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGACAGACCCTTCTGCGCTCGGCCCTTCGG GCTGGCTGGTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGTTCTCGCGGTAT CATTGCAGCACTGGGGCCAGATGGTAAGCCCTCCCGTATCGTAGTTTATCTACACGA CGGGGAGTCAGGCAACTATGGATGAACGAAATAGACAGATCGCTGAGATAGGTGCC TCACTGATTAAGCATTGGTAAGTGTGACACCAAGTTTACTCATATATACTTTAGATTGA TTTTAAGCCTTCAATTTTAAATTTAAAGGATCTAGGTGAAGATCCTTTTTGATAATCT GACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTTTCGTTCCACTGAGCGTCAGACCCCGTAGAAAA GATCAAAGGATCTTCTTGAGATCCTTTTTTCTGCGCGTAATCTGCTGCTTGCAAAAA AAAAAACCCGCTACCAGCGGTGGTTTGTGGCCGATCAAGAGCTACCAACTCTT TTTTCGAAGGTAACTGGCTTACGACAGCGCAGATACCAAACTACTGTTCTTCTAGTG TAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAAGTCTGTAGCACCGCTACATACCTCGCT CTGCTAATCCTGTTACCAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAAGTCTGTCTTACC GGTGGACTCAAGACGATAGTTACCAGGATAAAGGCGCAGCGGTCCGGCTGAAACGGG GGTTCGTGCACACAGCCAGCTTGGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGTACCT ACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTTCCCGAAGGGAGAAAGGGCGGACAGG TATCCGGTAAGCGGACGGTTCGGAACAGGAGAGCGCACGAGGGAGCTTCCAGGGG GAAACGCCTGGTATCTTTATAGTCTGTCGGGTTTTCCGACCTCTGACTTGAGCGTC GATTTTTGTGATGCTCCTCAGGGGGCGGAGCCTATGAAAAACGCCAGCAACGCG GCCTTTTTACGGTTCCTGGCCTTTTGGCTGGCCTTTTGTCTACATGGTCTTTCCTGCGT TATCCCTGATTCTGTGGATAACCGTATTACCCTTTGAGTGAGCTGATAACCGCTC GCCGACCGCAACGACCGAGCGCAGCGAGTCACTGAGCGAGGAAGCGGAGAGCG CCCAATACGCAACCCGCTTCCCGCGCGCTTGGCCGATTCATTAATGCAGCTGGC ACGACAGGTTTCCGACTGGAAGCGGGCAGTGAAGCGCAACGCAATTAATGTGAGT TAGCTCACTATTAGGCACCCAGGCTTTACACTTTATGCTTCCGGCTCGTATGTTGT GTGGAATTGTGAGCGGATAACAATTTACACAGGAAACAGCTATGACCATGATTACG CCAAGCGCTCAATTAACCCTCACTAAAGGGAACAAAAGCTGTTAATTA</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>
67	マトリックスPD1 遺伝子座_IL12a_2A_IL12b pCLS30511 全配列	<p>TCGCGCGTTTTCCGGTGATGACGGTGAAAACCTCTGACACATGCAGCTCCCGGAGACG GTCACAGCTTGTCTGTAAGCGGATGCCGGGAGCAGACAAGCCCGTCAGGGCGCGT CAGCGGGTGTGGCGGGTGTGGGGCTGGCTTAACTATGCGGCATCAGAGCAGAT TGTACTGAGAGTGCACCATATGCGGTGAAATACCGCACAGATGCGTAAGGAGAA AATACCGCATCAGGCGCCATTCGCCATTCAGGCTGCGCAACTTTGGGAAGGGCGA TCGGTGCGGGCTTTCGCTATTACGCCAGCTGGCGAAAGGGGGATGTCTGCAA GGCGATTAAGTTGGGTAACGCCAGGGTTTTCCAGTACAGACGTTGTAACACGACG GCCAGTGAATTCGAGCTCGGTACCTCGCGAATGCATCTAGATGACTCCCCAGACAG GCCCTGGAACCCCCCACCTTCTCCCGAGCCCTGCTCGTGGTGACCGAAGGGGAC AACGCCACCTTCACTGCAGCTTCTCCAACACATCGGAGAGCTTCGTGCTAAACTGG</p>	40

		<p>TACCGCATGAGCCCCAGCAACCAGACGGACAAGCTGGCCGCCTTCCCCGAGGACC GCAGCCAGCCCCGGCCAGGACTGCCGCTTCGGTGTACACAACCTGCCAACGGGCG TGACTTCCACATGAGCGTGGTCAGGGCCCGGCGCAATGACAGCGGCACCTACCTCT GTGGGGCCGGTTCTGGCGTGAACAGACTTTGAATTTGACCTTCTCAAGTTGGCG GGAGACGTGGAGTCCAACCCAGGGCCCATGTGGCCCCCTGGGTACGCTCCCAGC CACCGCCCTCACCTGCCGCGGCCACAGGTCTGCATCCAGCGGCTCGCCCTGTGTC CCTGCAGTGCCGGCTCAGCATGTGTCCAGCGCGCAGCCTCCTCCTTGTGGCTACCC TGGTCTCCTGGACCACCTCAGTTTGGCCAGAAACCTCCCCGTTGGCCACTCCAGAC CCAGGAATGTTCCCATGCCCTTACCCTCCAAAACCTGCTGAGGGCCGTCAGCAA CATGCTCCAGAAGGCCAGACAACTCTAGAAATTTACCTTGCCTTCTGAAGAGAT TGATCATGAAGATATCACAAAAGATAAAAACAGCACAGTGGAGGCTGTTTACCATT GGAATTAACCAAGAATGAGAGTTGCCATAATCCAGAGAGACCTCTTTCATAACTAAT GGGATTTGCCCTGGCCTCCAGAAAGACCTCTTTTATGATGGCCCTGTGCCCTTAGTAGT ATTTATGAAGACTTGAAGATGTACCAGTGGAGTTCAAGACCATGAATGCAAAGCTT CTGATGGATCCTAAGAGGCAGATCTTTCTAGATCAAAACATGCTGGCAGTTATTGAT GAGCTGATGACGGCCCTGAATTTCAACAGTGAGACTGTGCCACAAAAATCCTCCCTT GAAGAACC GGATTTTTATAAACTAAAATCAAGCTCTGCATACTTCTCATGCTTTCA GAATTCGGGCGAGTACTATTGATAGAGTGTGAGCTATCTGAATGCTTCCGGAAGCG GAGCTACTAAGCTTACGCTGCTGAAGCAGGCTGGAGACGTTGGAGGAGAACCTGGA CCTATGTGTACCAGCAGTTGGTCATCTCTTGGTTTTCCCTGGTTTTCTGGCATCTC CCCTCGTGGCCATATGGAACTGAAGAAAGATGTTTTATGTCGTAGAATTTGGATTGGT ATCCGGATGCCCTGGAGAAATGGTGGTCTCACCTGTGACACCCCTGAAGAAGAT GGTATCACCTGGACCTTGGACCAGAGCAGTGAAGTCTTAGGCTCTGGCAAAACCT GACCCAAAGTCAAAGAGTTTGGAGATGCTGGCCAGTACACCTGTCAAAAAGGAG GCGAGGTTCTAAGCCATTGCTCCTGCTGCTTCAAAAAGGAAGATGGAATTTGGT CCACTGATATTTAAAGGACCAGAAAGAACCCAAAAATAGACCTTTCTAAGATGCGA GGCCAAGAATTATCTGGACGTTTACCTGCTGGTGGCTGACGACAATCAGTACTGA TTTGACTTTCAGTGTCAAAAGCAGCAGAGGCTCTTCTGACCCCAAGGGGTGACGT GCGGAGCTGCTACACTCTGTGCAGAGAGAGTCAAGGGGACAAACAGGAGTATGAG TACTCAGTGGAGTGCCAGGAGGACAGTGCCTGCCAGCTGCTGAGGAGAGTCTGC CCATTGAGGTCATGGTGGATGCCGTTCAAAAGCTCAAGTATGAAAACTACACAGCA GCTTCTTATCAGGGACATCATCAAACCTGACCCACCAAGAACTTGCAGCTGAAGC CATTAAGAATCTCGGCAGGTGGAGGTGAGCTGGGAGTACCCTGACACCTGGAGT ACTCCACATTCTACTTCTCCCTGACATTCTGCGTTCAAGTCCAGGGCAAGAGCAAG AGAGAAAAGAAAGATAGAGTCTTACGGACAAGACCTCAGCCACGGTCTATCTGCCG CAAAAATGCCAGCATTAGCGTGGCGGCCAGGACCGCTACTATAGCTCATCTTGA GCGAATGGGCATCTGTGCCCTGCAGTGAAGGCGAGGCGAGCCTGCTGACCTGCGG CGAGCTCGAGGAGAACCCTGGGCCATGGGGCGAGGTGCCACCGGCCGCGCAT GGACGGGCCGCGCCTGCTGCTGTTGCTGCTTCTGGGGGTGTCCTTGGAGGTGCC AAGGAGGCATGCCCCACAGGCTGTACACACACAGCGGTGAGTGTGCAAAAGCCT GCAACCTGGGCGAGGGTGTGGCCAGCCTTGTGGAGCCAACAGACCGTGTGTGA GCCCTGCCTGGACAGCGTGTGACGTTCTCCGACGTTGGTGAAGCGGACCGAGCCGTC AAGCCGTGCACCGAGTGCCTGGGGCTCCAGAGCATGTCCGGCCCGTGGCTGGAGG CCGATGAGCCGTGTGCCGCTGCGCCTACGGCTACTACCAGGATGAGACGACTGG GCGCTGCGAGGCGTGGCGGTGTGCGAGGCGGGCTCGGGCCTCGTGTCTCTGTC CAGGACAAGCAGAACACCGTGTGCGAGGAGTGCCCCGACGGCACGTATTCCGACG AGGCCAACACGTGGACCCGTGCCCTGCCCTGCACCGTGTGCGAGGACACCGAGCG CCAGCTCCGCGAGTGCACACGCTGGGCCGACGCCGAGTGCAGGAGATCCCTGGC CGTTGGATTACCGGTCCACACCCCAAGAGGGCTCGGACAGCACAGCCCCCAGCA CCCAGGAGCCTGAGGCACCTCCAGAACAAGACCTCATAGCCAGCACGGTGGCAGG TGTGGTGACCACAGTGTGGGCAGTCCAGCCCGTGGTGACCCGAGGCACCAAC GACAACCTCATCCCTGTCTATTGCTCCATCCTGGCTGCTGTGTTGTGGGTCTTGTG GCCTACATAGCCTTCAAGAGGTGATCTAGAGGGCCCGTTAAACCCGCTGATCAGC CTGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGGCCCTCCCCCGTGCCTT CTTGACCTTGAAGGTGCCACTCCACTGCTCTTCTTAATAAAATGAGGAAATTGC ATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTATTCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACA GCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTC TATGACTAGTGGCGAATTCGGCGCAGATCAAGAGAGGCTCGGGGAGAGCTCAGG GTGACAGGTGCGGCTCGGAGGCCCGGGGAGGGGTGAGCTGAGCCGGTCTG GGGTGGGTGTCCTCTGTCACAGGATCAGGAGCTCCAGGGTCTGAGGGCAGGGA CCCCCAGCTCCAGTCCAGGGCTCTGTCTGCACTGGGGAATGTTGACCGGCAT CTCTGTCTCTAGCTCTGGAAGCACCCAGCCCTCTAGTCTGCCCTCACCCCTGA CCCTGACCTCCACCTGACCCCGTCTAACCCTGACCTTTGATCGGATCCCGGG CCGCTCGACTGCAGAGGCTGCATGCAAGCTTGGCGTAATCATGGTATAGCTGTT TCCTGTGTGAAATGTTATCCGCTCACAATCCACACAACATACGAGCCGGAAGCAT AAAGTGTAAAGCCTGGGGTGCCTAATGAGTGAAGTAACTCACATTAATTGCGTTGCG CTACTGCCCGCTTCCAGTCGGGAAACCTGCTGTCAGCTGCATTAATGAATCG</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>
--	--	---	---

		<p>GCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCCTATTGGGCGCTCTTCCGCTTCCTCGCT CACTGACTCGCTGCGCTCGGTCGTTCCGCTGCGGCGAGCGGTATCAGCTCACTCAA AGCCGGTAATACGGTTATCCACAGAATCAGGGGATAACGCAGGAAAGAACATGTGA GCAAAAGGCCAGCAAAAGGCCAGGAACCGTAAAAAGGCCGCTTGCTGGCGTTTTT CCATAGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAAAAATCGACGCTCAAGTCAGAGGT GGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATACCAGGCGTTTTCCCCCTGGAAGCTCCCTC GTGCGCTCTCCTGTTCCGACCCCTGCCGCTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTCTCCCT TCGGGAAGCGTGGCGCTTTCTCATAGCTCAGCTGTAGGTATCTCAGTTCCGGTGA GGTCGTTCCGCTCCAAGCTGGGCTGTGTGCACGAACCCCGTTTCCAGCCGACCGCT GCGCCTTATCCGGTAACTATCGTCTTGTAGTCCAACCCGGTAAGACACGACTTATCGC CACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTAGCAGAGCGAGGTATGTAGGCGGTGCT ACAGAGTTCTTGAAGTGGTGGCCTAACTACGGCTACACTAGAAGAACAGTATTTGGT ATCTGCGCTCTGCTGAAGCCAGTTACCTTCGGAAAAAGAGTTGGTAGCTCTTGATCC GGCAAAACAAACCCAGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTTTTGGTGAAGCAGCAGATTACG CGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGGTCTGACGCT CAGTGAACGCAAAACTCACGTTAAGGGATTTTGGTCATGAGATTATCAAAAAGGATC TTCACCTAGATCCTTTAAATTAATAAATGAAGTTTTAAATCAATCTAAAGTATATGA GTAAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGAT CTGTCTATTTTCGTTTCATCCTAGTTGCCTGACTCCCGCTCGTGTAGATAACTACGATA CGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCTGCAATGATACCGCGAGACCCACGCTC ACCGGCTCCAGATTTATCAGCAATAAAACAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGAA GTGGTCTGCAACTTTATCCGCTCCATCCAGTCTATTAATTGTTGCCGGGAAGCTA GAGTAAGTAGTTCGCCAGTTAATAGTTTGCGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCA TCGTGGTGTACGCTCGTCTGTTTGGTATGGCTTCATTACGCTCCGGTTCCCAACGAT CAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTC CTCCGATCGTTGTCAGAAGTAAAGTTGGCCGAGTGTATCACTCATGGTTATGGCAG CACTGCATAATTCTTACTGTCTATGCCATCCGTAAGATGCTTTTCTGTGACTGGTGA GTACTCAACCAAGTCAATCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCCC GGCGTCAATACGGGATAATACCGCGCCACATAGCAGAACTTAAAAAGTGCATCAT TGGAAAACGTTCTTCGGGGCGAAAACCTCAAGGATCTTACCCTGTTGAGATCCAG TTCGATGTAACCCACTCGTGCACCCCAACTGATCTTACGATCTTTTACTTTTACCAGC GTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGGCAAAATGCCGCAAAAAGGGAATAAGGGC GACACGGAAATGTTGAATACTCATACTCTTCCCTTTTCAATATTATTGAAGCATTATC AGGGTTATTGTCTCATGAGCGGATACATATTTGAATGTATTTAGAAAAATAAACAAAT AGGGGTTCCGCGCACATTTCCCGAAAAAGTGCCACCTGACGCTAAGAAACCATTAT TATCATGACATTAACCTATAAAAAATAGGCGTATCACGAGGCCCTTTCGTC</p>	<p>10</p> <p>20</p>
<p>68</p>	<p>B2m遺伝子座 に挿入された HLAE三量体 マトリックス (VMAPRTLFL ペプチド)</p>	<p>cacttagcatctctggggcagctctgcaaacgagggggcagccttaatgtcctccagcctgaagtcctagaat gagcggcgggtgtcccaagctggggCGCGCACCCAGATCGGAGGGCGCCGATGTACAGACA GCAAACTACCCAGTCTAGTGCATGCCTTCTTAAACATCACGAGACTCTAAGAAAAGG AAACTGAAAACGGGAAAGTCCCTCTCTAACCTGGCACTGCGTCGCTGGCTTGGAGA CAGGTGACGGTCCCTGCGGGCCTTGTCTGATTGGCTGGGCACGCTTTAATATAAGT GGAGGCGTCGCGCTGGCGGGCATTCTGAAGCTGACAGCATTGGGCGGAGATGTCT CGCTCCGTGGCCTTACTGTCTGCTCGCGCTACTCTCTTACGCGCCTCGAAGCTGTTAT GGCTCCGCGGACTTTATTCTTAGGTGGTGGCGGATCCGCTGGTGGCGGTTCTGGTGG TGGCGGCTCCATCCAGCGTACGCCAAAATTCAAGTCTACAGCCGACATCTGCAGAG AACGGCAAATCTAATTTCTGAACTGCTATGTATCAGGCTTTCACCTAGCGATATAGA AGTGGACCTGCTGAAAAACGGAGAGAGGATAGAAAAGGTCGAACACAGCGACCTCT CCTTTTCCAAGGACTGGAGCTTTTATCTTCTGTATTACTGAATTTACACCCACGGAA AAAGATGAGTATGCGTGCCGAGTAACCCAGTACGCTGTACAGCCCAAAATAGTA AAATGGGATCGCGACATGGGTGGTGGCGGTTCTGGTGGTGGCGGTAGTGGCGGCGG AGGAAGCGGTGGTGGCGGTTCCGGATCTCACTCCTTGAAGTATTTCCACACTTCCGTG TCCCGGCCCGGCCGCGGGAGCCCCGCTTCTCTGTGGGCTACGTGGACGACACC CAGTTCGTGCGCTTCGACAACGACGCCGCGAGTCCGAGGATGGTGGCGGGCGGCC GTGGATGGAGCAGGAGGGGTACAGATATTGGGACCGGGAGACACGGAGCGCCAGG GACACCGCACAGATTTCCGAGTGAACCTGCGGACGCTGCGCGGCTACTACAATCAG AGCGAGGCCGGGTCTCACACCCTGCAGTGGATGCATGGCTGCGAGCTGGGGCCCGA CAGGCGCTTCTCCGCGGGTATGAACAGTTCCGCTACGACGGCAAGGATTATCTCACC CTGAATGAGGACCTGCGCTCTGGACCGGGTGGACACGGCGGCTCAGATCTCCGAG CAAAAGTCAAATGATGCCTCTGAGGCGGAGCACCAGAGAGCCTACCTGGAAGACACA</p>	<p>30</p> <p>40</p>

		<p>TGCGTGGAGTGGCTCCACAAATACCTGGAGAAGGGGAAGGAGACGCTGCTTACCTG GAGCCCCAAAGACACACGTGACTACCACCCCATCTCTGACCATGAGGCCACCCTGA GGTGTCTGGGCTCTGGGCTTCTACCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCAGGATG GGGAGGGCCATAACCAGGACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGG AACCTTCCAGAAGTGGGCAGCTGTGGTGGTGCCTTCTGGAGAGGAGCAGAGATACAC GTGCCATGTGCAGCATGAGGGGCTACCCGAGCCCGTACCCTGAGATGGAAGCCGGC TTCCAGCCACCATCCCCATCGTGGGCATCATTGCTGGCCTGGTTCTCCTTGATCTG TGGTCTCTGGAGCTGTGTTGCTGCTGTGATATGGAGGAAGAAGAGCTCAGGTGGAA AAGGAGGGAGCTACTATAAGGCTGAGTGGAGCGACAGTGCCAGGGGTCTGAGTCT CACAGCTTGTAACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTGCCCTCCCCGTG CCTTCTTGACCTGGAAGGTGCCACTCCACTGTCTTTCCTAATAAAATGAGGAAAT TGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGA CAGCAAGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGC TCTATGTCTTTTGGCCTGGAGGCTATCCAGCGTGAGTCTCTCCTACCCTCCCGTCT GGTCTTCTCTCCCGCTCTGACCCCTCTGTGGCCCTCGCTGTGCTCTCTCGTCCGTG ACTTCCCTTCTCCAAGTTCTCCTGGTGGCCCGCCGTGGGGCTAGTCCAGGGCTGGAT CTCGGGGAAGCGCGGGGTGGCCTGGGAGTGGGGAAGGGGTGCGCACCCGGGAC GCGCGCTACTTGCCCTTTCGGCGGGGAGCAGGGGAGACTTTGGCCTACGGCGACG GGAGGTGGGACAAAGtttagggcgtgataagcgtcagagcgcaggttggggagggttctctt cgctcttccggggctctggctccccagcgcagctggagtgggg</p>	10
69	HLAE 三量体 マトリックス (VMAPRTLFL ペプチド)	<p>CGCGACCCAGATCGGAGGGCGCCGATGTACAGACAGCAAACCTACCCAGTCTAGT GCATGCCTTCTTAAACATCACGAGACTCTAAGAAAAGGAACTGAAAACGGGAAAGT CCCTCTCTAACCTGGCACTGCGTCGCTGGCTTGGAGACAGGTGACGGTCCCTGCGG GCCTTGTCTGATTGGCTGGGCACGCGTTAATAATAAGTGGAGGCGTCGCGCTGGCG GGCATTCCGTAAGTGCAGCATTCGGGCGGAGATGTCTCGCTCCGTGGCCTTAGTTG TGCTCGCGTACTCTCTTAGCGGCCTCGAAGCTGTTATGGCTCCGCGGACTTTATTC TTAGGTGGTGGCGGATCCGGTGGTGGCGTTCTGGTGGTGGCGGCTCCATCCAGCGT ACGCCAAAATTCAAGTCTACAGCCGACATCCTGCAGAGAACGGCAAATCTAATTTCC TGAAGTGTATGTATCAGGCTTTCACCTAGCGATATAGAAGTGGACCTGCTGAAAA CGGAGAGAGGATAGAAAAGTGAACACAGCGACCTCTCTTTTCCAAGGACTGGAG CTTTTATCTTCTGATTATACTGAATTTACACCCACGGAAAAAGATGAGTATGCGTGCC GAGTAAACCACGTACGCTGTACAGCCAAAATAGTAAAATGGGATCGCGACATGG GTGGTGGCGGTTCTGGTGGTGGCGGTAGTGGCGGCGGAGGAAGCGGTGGTGGCGG TTCCGGATCTCACTCCTTGAAGTATTTCCACACTTCCGTGTCCCGGCCCGCCGCGGG GAGCCCCGCTTCTCTGTGGGCTACGTGGACGACACCCAGTTCTGTGCGCTTCGACA ACGACGCCGAGTCCGAGGATGGTGGCGGGGCGCCGTGGATGGAGCAGGAGGG GTCAGAGTATTGGGACCGGGAGACACGGAGCGCCAGGGACACCGCACAGATTTTCC GAGTGAACCTGCGGACGCTGCGCGGCTACTACAATCAGAGCGAGGCCGGGTCTCACA CCCTGCAAGTGGATGCATGGCTGCGAGCTGGGGCCGACAGGCGCTTCTCCGCGGGT ATGAACAGTTCGCTACGACGGCAAGGATTATCTACCCTGAATGAGGACCTGCGCTC CTGGACCGGTTGGACACGGCGGCTCAGATCTCCGAGCAAAGTCAAATGATGCCTC TGAGGCGGAGCACAGAGAGCCTACCTGGAAGACACATGCGTGGAGTGGCTCCACA AATACCTGGAGAAGGGGAAGGAGACGCTGCTTACCTGGAGCCCCAAAGACACAC GTGACTACCAACCCATCTCTGACCATGAGGCCACCTGAGGTGCTGGGCTCTGGGCT TCTACCCTGCGGAGATCACTGACCTGGCAGCAGGATGGGGAGGGCCATACCCAGG ACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCA GCTGTGGTGGTGCCTTCTGGAGAGGAGCAGAGATACACGTGCCATGTGCAGCATGA GGGGTACCCGAGCCCGTACCCTGAGATGGAAGCCGGCTTCCAGCCACCATCCC CATCGTGGGCATCATTGCTGGCCTGGTTCTCCTTGGATCTGTGGTCTCTGGAGCTGTG GTTGCTGCTGTGATATGGAGGAAGAAGACTCAGGTGGAAAAGGAGGGAGCTACTA</p>	20 30 40

	<p>TAAGGCTGAGTGGAGCGACAGTGCCAGGGGTCTGAGTCTCACAGCTTGTAACTGTG CCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCTCCCCGTGCTTCCCTGACCCTGGAA GGTGCCACTCCCAGTCTCTTTCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGA GTAGGTGTCTATTCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGAT TGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGTCTTTTCTGGC CTGGAGGCTATCCAGCGTGAAGTCTCTCTACCCTCCCGCTCTGGTCTTCTCTCCCGC TCTGCACCCTCTGTGCCCTCGCTGTGCTCTCTCGCTCCGTGACTTCCCTTCTCCAAGT CTCCTTGGTGGCCCGCTGGGGCTAGTCCAGGGCTGGATCTCGGGGAAGCGGCGG GGTGGCTGGGAGTGGGAAGGGGGTGCACCCGGGACGCGCGTACTTGCCCT TTCGGCGGGGAGCAGGGGAGACCTTGGCCTACGGCGACGGGAGGGTGGGGACAA AG</p>	10
70	<p>cacttagcatctctggggccagtctgcaagcgagggggcagccttaatgtgcctccagctgaagcttagaat gagcggccgggtgtccaagctggggCGCGCACCCAGATCGGAGGGCGCCGATGTACAGACA GCAAACCTACCCAGTCTAGTGCATGCCTTCTAAACATCACGAGACTTAAGAAAAGG AAACTGAAAACGGGAAAGTCCCTCTCTAACCTGGCACTGCGTCGCTGGCTTGGAGA CAGGTGACGGTCCCTGCGGGCCTTGTCTGATTGGCTGGGCACGCGTTAATAAAGT GGAGGCGTCGCGCTGGCGGGCATTCTGAAGCTGACAGCATTGGGGCCGAGATGTCT CGTCCGTGGCCTTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTTAGCGGCCTCGAAGCTGTTAT GGCTCCGCGGACTTTAATTTAGGTGGTGGCGGATCCGGTGGTGGCGGTTCTGGTGG TGGCGCTCCATCCAGCGTACGCCAAAATCAAGTCTACAGCCGACATCCTGCAGAG AACGGCAAATCTAATTTCTGAACTGCTATGTATCAGGCTTTCACCTAGCGATATAGA AGTGGACCTGCTGAAAACGGAGAGAGGATAGAAAAGGTCGAACACAGCGACCTCT CCTTTTCAAGGACTGGAGCTTTTATCTTCTGTATTATACTGAATTTACACCCACGGAA AAAGATGAGTATGCGTGCCGAGTAAACCACGTACGCTGTACAGCCAAAATAGTA AAATGGGATCGCGACATGGGTGGTGGCGGTTCTGGTGGTGGCGGTAGTGGCGGGCG AGGAAGCGGTGGTGGCGGTTCCGGATCTCACTCCTGAAGTATTTCCACACTCCGTG TCCCGCCCCGGCGCGGGGAGCCCCGCTTCTCTGTGGGCTACGTGGACGACACC CAGTTCGTGCGCTTCGACAACGACGCCGCGAGTCCGAGGATGGTGGCGGGGCGCC GTGGATGGAGCAGGAGGGGTGAGATATTGGGACCGGGAGACACGGAGCGCCAGG GACACCGCACAGATTTCCGAGTGAACCTGCGGACGCTGCGCGGCTACTACAATCAG AGCGAGCGCGGTCTCACACCTGCAGTGGATGCATGGCTGCGAGCTGGGGCCCGA CAGGGCTTCTCCGCGGTATGAACAGTTCGCTACGACGGCAAGGATTATCTCACC CTGAATGAGGACCTGCGCTCTGGACCGCGGTGGACACGGCGGCTCAGATCTCCGAG CAAAAGTCAAATGATGCCTCTGAGGCGGAGCACCAGAGAGCCTACCTGGAAGACACA TGCGTGGAGTGGTCCACAATACTGGAGAAGGGGAAGGAGACGCTGCTTCACTG GAGCCCCAAAGACACAGTACTCACCACCCATCTGACCATGAGGCCACCCTGA GGTGTGGGCTCTGGGCTTCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCAGGATG GGGAGGGCCATACCCAGGACACGAGCTCGTGGAGACCAGCCTGCAGGGGATGG AACCTTCCAGAAGTGGGACGCTGTGGTGGTGCCTTCTGGAGAGGAGCAGAGATACAC GTGCCATGTGCAGCATGAGGGGCTACCCGAGCCCGTACCCTGAGATGGAAGCCGGC TTCCAGCCACCATCCCCATCGTGGGCATATTGCTGGCCTGGTTCTCCTTGGATCTG TGGTCTCTGGAGCTGTGGTTGCTGCTGTGATATGGAGGAAGAAGAGCTCAGGTGGAA AAGGAGGGAGCTACTATAAGGCTGAGTGGAGCGACAGTCCCAGGGGTCTGAGTCT CACAGCTTGAAGTGTCCCTTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGCCCTCCCCGTG CCTTCTTACCCTGGAAGGTGCCACTCCACTGTCTTCTAATAAAAATGAGGAAAT TGATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGA CAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGC TCTATGTCTTTCTGGCCTGGAGGCTATCCAGCGTGAAGTCTCTCTACCCTCCGCTCT GGTCTTCTCTCCGCTCTGCACCCTCTGTGGCCCTCGCTGTGCTCTCTCGCTCCGTG ACTTCCCTTCTCCAAGTCTCCTTGGTGGCCCGCCGTGGGGCTAGTCCAGGGCTGGAT</p>	20 30 40
B2m遺伝子座 に挿入された HLAE三量体 マトリックス (VMAPRTLIL ペプチド)		

		<p>CTCGGGGAAGCGGCGGGGTGGCCTGGGAGTGGGAAGGGGGTGCACCCGGGAC GCGCGCTACTTGCCCTTTTCGGCGGGGAGCAGGGGAGACCTTTGGCCTACGGCGACG GGAGGGTGGGACAAAGtttagggcgtcgataagcgtcagagcgcgaggtggggagggtttctt cgctcttcggggctctggctccccagcgcagctggagtgggg</p>
71	<p>HLAE 三量体 マトリックス (VMAPRTLIL ペプチド)</p>	<p>CGCGCACCCAGATCGGAGGGCGCCGATGTACAGACAGCAAACCTACCCAGTCTAGT GCATGCCTTCTAAACATCACGAGACTTAAGAAAAGGAACTGAAAACGGGAAAGT CCCTCTCTAACCTGGCACTGCGTCGCTGGCTTGGAGACAGGTGACGGTCCCTGCGG GCCTTGTCTGATTGGCTGGGCACGCGTTAATAATAAGTGGAGGCGTCGCGCTGGCG GGCATTCTGAAGCTGACAGCATTGGGCGGAGATGTCTGCTCCGTGGCCTTAGCTG TGCTGCGCTACTCTCTTAGCGCCTCGAAGCTGTTATGGCTCCGCGACTTAAATT TTAGGTGGTGGCGGATCCGGTGGTGGCGGTTCTGGTGGTGGCGGCTCCATCCAGCGT ACGCCAAAATTAAGTCTACAGCCGACATCCTGCAGAGAACGGCAAATCTAATTTCC TGAAGTGTATGTATCAGGCTTACCCTAGCGATATAGAAAGTGGACCTGCTGAAAA CGGAGAGAGGATAGAAAAGTGAACACAGCGACCTCTCTTTTCAAGGACTGGAG CTTTTATCTTGTATTACTGAATTTACACCCACGGAAAAAGATGAGTATGCGTGCC GAGTAAACCAAGTACGCTGTCACAGCCCAAATAGTAAAATGGGATCGCGACATGG GTGGTGGCGGTTCTGGTGGTGGCGGTAGTGGCGGCGGAGGAAGCGGTGGTGGCGG TTCCGGATCTACTCTTGAAGTATTTCCACACTTCCGTGTCGCGCCCGCCGCGGG GAGCCCGCTTCTCTGTGGGCTACGTGGACGACCCAGTTCGTGCGCTTCGACA ACGACGCCGAGTCCGAGGATGGTGGCGGGCGCGCTGGATGGAGCAGGAGGG GTCAGAGTATGGGACCGGGAGACCGGAGCGCCAGGGACCCGACAGATTTCC GAGTGAACCTGCGGACGCTGCGCGGCTACTACAATCAGAGCGAGGCCGGTCTACA CCCTGCAGTGGATGCATGGCTGCGAGCTGGGGCCGACAGCGCTTCTCCGCGGTT ATGAACAGTTCGCCTACGACGGCAAGGATTATCTACCCTGAATGAGGACCTGCGCTC CTGGACCGGTTGGACACGGCGGCTCAGATCTCCGAGCAAAAGTCAAATGATGCCTC TGAGGCGGAGCACCAGAGAGCCTACCTGGAAGACACATGCGTGGAGTGGCTCCACA AATACCTGGAGAAGGGGAAGGAGACGCTGCTCACCTGGAGCCCAAGACACAC GTGACTCACCCCATCTCTGACCATGAGGCCACCCTGAGGTGCTGGGCTCTGGGCT TCTACCCTGCGGAGATCACACTGACCTGGCAGCAGGATGGGGAGGGCCATACCCAGG ACACGGAGCTCGTGGAGACCAGGCTGCAGGGGATGGAACCTTCCAGAAGTGGGCA GCTGTGGTGGTCTTGGAGAGGAGCAGAGATACACGTGCCATGTGCGCATGA GGGGTACCCGAGCCCGTACCCTGAGATGGAAGCCGGCTTCCAGCCACCATCCC CATCGTGGGCATCATTGCTGGCCTGGTTCCTTGGATCTGTGGTCTCTGGAGCTGTG GTTGCTGCTGTGATATGGAGGAAGAAGAGCTCAGGTGAAAAGGAGGGAGCTACTA TAAGGCTGAGTGGAGCGACAGTCCCAGGGTCTGAGTCTCACAGCTTGAAGTGTG CCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTGCCCTCCCCGTGCCTTCTTACCCCTGGAA GGTGCCACTCCACTGTCTTTCTAATAAAATGAGGAAATGATCGCATTGTCTGA GTAGGTGCTATTCTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGAT TGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGGGATGCGGTGGGCTATGTCTCTTTCTGGC CTGGAGGCTATCCAGCGTGAATCTCTACCCTCCGCTGGTCCCTCTCTCCCGC TCTGACCCCTGTGGCCCTCGCTGTGCTCTCTCGCTCCGTGACTTCCCTTCTCAAGTT CTCCTTGGTGGCCCGCCGTGGGGCTAGTCCAGGGCTGGATCTCGGGGAAGCGGCGG GGTGGCCTGGGAGTGGGGAAAGGGGTGCGCACCCGGGACGCGCTACTTGGCCCT TTCGGCGGGGAGCAGGGGAGACCTTGGCTACGCGCAGGGAGGGTGGGGACAA AG</p>
72	<p>B2m遺伝子座 に挿入された UL18三量体 マトリックス _Actine ペプチド</p>	<p>cacttagcatctctggggccagctctgcaaagcgagggggcagccttaatgtgcctccagcctgaagtctagaat gagcgcgggtgtccaagctggggCGCGCACCCAGATCGGAGGGCGCCGATGTACAGACA GCAAACCTACCCAGTCTAGTGCATGCCTTCTAAACATCACGAGACTTAAGAAAAGG AAACTGAAAACGGGAAAGTCCCTCTCTAACCTGGCACTGCGTCGCTGGCTTGGAGA</p>

10

20

30

40

50

		<p>CAGGTGACGGTCCCTGCGGGCCTTGCTGATTGGCTGGGCACGCGTTAATAAAGT GGAGGCGTCGCGCTGGCGGGCATTCTGAAGCTGACAGCATTGCGGGCCGAGATGTCT CGTCCGTGGCCTTAGCTGTGCTGCGCTACTCTCTTAGCGGCCTCGAAGCTGCCCT GCCCCACGCCATTTTTCGGGCTCGGTGGTGGCGGATCCGGTGGTGGCGGTTCTGGTGG TGGCGGCTCCATCCAGCGTACGCCAAAATTCAAGTCTACAGCCGACATCCTGCAGAG AACGGCAAATCTAATTTCTGAAGTCTGTATCAGGCTTTCACCCTAGCGATATAGA AGTGGACCTGCTGAAAAACGAGAGAGGATAGAAAAGGTGCAACACAGCGACCTCT CCTTTTCCAAGGACTGGAGCTTTTATCTTCTGTATTATACTGAATTTACACCCACGGAA AAAGATGAGTATGCGTGCCGAGTAAACCACGTCACGCTGTACAGCCCAAATAGTA AAATGGGATCGCGACATGGGTGGTGGCGGTTCTGGTGGTGGCGGTAGTGGCGGGG AGGAAGCGGTGGTGGCGGTTCCGGATCTATGCACGTGCTGAGATACGGATATACCG GCATCTTCGACGATACATCCCATATGACTCTGACCGTGGTGGGATTTTTGACGGACA GCATTTCTTACATACCATGTGAACAGCTCCGATAAGGCTTCTAGTCGAGCAAATGGC ACCATCTATGGATGGCCAACCTGAGCGCAGCCTACCCACATATCTGGACGGAGAA CGCGCTAAAGGCGATCTGATCTTCAATCAGACCGAGCAGAACCTGCTGGAGTGAA ATTGCTCTGGGGTACAGGTCTCAGAGTGCCTGACATGGACTCACGAATGTAATACCA CAGAGAACGGGAGCTTCGTGGCAGGATATGAGGGCTTTGGGTGGGACGGAGAAACA CTGATGGAGCTGAAGGATAATCTGACTCTGTGGACCGCCCTAACTACGAAATCAGCT GGCTGAAGCAGAACAAAGACTTACATCGACGGAAAGATCAAAAACATCAGCGAGGGC GATACTACCATCCAGCGCAATTACCTGAAGGGCAACTGCACCCAGTGGAGCGTGATCT ACTCTGGGTTCCAGACACCTGTCACTACCCAGTGGTCAAAGGGGGAGTGCGAAACC AGAATGACAACCGGGCCGAGGCCTTCTGTACATCCTACGGCTTTTCCCGGGGAGAT CAATATTACTTTTATCCATTACGGCAACAAGGCCCCGACGATTCTGAGCCTCAGTGCA ATCCCCTGCTGCCTACCTTCGATGGCACATTTACCAGGGGTGCTACGTCGCTATCTTC TGCAATCAGAATACTTCCCGGGTACCCTGGGAACTGGACTGTGGAATCCCA ATTTAGTACCAGCCCCGAGATTCAAGCTCCGGAGAGGTGCCAGATACCCACCC CAAATAAGAGATACAACACCATGACAATCTCTAGTGTGCTGCTGGCCCTGCTGTG CGCACTGCTGTTTCGCTTTTCTGCATTACTTACAACCTCTGAAGCAGTATCTGCGAAC TGGCATTGCTGGCGGTACAGAAAAGTGAAGTCAAGCTGACTGTGCCTTCTAGTTGC CAGCCATCTGTTGTTGCCCCTCCCCGTCCTTCTGACCCCTGGAAGGTGCCACTCC CACTGTCTTTCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGCATT CTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAA TAGCAGGCATGCTGGGATGCGGTGGGCTCTATGTCTTTCTGGCCTGGAGGCTATC CAGCGTGAGTCTCTCTACCCTCCCGCTGCTGCTTCTCTCCCGCTGACCCCTCTG TGGCCCTCGCTGTGCTCTCTCGCTCCGTGACTTCCCTTCTCCAAGTTCTCTTGGTGGC CGCGTGGGGCTAGTCCAGGGCTGGATCTCGGGGAAGCGGCGGGGTGGCTGGGA GTGGGGAAGGGGTGCGCACCCGGGACGCGCGCTACTTGGCCCTTTCGGCGGGGAG CAGGGGAGACCTTTGGCCTACGGCGACGGGAGGGTGGGACAAAGtttagggcgtcgata agcgtcagagcggcgagggttgggggagggtttctctccgctctttcggggcctctggctccccagcgcagct ggagtgggg</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p>
73	UL18三量体 マトリックス _Actine ペプチド	<p>CGCGCACCCAGATCGGAGGGCGCCGATGTACAGACAGCAAACCTACCCAGTCTAGT GCATGCCTTCTTAAACATCACGAGACTCTAAGAAAAGGAAACTGAAAACGGGAAAGT CCCTCTCTAACCTGGCACTGCGTCGCTGGCTTGGAGACAGGTGACGGTCCCTGCGG GCCTTGCTGATTGGCTGGGCACGCGTTAATAAAGTGGAGGCGTCGCGCTGGCG GGCATTCTGAAGCTGACAGCATTGCGGGCCGAGATGTCTGCTCCGTGGCCTTAGCTG TGCTGCGCTACTCTCTTAGCGGCCTCGAAGCTGCCCTGCCCCACGCCATTTTTCGGG CTCGGTGGTGGCGGATCCGGTGGTGGCGGTTCTGGTGGTGGCGGCTCCATCCAGCGT ACGCCAAAATTCAAGTCTACAGCCGACATCCTGCAGAGAACGGCAAATCTAATTTCC TGAAGTCTGTATCAGGCTTTCACCCTAGCGATATAGAAGTGGACCTGCTGAAAA CGGAGAGAGGATAGAAAAGGTGCAACACAGCGACCTCTCTTTTCCAAGGACTGGAG</p>	40

		<p>CTTTTATCTTCTGTATTATACTGAATTTACACCCACGGAAAAAGATGAGTATGCGTGCC GAGTAAACCACGTACGCTGTACAGCCAAAATAGTAAAATGGGATCGCGACATGG GTGGTGGCGGTTCTGGTGGTGGCGGTAGTGGCGGCGGAGGAAGCGGTGGTGGCGG TTCCGGATCTATGCACGTGCTGAGATACGGATATACCGGCATCTTCGACGATACATCC CATATGACTCTGACCGTGGTCGGGATTTTTGACGGACAGCACTTCTTACATACCATGT GAACAGCTCCGATAAGGCTTCTAGTCGAGCAAATGGCACCATCTCATGGATGGCCAA CGTGAGCGCAGCCTACCCACATATCTGGACGGAGAACCGCTAAAGGGCATCTGAT CTTCAATCAGACCGAGCAGAACCTGCTGGAGCTGGAAATTGCTCTGGGGTACAGGTC TCAGAGTGTCTGACATGGACTACGAATGTAATACCACAGAGAACGGGAGCTTCGT GGCAGGATATGAGGGCTTTGGGTGGGACGGAGAAACACTGATGGAGCTGAAGGATA ATCTGACTCTGTGGACCGGCCCTAACTACGAAATCAGCTGGCTGAAGCAGAACAAGA CTTACATCGACGGAAAGATCAAAAACATCAGCGAGGGGCGATACTACCATCCAGCGCA ATTACCTGAAGGGCAACTGCACCCAGTGGAGCGTGATCTACTCTGGGTTCCAGACACC TGTCACTCACCCAGTGGTCAAAGGGGGAGTGCGAAACCAGAATGACAACCGGGCCG AGGCCTTCTGTACATCCTACGGCTTCTTTCCGGGGAGATCAATATTACTTTTATCCATT ACGGCAACAAGGCCCCGACGATTCTGAGCCTCAGTGCAATCCCCTGCTGCCTACCTT CGATGGCACATTTACCAGGGGTGCTACGTCGCTATCTTCTGCAATCAGAACTATACTT GCCGGGTGACCCATGGAACTGGACTGTGGAATCCCAATTTAGTCACCAGCCCCG ACGATTCAAGCTCCGGAGAGGTGCCAGATCACCCACCGCAAATAAGAGATAACA CCATGACAATCTCTAGTGTGCTGCTGGCCCTGCTGCTGTGCGCACTGCTGTTGCTTTT CTGCATTACTTCAAACTCTGAAGCAGTATCTGCGGAACCTGGCATTTCCTGGCGGT ACAGAAAAGTGAGATCAAGCTGACTGTGCCTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGC CCCTCCCCGTGCCTTCTTACCCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGCTCCTTTCTAATA AAATGAGGAAATTCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGG GGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGG GATGCGGTGGGCTCTATGTCTTTCTGGCCTGGAGGCTATCCAGCGTAGTCTCTCC TACCTCCCCTCTGGTCTTCTCTCCGCTCTGACCCCTCTGTGGCCCTGCTGTGCT CTCTCGTCCGTGACTTCCCTTCTCAAGTTCTCCTTGGTGGCCCGCCGTGGGGCTAGT CCAGGGCTGGATCTCGGGGAAGCGCGGGGTGGCCTGGGAGTGGGGAAGGGGGTG CGCACCCGGGACGCGCTACTTGCCCTTTGCGCGGGGAGCAGGGGAGACCTTTGG CCTACGGCGACGGGAGGGTGGGACAAAG</p>	<p>10</p> <p>20</p> <p>30</p> <p>40</p>
74	<p>B2m遺伝子座 に挿入された UL18三量体 マトリックス _HLACw ペプチド</p>	<p>cacttagcatctctggggccagtctgcaaagcgagggggcagccttaatgtcctccagcctgaagtctagaat gagcgcccgggtgcccaagctggggCGCGCACCCAGATCGGAGGGCGCCGATGTACAGACA GCAAACCTACCCAGTCTAGTGCATGCCTTCTTAAACATCACGAGACTCTAAGAAAAGG AAACTGAAAACGGGAAAGTCCCTCTCTAACCTGGCACTGCGTCGCTGGCTGGAGA CAGGTGACGGTCCCTGCGGGCCTTGTCTGATTGGCTGGGCACGCGTTTAAATAAGT GGAGCGTCGCGCTGGCGGGCATTCTGAAGCTGACAGCATTGCGGCCGAGATGTCT CGTCCGTGGCCTTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTTACGCGCCCTCGAAGCTGTTAT GGTCCGCGGACTTAAATTTAGGTGGTGGCGGATCCGTTGGTGGCGGTTCTGGTGG TGCGGCTCCATCCAGCGTACGCCAAAATTCAAGTCTACAGCCGACATCCTGCAGAG AACGGCAAATCTAATTTCTGAACTGCTATGTATCAGGCTTTACCCCTAGCGATATAGA AGTGGACCTGCTGAAAACGGAGAGAGGATAGAAAAGGTGGAACACAGCGACCTCT CCTTTTCAAGGACTGGAGCTTTTATCTTCTGTATTATACTGAATTTACACCCACGGAA AAAGATGAGTATGCGTGCCGAGTAAACCACGTACGCTGTACAGCCAAAATAGTA AAATGGGATCGCGACATGGGTGGTGGCGGTTCTGGTGGTGGCGGTAGTGGCGGGG AGGAAGCGGTGGTGGCGGTTCCGGATCTATGCACGTGCTGAGATACGGATATACCG GCATCTTCGACGATACATCCCATATGACTCTGACCGTGGTCGGGATTTTTGACGGACA GCATTTTACATAACATGTGAACAGCTCCGATAAGGCTTCTAGTCGAGCAAATGGC ACCATCTCATGGATGGCCAACGTGAGCGCAGCCTACCCACATATCTGGACGGAGAA CGCGCTAAAGGCATCTGATCTTCAATCAGACCGAGCAGAACCTGCTGGAGCTGGAA</p>	<p>30</p> <p>40</p>

		<p>ATTGCTCTGGGGTACAGGTCTCAGAGTGTCTGACATGGACTCACGAATGTAATACCA CAGAGAACGGGAGCTTCGTGGCAGGATATGAGGGCTTTGGGTGGGACGGAGAAACA CTGATGGAGCTGAAGGATAATCTGACTCTGTGGACCGCCCTAACTACGAAATCAGCT GGCTGAAGCAGAACAAGACTTACATCGACGAAAGATCAAAAACATCAGCGAGGGC GATACTACCATCCAGCGCAATTACCTGAAGGGCAACTGCACCCAGTGGAGCGTGATCT ACTCTGGGTTCCAGACACCTGTACTCACCCAGTGGTCAAAGGGGGAGTGCGAAACC AGAATGACAACCGGGCCGAGGCCTTCTGTACATCTACGGCTTTTCCCGGGGAGAT CAATATTACTTTATCCATTACGGCAACAAGGCCCCGACGATTCTGAGCCTCAGTGCA ATCCCCTGCTGCCTACCTTCGATGGCACATTTACCAGGGGTGCTACGTCGCTATCTTC TGCAATCAGAATACTTGCCGGGTGACCCATGGGAACTGGACTGTGGAATCCCA ATTTAGTCACCAGCCCCGACGATTCAAGCTCCGGAGAGGTGCCAGATCACCCCACCG CAAATAAGAGATAACAACCCATGACAATCTTAGTGTGCTGCTGGCCCTGCTGCTGTG CGCACTGTGTTTCGCTTTTCTGCATTACTTCAAACTCTGAAGCAGTATCTGCGGAACC TGGCATTTCCTGGCGGTACAGAAAAGTGAGATCAAGTCAAGTACTGTGCCTTCTAGTTGC CAGCCATCTGTTGTTTGCCTTCCCCGTGCCTTCTTGACCTGGAAGGTGCCACTCC CACTGTCTTTCTAATAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATT CTATTCTGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAA TAGCAGGCATGTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGTCTCTTTCTGGCCTGGAGGCTATC CAGCGTGAGTCTCCTACCCTCCCGCTGTGCTTCTCTCCGCTCTGCACCTCTG TGGCCCTCGCTGTGCTCTCTGCTCCGTGACTTCCCTTCTCAAAGTTCTCTTGGTGGCC CGCCGTGGGGTGTAGTCCAGGGCTGGATCTCGGGGAAGCGGCGGGGTGGCTGGGA GTGGGAAGGGGTGCGCACCCGGGACGCGCGCTACTTGCCCTTTTCGGCGGGGAG CAGGGGAGACCTTTGGCCTACGGCGACGGGAGGGTGGGACAAAgttagggcgtcgata agcgtcagagcggcgggtgggggggggtttcttctccgctcttctcggggctctggctccccagcgcagct ggagtgggg</p>	<p>10 20</p>
75	UL18三量体 マトリックス _HLAcw ペプチド	<p>CGCGACCCAGATCGGAGGGCGCCGATGTACAGACAGCAAACCTCACCCAGTCTAGT GCATGCCCTCTAAACATCACGAGACTCTAAGAAAAGGAAACTGAAAACGGGAAAGT CCCTCTCTAACCTGGCACTGCGTCGCTGGCTTGGAGACAGGTGACGGTCCCTGCGG GCCTTGTCTGATTGGCTGGGCACGCGTTAATATAAGTGGAGGCGTCGCGCTGGCG GGCATTCTGAAGCTGACAGCATTGGGCCGAGATGTCTCGTCCGTGGCCTTAGCTG TGCTCGCGCTACTCTCTTAGCGGCCTCGAAGCTGTTATGGCTCCGCGGACTTTAATT TTAGGTGGTGGCGGATCCGTTGGTGGCGGTTCTGTTGGTGGCGGCTCCATCCAGCGT ACGCCAAAATTCAAGTCTACAGCCGACATCCTGCAGAGAACGGCAAATCTAATTTCC TGAAGTGTATGTATCAGGCTTTCACCTAGCGATATAGAAGTGGACCTGCTGAAAAA CGGAGAGAGGATAGAAAAGGTGCAACACAGCGACCTCTCCTTTTCCAAGGACTGGAG CTTTTATCTTCTGTATTATACTGAATTTACCCACGGAAAAAGATGAGTATGCGTGCC GAGTAAACCACGTACGCTGTACAGCCCCAAAATAGTAAAATGGGATCGCGACATGG GTGGTGGCGGTTCTGGTGGTGGCGGTAGTGGCGGCGGAGGAAGCGGTGGTGGCGG TTCCGGATCTATGCACGTGCTGAGATACGGATATACCGGCATCTTCGACGATACATCC CATATGACTCTGACCGTGGTCGGGATTTTTGACGGACAGCACTTCTTTACATACCATGT GAACAGCTCCGATAAGGCTTCTAGTCGAGCAAATGGCACCATCTCATGGATGGCCAA CGTGAGCGCAGCCTACCCACATATCTGGACGGAGAACCGCTAAAGGCGATCTGAT CTCAATCAGACCGAGCAGAACCTGCTGGAGCTGAAAATTGCTCTGGGTACAGGTC TCAGAGTGTCTGACATGGACTCACGAATGTAATACCAGAGAACGGGAGCTTCGT GGCAGGATATGAGGGCTTTGGGTGGGACGGAGAAACACTGATGGAGCTGAAGGATA ATCTGACTCTGTGGACCGGCCCTAACTACGAAATCAGCTGGCTGAAGCAGAACAAGA CTTACATCGACGAAAGATCAAAAACATCAGCGAGGGGCGATACTACCATCCAGCGCA ATTACCTGAAGGGCAACTGCACCCAGTGGAGCGTGATCTACTCTGGGTTCCAGACACC TGCTACTCACCCAGTGGTCAAAGGGGGAGTGCGAAACCAGAATGACAACCGGGCCG AGGCCTTCTGTACATCCTACGGCTTTTCCCGGGGAGATCAATATTACTTTTATCCATT</p>	<p>30 40</p>

		<p>ACGGCAACAAGGCCCCGACGATTCTGAGCCTCAGTGCAATCCCCTGCTGCCTACCTT CGATGGCACATTTACCAGGGGTGCTACGTGCTATCTTCTGCAATCAGAACTATACTT GCCGGGTGACCCATGGGAAGTGGACTGTGGAAATCCCAATTTAGTCACCAGCCCCG ACGATTCAAGCTCCGGAGAGGTGCCAGATACCCCACCGCAAATAAGAGATAACA CCATGACAATCTCTAGTGTGCTGCTGGCCCTGCTGCTGTGCGCACTGCTGTTCCGTTTT CTGCATTACTTCAAACTCTGAAGCAGTATCTGCGGAACCTGGCATTGCTGCTGGCGGT ACAGAAAAGTGAGATCAAGCTGACTGTGCCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGC CCCTCCCCGTGCCTTCTTACCCTGGAAGGTGCCACTCCCCTGCTCTTCTTAATA AAATGAGGAAATTCATCGCATTGCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGG GGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGG GATGCGGTGGGCTATGTCTCTTCTGGCCTGGAGGCTATCCAGCGTAGTCTCTCC TACCCTCCCGCTCTGGTCTTCTCTCCCGCTCTGCACCCTCTGTGGCCCTCGCTGTGCT CTCTCGCTCCGTGACTTCCCTTCCAAGTCTCCTTGGTGGCCCGCTGGGGCTAGT CCAGGCTGGATCTCGGGGAAGCGCGGGTGGCCTGGGAGTGGGGAAGGGGGTG CGCACCCGGGACGCGCTACTTGCCTTTCGGCGGGGAGCAGGGGAGACCTTTGG CCTACGGCGACGGGAGGGTGGGACAAAG</p>	10
76	<p>B2m遺伝子座 に挿入された UL18三量体 マトリックス _HLAG ペプチド</p>	<p>cacttagcatctctggggccagtctgcaaagcagggggagccttaatgtgctccagcctgaagtcctagaat gagcgccgggtccaagctggggCGCGCACCCAGATCGGAGGGCGCCGATGTACAGACA GCAAACCTACCCAGTCTAGTGCATGCCTTCTAAACATCACGAGACTCTAAGAAAAGG AAACTGAAAACGGGAAAGTCCCTCTCTAACCTGGCACTGCGTGCCTGGCTGGAGA CAGGTGACGGTCCCTGCGGGCCTTGTCTGATTGGCTGGGCACGCGTTAATATAAGT GGAGGCGTCCGCTGGCGGGCATTCTGAAGCTGACAGCATTGCGGGCCGAGATGTCT CGTCCGTGGCCTTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTTAGCGGCCTCGAAGCTGTTAT GGCTCCGCGGACTTTATTCTTAGGTGGTGGCGGATCCGGTGGTGGCGGTTCTGGTGG TGGCGCTCCATCCAGCGTACGCCAAAATTCAAGTCTACAGCCGACATCCTGCAGAG AACGGCAAATCTAATTTCTGAACTGCTATGTATCAGGCTTTCACCTAGCGATATAGA AGTGGACCTGCTGAAAACGGAGAGAGGATAGAAAAGGTGAAACACAGCGACCTCT CCTTTTCAAGGACTGGAGCTTTTATCTTCTGTATTATACTGAATTTACACCCACGGAA AAAGATGAGTATGCGTGCCGAGTAAACCACGTACGCTGTACAGCCAAAATAGTA AAATGGGATCGCGACATGGGTGGTGGCGGTTCTGGTGGTGGCGGTAGTGGCGGGG AGGAAGCGGTGGTGGCGGTTCCGATCTATGCACGTGCTGAGATACGGATATACCG GCATCTTCGACGATACATCCATATGACTCTGACCGTGGTGGGATTTTACGGACA GCATCTTTACATACCATGTGAACAGCTCCGATAAGGCTTCTAGTCGAGCAAATGGC ACCATCTCATGGATGGCCAACGTGAGCGCAGCCTACCCACATATCTGGACGGAGAA CGCGCTAAAGGGGATCTGATCTTCAATCAGACCGAGCAGAACCTGCTGGAGCTGGAA ATTGCTCTGGGGTACAGGTCTCAGAGTGTCTGACATGGACTCACGAATGTAATACCA CAGAGAACGGGAGCTTCGTGGCAGGATATGAGGGCTTTGGTGGGACGGAGAAACA CTGATGGAGCTGAAGGATAATCTGACTCTGTGGACCGGCCCTAACTACGAAATCAGCT GGCTGAAGCAGAACAAGACTTACATCGACGAAAGATCAAAAACATCAGCGAGGGC GATACTACCATCCAGCGCAATTACCTGAAGGGCAACTGCACCCAGTGGAGCGTGATCT ACTCTGGGTTCCAGACACCTGTCACTACCCAGTGGTCAAAGGGGGAGTGCGAAACC AGAATGACAACCGGGCCGAGGCCTTCTGTACATCTACGGCTTCTTCCCGGGGAGAT CAATATACTTTTATCCATTACGGCAACAAGGCCCCGACGATTCTGAGCCTCAGTGCA ATCCCCTGCTGCCTACCTTCGATGGCACATTTACCAGGGGTGCTACGTGCTATCTTC TGCAATCAGAACTATACTTGCCTGGTACCCATGGGAACTGGACTGTGGAAATCCCA ATTTAGTCACCAGCCCCGACGATTCAAGCTCCGGAGAGGTGCCAGATACCCCACCG CAAATAAGAGATAACAACCATGACAATCTCTAGTGTGCTGCTGGCCCTGCTGCTGTG CGCACTGCTGTTTCGCTTTTCTGCATTACTTCAAACTCTGAAGCAGTATCTGCGGAACC TGGCATTGCTGGCGGTACAGAAAAGTGAGATCAAGCTGACTGTGCCTTCTAGTTGC CAGCCATCTGTTGTTGCCCTCCCGTGCCTTCTTACCCTGGAAGGTGCCACTCC</p>	20 30 40

		CACTGTCCTTTCCTAATAAAAATGAGGAAATTGCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATT CTATTCTGGGGGGTGGGGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAA TAGCAGGCATGTGGGGATGCGGTGGGCTCTATGTCTCTTTCTGGCCTGGAGGCTATC CAGCGTGAGTCTCTCTACCTCCCGCTCTGGTCCCTCTCCCGCTGCACCCTCTG TGGCCCTCGCTGTGCTCTCTCGCTCCGTGACTTCCCTTCTCCAAGTTCTCTTGGTGGCC CGCCGTGGGGCTAGTCCAGGGCTGGATCTCGGGGAAGCGGCGGGTGGCCTGGGA GTGGGGAAGGGGTGCGCACCCGGGACGCGCTACTTGCCCTTTCGGCGGGGAG CAGGGGAGACCTTTGGCCTACGGCGACGGAGGGTCGGGACAAAGtttagggcgtcgata agcgtcagagcggcggaggttggggagggttctctccgctcttcgggggcctctggctccccagcgagct ggagtgggg	
77	UL18三量体 マトリックス _HLAG ペプチド	CGCGCACCCAGATCGGAGGGCGCCGATGTACAGACAGCAAACCTACCCAGTCTAGT GCATGCCTTCTTAAACATCAGGAGACTCTAAGAAAAGGAAACTGAAAACGGGAAAGT CCCTCTCTAACCTGGCACTGCGTGGCTGGTTGGAGACAGGTGACGGTCCCTGCGG GCCTGTCTGATTGGCTGGGCACGCGTTAATATAAGTGGAGGCGTCGCGCTGGCG GGCATTCTGAAGCTGACAGCATTGCGGCGGAGATGTCTCGCTCCGTGGCCTTAGCTG TGCTCGGCTACTCTCTTAGCGGCCTCGAAGCTGTTATGGCTCCGCGGACTTTATTC TTAGGTGGTGGCGGATCCGGTGGTGGCGTTCTGGTGGTGGCGGCTCCATCCAGCGT ACGCCAAAATCAAGTCTACAGCCGACATCCTGCAGAGAACGGCAAATCTAATTTCC TGAAGTGTATGTATCAGGCTTTCACCTAGCGATATAGAAGTGGACCTGCTGAAAA CGGAGAGAGGATAGAAAAGGTGCAACACAGCGACCTCTCTTTTCCAAGGACTGGAG CTTTATCTTCTGTATTATACTGAATTTACACCCACGGAAAAAGATGAGTATGCGTGCC GAGTAAACCACGTACGCTGTCACAGCCAAAATAGTAAAATGGGATCGCGACATGG GTGGTGGCGTTCTGGTGGTGGCGGTAGTGGCGGCGGAGGAAGCGGTGGTGGCGG TTCCGGATATGCACGTGCTGAGATACGGATATACCGCATCTTCGACGATACATCC CATATGACTCTGACCGTGGTCGGGATTTTTGACGGACAGCACCTTTACATACCATGT GAACAGCTCCGATAAAGGCTTCTAGTCGAGCAAATGGACCATCTCATGGATGGCCAA CGTGAGCGCAGCCTACCCACATATCTGGACGGAGAACGCGCTAAAGGCGATCTGAT CTTCAATCAGACCGAGCAGAACCTGCTGGAGCTGGAAATTGCTCTGGGGTACAGGTC TCAGAGTGTCTGACATGGACTCACGAATGTAATACCACAGAGAACGGGAGCTTCGT GGCAGGATATGAGGGCTTTGGGTGGGACGGAGAAACACTGATGGAGCTGAAGGATA ATCTGACTCTGTGGACCGCCCTAACTACGAAATCAGCTGGCTGAAGCAGAACAGA CTTACATCGACGGAAAGATCAAAAACATCAGCGAGGGCGATACTACCATCCAGCGCA ATTACCTGAAGGGCAACTGCACCCAGTGGAGCGTGATCTACTCTGGGTTCCAGACACC TGCTACTACCCAGTGGTCAAAGGGGGAGTGCAGAAACCAGAATGACAACCGGGCCG AGGCCTTCTGTACATCTACGGCTTCTTCCCGGGGAGATCAATATTACTTTTATCCATT ACGGCAACAAGGCCCGACGATTCTGAGCCTCAGTGAATCCCCTGCTGCCTACCTT CGATGGCACATTTACCAGGGGTGCTACGTCGCTATCTTCTGCAATCAGAATACTACT GCCGGGTGACCCATGGGAAGTGGACTGTGAAATCCCAATTTTCAGTACCAGCCCGG ACGATTCAAGCTCCGGAGAGGTGCCAGATCACCCACCGCAAATAAGAGATACAACA CCATGACAATCTCTAGTGTGCTGCTGGCCCTGCTGCTGTGCGCACTGCTGTTGCTTTT CTGCATTACTCACAACCTGAAGCAGTATCTGCGGAACCTGGCATTGCTGCTGGCGGT ACAGAAAAGTGAAGTCAAGCTGACTGTGCTTCTAGTTGCCAGCCATCTGTTGTTTGC CCCTCCCCGTGCCCTTCTGACCCTGGAAGGTGCCACTCCACTGCTCTTCTAATA AAATGAGGAAATTCATCGCATTGTCTGAGTAGGTGTCATTCTATTCTGGGGGGTGG GGTGGGGCAGGACAGCAAGGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGCATGCTGGG GATGCGGTGGGCTCTATGTCTCTTCTGGCCTGGAGGCTATCCAGCGTGAAGTCTCTCC TACCCTCCCGCTCTGGTCTTCTCTCCCGCTCTGCAACCCTGTGGCCCTCGCTGTGCT CTCTCGCTCCGTGACTTCCCTTCTCAAGTTCTCTTGGTGGCCCGCTGGGGCTAGT CCAGGGCTGGATCTCGGGGAAGCGGCGGGTGGCCTGGGAGTGGGGAAGGGGGTGG CGCACCCGGGACGCGCTACTTGCCCTTTCGGCGGGGAGCAGGGGAGACCTTTGG	10 20 30 40

		CCTACGGCGACGGGAGGGTCGGGACAAAG
78	TALEN 標的B2m1	TCCGTGGCCTTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTTTCTGGCCTGGA
79	TALEN 標的B2m2	TTAGCTGTGCTCGCGCTACTCTCTTTCTGGCCTGGAGGCTATCCA

(表5) 続き：実施例2および3において言及される配列

		ポリペプチド配列
80	pCLS31134 右 TALEN B2m1 RVD 配列： HD-HD-NN-NG-NN- NN-HD-HD-NG-NG- NI-NN-HD-NG-NN- NG#	MGDPKKRKRKVIDYPYDVPDYAIDIADLRTLGYSSQQQEKIKPKVRSSTVAQHHEA LVGHGFTHAHIVALSQHPAALGTAVVKYQDMIAALPEATHEAIVGVGKQWSGA RALEALLTVAGELRGPPLQLDTGQLLKIARGGVTAVEAVHAWRNALTGAPLNL TPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALET VQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQV VAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLL LPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIAS HDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLC QAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGG GKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHG LTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQAL ETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQ QVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGGRPALESIVA QLSRPDPALAALTNDHLVALACLGGRPALDAVKKGLGDPISRSQLVKSELEEKKS ELRHKLKYPHEYIELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKPD GAIYTVGSPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEMQRYVEENQTRNKHINPNE WWKVYPSSVTEFKFLVSGHFKGNYKAQLTRLNHITNCNGAVLSVEELLIGGEMI KAGTLTLEEVRRKFNGEINFAAD
81	pCLS31135 左 TALEN B2m1 RVD 配列： HD-HD-NI-NN-NN-HD- HD-NI-NN-NI-NI-NI- NN-NI-NN-NG#	MGDPKKRKRKVIDYPYDVPDYAIDIADLRTLGYSSQQQEKIKPKVRSSTVAQHHEA LVGHGFTHAHIVALSQHPAALGTAVVKYQDMIAALPEATHEAIVGVGKQWSGA RALEALLTVAGELRGPPLQLDTGQLLKIARGGVTAVEAVHAWRNALTGAPLNL TPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALET VQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVV AIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLL PVLCQAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASH DGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQA HGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQ ALETVQALLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPE QVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGKQALETVQ RLLPVLCQAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCQAHGLTPQQVVAI ASNNGGKQALETVQRLLPVLCQAHGLTPQQVVAIASNNGGGRPALESIVAQLSRP DPALAALTNDHLVALACLGGRPALDAVKKGLGDPISRSQLVKSELEEKSELRHKL KYPHEYIELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKPDGAIYTV GSPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEMQRYVEENQTRNKHINPNEWWKVY PSSVTEFKFLVSGHFKGNYKAQLTRLNHITNCNGAVLSVEELLIGGEMIKAGTLT LEEVRRKFNGEINFAAD

10

20

30

40

50

82	<p>pCLS31136 右 TALEN B2m2</p> <p>RVD 配列 :</p> <p>NG-NI-NN-HD-NG- NN-NG-NN-HD-NG- HD-NN-HD-NN-HD- NG#</p>	<p>MGDPKKKRKVIDYPYDVPDYAIDIADLRTLGYSSQQQEKIKPKVRSTVAQHHEA LVGHGFTAHIVALSQHPAALGTAVVKYQDMIAALPEATHEAIVGVGKQWSGA RALEALLTVAGELRGPPLQLDTGQLLKIARKGGVTAVEAVHAWRNALTGAPLNL TPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALET VQALLPVLCAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQV VAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLP LPVLCAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIA SNGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVL CAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASNNG GKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCAH GLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASHDGGKQ ALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPE QVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASNNGGGRPALESIVA QLSRPDPALAALTNLNDHLVALACLGGPDAVKKGLGDPISRSQLVKSELEEKKS ELRHKLKYPHEYIELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKPD GAIYTVGSPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEMQRYVEENQTRNKHINPNE WWWKVPSSVTEFKFLFVSGHFKNYKAQLTRLNHITNCNGAVLSVEELLIGGEMI KAGTLTLEEVRRKFNNGEINFAAD</p>
83	<p>pCLS31137 左 TALEN B2m2</p> <p>RVD 配列 :</p> <p>NN-NN-NI-NG-NI- NN-HD-HD-NG-HD- HD-NI-NN-NN-HD- NG#</p>	<p>MGDPKKKRKVIDYPYDVPDYAIDIADLRTLGYSSQQQEKIKPKVRSTVAQHHEA LVGHGFTAHIVALSQHPAALGTAVVKYQDMIAALPEATHEAIVGVGKQWSGA RALEALLTVAGELRGPPLQLDTGQLLKIARKGGVTAVEAVHAWRNALTGAPLNL TPQQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALE TVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCAHGLTPEQV VAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASNIGGKQALETVQALL PVLCAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIAS HDGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVL CAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASHDGG KQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCAHGL TPEQVVAIASNIGGKQALETVQALLPVLCAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALET VQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASNNGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQV VAIASHDGGKQALETVQRLLPVLCAHGLTPEQVVAIASNNGGGRPALESIVAQL SRPDPALAALTNLNDHLVALACLGGPDAVKKGLGDPISRSQLVKSELEEKSEL HKLKYPHEYIELIEIARNSTQDRILEMKVMEFFMKVYGYRGKHLGGSRKPDGAI YTVGSPIDYGVIVDTKAYSGGYNLPIGQADEMQRYVEENQTRNKHINPNEWW KVYPSSVTEFKFLFVSGHFKNYKAQLTRLNHITNCNGAVLSVEELLIGGEMIKAG TLTLEEVRRKFNNGEINFAAD</p>
84	HLAG1	<p>MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPFIAMGYVDDTQFVR FSDSDACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEASS HTLQWMIGCDLGS DGRLLRGYEQYAYDGKDYALNEDLRSWTAADTAAQISKRCKEAA NVAEQRRAYLEGTCVEWLHRYLENGKEMLRADPPKTHVTHHPVFDYEATLRCWALGF YPAEIILTWQRDGEDQTQDVELVETRPAGDGTQKWAAVVPSGEEQRYTCHVQHEGL PEPLMLRWKQSSLPTIPIMGIVAGLVVLAAVVTGA AVAVLWRKKSSD</p>
85	HLAG2	<p>MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPFIAMGYVDDTQFVR FSDSDACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEAKP PKTHVTHHPVFDYEATLRCWALGFYPAEIILTWQRDGEDQTQDVELVETRPAGDGTQK WA AVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLMLRWKQSSLPTIPIMGIVAGLVVLAAVVTGAA VA AVLWRKKSSD</p>

10

20

30

40

86	HLAG3	MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPFIAMGYVDDTQFVR FDSDSACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEAKQ SSLPTIPIMGIVAGLVVLAAVVTGA AVAAVLWRKKSSD
87	HLAG4	MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPFIAMGYVDDTQFVR FDSDSACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEASS HTLQWMIGCDLGS DGRLLRGYEQYAYDGKDY LALNEDLRSWTAADTAAQISKRKCEAA NVAEQRRAYLEGTCVEWLHRYLENGKEMLRQAKQSSLPTIPIMGIVAGLVVLAAVVTGA AVAAVLWRKKSSD
88	HLAG5	MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPFIAMGYVDDTQFVR FDSDSACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEASS HTLQWMIGCDLGS DGRLLRGYEQYAYDGKDY LALNEDLRSWTAADTAAQISKRKCEAA NVAEQRRAYLEGTCVEWLHRYLENGKEMLRADPPKTHVTHHPVFDYEATLRCWALGF YPAEIIITWQRDGEDQTQDVELVETRPAGDGTTFQKWA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGL PEPLMLRWSKEG DGGIMSVRESRSLSEDL
89	HLAG6	MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPFIAMGYVDDTQFVR FDSDSACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEAKP PKTHVTHHPVFDYEATLRCWALGFYPAEIIITWQRDGEDQTQDVELVETRPAGDGTTFQK WA AVVVPSGEEQRYTCHVQHEGLPEPLMLRWSKEG DGGIMSVRESRSLSEDL
90	HLAG7	MVVMAPRTLFLLLSGALTLTETWAGSHSMRYFSAAVSRPGRGEPFIAMGYVDDTQFVR FDSDSACPRMEPRAPWVEQEGPEYWEETRNTKAHAQTDRMNLQTLRGYYNQSEASE

10

20

【 0 3 1 9 】

実施例3：初代T細胞におけるB2MおよびTRAC遺伝子座でのNK阻害物質およびCARをコードするマトリックスのTALEN（登録商標）媒介性二重標的指向組込み

本実施例は、CAR T細胞療法の治療転帰を、インビボでのその残存性を延長させることによって改善する方法を記載する。これは、CARをTRAC遺伝子座に、およびNK阻害物質をB2M遺伝子座に送達するAAV6修復ベクターの存在下での、B2MおよびTCRの同時TALEN（登録商標）媒介性ノックアウトにある。本方法は、CAR T細胞が、非特異的かつTCR媒介性の様式で宿主組織を攻撃すること（移植片対宿主攻撃）、ならびにCAR T細胞の宿主T細胞およびNK細胞媒介性枯渴を転用することを阻止する。

30

【 0 3 2 0 】

NK阻害物質をB2m遺伝子座に組み込むように開発された方法は、AAV6によってベクター化されたDNA修復マトリックスの存在下で、TALEN（登録商標）を用いて第1のB2Mエクソンのうちの1つに二本鎖切断を生成することにあつた。このマトリックスは、2Aシス作用性エレメントおよび調節エレメント（終止コドンおよびポリA配列）によって分離されるNK阻害物質コード配列を埋め込む2個のB2M相同性アームからなる。CAR T細胞の表面でのB2Mの発現は、同種異系設定における移入の場合にそれらの枯渴を促進する可能性が高いため、修復マトリックスの挿入を、B2Mを不活性化し、NK阻害物質の発現を促進するように設計した。

40

【 0 3 2 1 】

このアプローチを例証し、初代T細胞における二重標的指向挿入の実現可能性を実証するために、2種類の異なるマトリックスを設計した（図19）。CARmと名づけられた第1のもの（SEQ ID NO 31）は、TRAC TALEN（登録商標）（SEQ ID NO 16および17）の存在下で、TRAC遺伝子座に抗CD22 CAR cDNAを挿入するように設計した。第2のものであるHLAEmは、2種類のバリエーション（SEQ ID NO 69および71）の下で、B2M TALEN（登録商標）（SEQ ID NO 80および81または82および83）それぞれ右二

50

量体および左二量体)を用いて、B2M、HLAE、およびHLA Gペプチド部分の融合物からなる一本鎖タンパク質をB2Mオープンリーディングフレームの中央に組み込むように設計した。2種類のマトリックスは、一本鎖B2M-HLAE-HLAGペプチドおよびCARと、標的とされる内在性遺伝子との同時発現を可能にする、発現カセットの上流に位置する追加的な2Aシス作用性エレメントを含有していた。ポリヌクレオチドおよびポリペプチド配列は表5に列挙される。

【0322】

本発明者らは、T細胞における二重標的指向挿入の効率を、TRACおよびB2M TALEN (登録商標)をそれらにトランスフェクトすること、およびその後、抗CD22 CARおよび一本鎖B2M-HLAE-HLAGペプチドをコードするAAV6修復マトリックスをそれらに形質導入することによって、評価した。そのような処理は、88%超のTCRおよびHLA-ABC二重ロックアウト、二重ロックアウト集団の中で約68%の抗CD22 CARの発現、および二重ロックアウトCAR発現T細胞の中で約68%のHLAE発現をもたらした。全体的に、本方法は、約40%のTCR/HLA-ABC陰性、CAR/HLAE陽性T細胞を生成することができた(図21)。

【0323】

これらの操作された細胞を、NK細胞およびアロ反応性T細胞の攻撃に対するその耐性についてアッセイすることができる。同じ操作アプローチを、HLAE以外のNK阻害物質を有するTCR/HLA-ABC陰性、CAR陽性T細胞を生成し、NK細胞攻撃に対して耐性を示すその能力を評価するために用いることができる。そのような評価を、図18に示されるような様々なNK細胞阻害物質を有するTCR/HLA-ABC陰性、CAR陽性T細胞の収集物について行うことができる。このアプローチは、例として、TRACおよびB2M TALEN (登録商標)をT細胞にトランスフェクトすること、およびその後、抗CD22 CARなどのCARをコードするAAV6修復マトリックス、および以下の様々なNK阻害物質をコードする修復マトリックスのライブラリー(または収集物)をそれらに形質導入することにある：

B2m遺伝子座に挿入され得る、VMAPRTLFLペプチドを含むHLAE三量体マトリックス (SEQ ID NO.68) (SEQ ID NO.69)、

B2m遺伝子座に挿入され得る、VMAPRTLILペプチドを含むHLAE三量体マトリックス (SEQ ID NO.70) (SEQ ID NO.71)、

B2m遺伝子座に挿入され得る、UL18三量体マトリックス_Actineペプチド (SEQ ID NO.72) (SEQ ID NO.73)、

B2m遺伝子座に挿入され得る、UL18三量体マトリックス_HLACwペプチド (SEQ ID NO.74) (SEQ ID NO.75)、

B2m遺伝子座に挿入され得る、UL18三量体マトリックス_HLAG (SEQ ID NO.76) (SEQ ID NO.77)。

【0324】

三量体はまた、これらの三量体を形成するために用いることができるHLA Gペプチド、例えば以下のものから選択される1つを含むこともできる。

HLA G1 (SEQ ID NO.84)

HLA G2 (SEQ ID NO.85)

HLA G3 (SEQ ID NO.86)

HLA G4 (SEQ ID NO.87)

HLA G5 (SEQ ID NO.88)

HLA G6 (SEQ ID NO.89)

HLA G7 (SEQ ID NO.90)

【0325】

HLAEまたはHLA G三量体はまた、以下のもの(非限定的な例)から選択される(図20において示されるような)Gペプチドを含むこともできる。

ペプチド1 VMAPRTLIL

- ペプチド2 VMAPRTLIL
- ペプチド3 VMAPRTLVL
- ペプチド4 AMAPRTLIL
- ペプチド5 VMAPRSLIL
- ペプチド6 VMAPRSLLL
- ペプチド7 VMAPRTLFL
- ペプチド8 VMAPRILIL
- ペプチド9 YLLPRRGPRL
- ペプチド10 ALPHAILRL

【0326】

10

NK細胞攻撃に対する耐性を担うNK阻害物質を特定するために、結果として生じたTCR陰性、CARおよびNK阻害物質陽性T細胞のライブラリーを、NK細胞の存在下で培養して、残った生細胞を回収し、ハイスループットDNA配列によって解析することができる。

【0327】

(表6) T細胞活性化に応答性の好ましいヒト内在性遺伝子座

20

30

40

50

記号	説明	12時間の誘導率	T.8Nve.Sp.OT1	T.8Eff.Sp.OT1. 12hr.LisOva	T.8Eff.Sp.OT1. 48hr.LisOva	T.8Eff.Sp.OT1. d6.LisOva
Ii3	インターロイキン 21	16,4	12,8	208,9	18,4	13,6
Ii2	インターロイキン 3	97,0	16,0	1554,4	17,7	18,1
Ccl4	インペンテニルニリン酸Δインメラゼ2	2,1	16,8	35,6	17,6	19,7
Ii21	グランザイムC	9,2	17,4	160,5	20,4	24,9
Gp49a	ケモカイン (0-0-モチーフ) 受容体8	5,9	18,5	108,4	31,5	20,9
Cxcl10	インターロイキン 2	58,4	21,1	1229,6	32,7	17,9
Nr4a3	インターロイキン1受容体、I型	2,6	21,2	54,6	35,5	21,7
Lilrb4	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリー、メンバー4	4,1	21,8	88,8	29,3	20,0
Cd200	神経カルシウムセンサー1	4,5	24,1	109,6	46,3	23,2
Cdkn1a	CDK5およびAb1酵素基質1	3,1	26,2	80,9	49,1	32,8
Gzmc	膜貫通およびテトラトトリコペプチドリペー 含有2	2,0	26,8	53,9	26,2	29,4
Nr4a2	LONペプチダーゼN末端ドメインおよび リングフインガー1	3,2	28,4	90,4	50,4	28,3
Cish	糖タンパク質49A	15,0	31,6	472,4	30,6	212,5
Nr4a1	polo様キナーゼ2	3,6	31,7	114,3	39,0	32,5
Tnf	リパーゼ、内皮	2,1	32,4	66,7	35,9	33,3
Ccr8	サイクリン依存性キナーゼ阻害因子IA (P21)	9,7	34,6	335,4	54,4	71,0
Lad1	rainyhead様1 (シヨウジョウハエ (Drosophila))	2,1	35,1	73,4	52,0	44,1
Slamf1	細胞レチノイン酸結合タンパク質II	5,3	35,4	187,2	43,3	36,3
Crabp2	アデニル酸キナーゼ4	2,2	35,9	80,4	58,5	39,8
Furin	微小管結合タンパク質1B	2,1	36,2	77,7	36,4	38,4
Gadd45g	アシルCoAシンターゼ長鎖ファミリー メンバー6	2,0	37,2	76,0	45,2	41,3

10

20

30

40

50

Bcl2l1	ZnフィンガーEボックス結合ホモボックス2	2,1	38,6	80,7	44,9	455,4
Ncs1	CD200抗原	9,8	41,2	404,3	70,4	36,8
Ciart	カルボキシペプチダーゼD	3,1	41,6	127,7	71,4	71,6
Ahr	チオレドキシニンレダクターゼ3	3,6	43,4	157,8	61,7	28,8
Spry1	ミオシンIE	2,3	43,6	100,2	61,3	77,0
Tnfrsf4	複数のスプライシングを伴うRNA結合タンパク質2	2,1	43,6	91,5	49,8	36,5
Myo10	マイトジェン活性化タンパク質キナーゼ	2,9	44,8	127,9	66,4	43,1
Dusp5	キナーゼ3、反対の鎖	2,8	44,9	127,2	78,4	72,4
Myc	PERP、TP53アポトーシスエフェクター	4,1	45,5	184,9	81,6	57,5
Psyc1	ミオシンX	2,7	45,6	121,6	63,9	66,2
St6galnac4	最初期応答3	2,6	47,5	124,2	87,4	96,6
Nfkbid	folliculin相互作用タンパク質2	9,9	48,9	483,3	64,5	179,1
Bst2	白血球免疫グロブリン様受容体、サブ転写の概日関連リプレッサー	4,5	50,6	225,5	100,3	33,8
Txnrd3	RAR関連オーファン受容体γ	2,1	51,7	106,7	47,5	52,8
Plk2	プロリン/セリンリッチコイルドコイル1	3,9	52,9	205,9	92,3	79,6
Gfi1	システインリッチタンパク質2	2,4	54,2	127,7	90,3	182,9
Pim1	cAMP応答エレメントモジュレーター	2,0	55,7	112,6	54,4	57,3
Pvt1	ケモカイン (C-Cモチーフ) リガンド4	20,2	55,8	1125,8	103,1	89,0
Nfkbib	核内受容体サブファミリー4、グループA、メンバー2	7,8	58,5	457,6	78,7	72,0
Gnl2	トランスグルタミナーゼ2、Cポリペプチド	2,3	58,7	132,1	69,8	64,7
Cd69	シナプス欠損1、Rho GTPアーゼ、ホモログ2 (線虫 (C. elegans))	2,1	62,5	132,7	111,3	31,0
Dgat2	sproutyホモログ1 (シウジョウバエ)	4,2	63,8	268,5	76,8	61,4
Atf3	活性化転写因子3	3,2	65,8	210,3	88,3	75,8
Tnfrsf21	KRABドメインを有するpogo転位因子	2,9	68,6	196,9	91,1	293,2
Lonrf1	腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリー、メンバー21	3,2	70,6	224,5	126,5	72,9

10

20

30

40

50

Cables1	サイトカイン誘導性SH2含有タンパク質	7,5	74,3	558,7	82,5	133,9
Cpd	リンホトキシンA	2,6	74,6	197,2	93,4	58,6
Qrrtd1	FBJ骨肉腫オンコジーン	3,0	74,9	224,1	89,0	61,1
Polr3d	シグナル伝達リンハ球活性化分子ファミリーメンバー1	5,4	75,6	412,0	108,4	190,4
Kcnq5	シンデカン3	2,4	76,0	180,0	77,2	85,3
Fos	ミトコンドリアリポソームタンパク質L47	2,1	77,2	161,7	152,0	72,3
Slc19a2	Iadimin	5,5	77,3	423,2	152,5	70,4
Hif1a	E2F転写因子5	2,5	77,7	198,0	92,0	65,2
Il15ra	ISG15ユビキチン様修飾因子	2,8	77,9	221,0	88,9	45,1
Nfkb1	芳香族炭化水素受容体	4,2	78,7	333,2	145,7	91,4
Phlda3	ジアシルグリセロール-アシルトランスフェラーゼ2	3,2	81,0	259,2	150,0	84,4
Mttr	FBJ骨肉腫オンコジーンB	2,0	81,3	163,7	139,3	98,5
Pogk	プレクストリン相同様ドメイン、ファミリーA、メンバー3	2,9	84,8	244,5	126,9	83,8
Map2k3os	カリウム電位依存性チャネル、サブファミリー0、メンバー5	3,0	86,3	261,0	118,1	63,4
Egr2	腫瘍死因子受容体スーパーファミリー、メンバー10b	2,5	88,6	219,0	106,1	51,0
Isg15	Mir17宿主遺伝子1 (非タンパク質コーディング)	2,1	90,4	190,1	120,0	51,2
Perp	グルコース-フルクトースオキシドレダクターゼドメイン含有1	2,2	92,9	208,5	168,7	237,4
Ipo4	プレキシンA1	2,1	94,8	200,7	118,0	90,3
Mphosph10	熱ショック因子2	2,4	96,8	233,2	191,0	104,8
Plk3	炭水化物スルホトランスフェラーゼ11 成長停止およびDNA損傷誘導性45γ	2,4	96,8	235,1	180,8	385,7
Ifitm3		4,8	104,6	504,8	109,3	95,0
Polr1b	溶質キャリアファミリー5 (ナトリウム依存性ピタミン輸送体)、メンバー6	2,1	107,0	227,3	192,8	75,8
Usp18	インターフェロン誘導性膜貫通タンパク質3	2,8	109,2	302,6	43,9	106,4

10

20

30

40

50

Top1mt	DENN/MADDドメイン含有 5A	2,6	109,5	279,9	102,0	517,4
Dkc1	プラスミノーゲンアクチベーター-ウロキナーゼ受容体	2,1	112,4	234,8	55,7	57,3
Polr1c	溶質キャリアリアファミリン-19 (チアミン輸送体)、メンバー2	3,0	115,4	343,1	221,7	138,4
Cdk6	ユビキチンドメイン含有2	2,2	117,4	255,7	198,9	122,2
Ier3	核内受容体サブファミリン-4、グループA、メンバー3	11,8	118,0	1394,1	114,2	69,6
Lta	Znフィンガンタータンパク質52	2,5	118,8	295,6	160,9	167,4
Ptprs	SH3ドメイン含有リングフィンガンター1	2,4	119,3	280,9	116,5	156,5
Frip2	ジヒドロウリジンシンターゼ2	2,1	122,7	260,3	237,7	202,8
Asna1	サイクリン依存性キナーゼ5、調節サブユニット1 (p85)	2,1	122,7	259,3	168,4	124,0
Mybbp1a	前駆体のプロセシング7、リボヌクレアーゼPファミリン、(出芽酵母 (S. cerevisiae))	2,1	125,9	264,9	235,7	150,6
Il1r1	成長因子非依存性1	3,5	126,8	437,7	212,0	156,6
Dennd5a	インターロイキン15受容体、α鎖	2,9	130,9	380,1	144,3	167,8
E2f5	BCL2様1	4,7	133,7	627,4	257,4	231,2
Rcl1	タンパク質チロシンホスファターゼ、受容体型、S	2,6	136,6	358,8	157,5	125,0
Fosl2	形質細胞腫バリアント転座1	3,4	136,7	465,5	179,8	140,7
Atad3a	fos様抗原2	2,5	137,0	347,5	107,2	177,8
Bax	BCL2結合Xタンパク質	2,5	138,0	347,3	260,1	150,2
Phf6	溶質キャリアリアファミリン-4、炭酸水素ナトリウム共輸送体、メンバー7	2,3	140,3	328,2	258,7	397,5
Zfp52	腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリン、メンバー4	2,2	141,7	311,1	161,7	111,6
Crtam	ケモカイン (C-X-Cモチーフ) リガンド10	12,7	141,7	1798,3	242,1	59,4
Nop14	polo様キナーゼ3	2,8	144,8	406,3	200,1	119,9
Rel	CD3E抗原、εポリペプチド結合タンパク質	2,2	158,7	350,2	260,9	111,4
Gramd1b	腫瘍壊死因子 (リガンド) スーパーファミリン、メンバー11	2,1	162,4	342,1	242,1	169,7

10

20

30

40

50

Trim30d	キューインtRNA-リボシルトランスフェラーゼ ドメイン含有1	3,0	260,3	788,7	358,0	75,5
Ddx27	ユビキチン特異的ペプチダーゼ31	2,0	265,2	533,2	277,1	176,2
Pwp2	真核生物翻訳開始因子2- α キナーゼ2	2,0	267,7	540,5	260,8	244,8
Chchd2	ATPアーゼファミリー、AAAドメイン含有3A 接着分子、CXADR抗原1と相互作用	2,5	268,8	679,7	523,1	147,1
Myo1e		2,3	269,5	610,9	272,9	182,8
Eif5b	SUMO/セントリン特異的ペプチダーゼ3	2,0	272,5	548,7	544,5	298,4
Stat5a	ESF1、核小体プレRNAプロセシングタンパク質、 ホモログ (出芽酵母)	2,2	276,3	610,4	482,2	266,5
Cops6	デオキシヌクレオチジルトランスフェラーゼ、 末端、相互作用タンパク質2	2,1	282,9	600,4	359,9	326,1
D19Bwg1357e	TGF β 誘導性因子ホモオボックス1	2,1	300,5	618,9	217,5	210,6
Aatf	真核生物翻訳開始因子1A	2,5	300,8	738,7	597,7	262,8
Aen	インターフェロン刺激タンパク質	2,1	305,7	651,2	144,3	138,4
Amica1	多形性腺腫遺伝子様2	2,1	311,5	651,9	376,2	405,9
Wdr43	PIP2周期性トリプトファンタンパク質ホモログ (酵母)	2,3	321,8	743,3	586,5	189,3
Cct4	フェーリン (ペアード塩基性アミノ酸切断酵素)	5,2	329,7	1728,3	271,7	421,5
Nifk	腫瘍壊死因子	6,6	330,7	2188,4	489,9	213,3
Tgm2	アポトシスアングトナイズ転写因子	2,3	331,4	754,8	523,1	221,5
Ero1l	インターフェロン、 α 誘導性タンパク質27様2A	2,5	334,0	828,1	296,0	221,4
Gfod1	ST6 (α -N-アセチル-ノイラミニル-2,3- β - ガラクトシル-1,3-)-N-アセチルガラクト サミド α -2,6-シアリルトランスフェラーゼ4	3,9	338,4	1311,3	636,0	298,2
Ak4	メチルトランスフェラーゼ様1	2,2	339,4	744,7	662,8	94,5
Sdad1	notchlessホモログ1 (ショウジョウバエ)	2,0	339,4	690,3	610,3	158,1
Dimt1	ミトコンドリアリボソームタンパク質L3	2,1	340,0	725,5	651,4	359,8
Esf1	UBXドメインタンパク質2A	2,1	343,8	732,9	532,1	428,5

10

20

30

40

50

Cd3eap	グアニンヌクレオチド結合タンパク質様2 (核小体)	3,2	347,6	1124,7	647,4	227,5
Samsn1	プログラム細胞死11	2,0	353,9	711,8	435,9	287,4
Tnfrsf4	サイクリン依存性キナーゼ8	2,0	364,0	731,1	702,5	346,2
Mettl1	真核生物翻訳開始因子5B	2,3	365,1	838,2	544,5	355,5
Cd274	RNA末端リン酸シクラーゼ様1	2,5	373,3	948,8	746,4	155,8
Ubtbd2	NSFL1 (p97) 補因子 (p47)	2,3	374,1	876,1	725,9	369,7
Icos	B細胞におけるκ軽ポリペプチド遺伝子エン ハンサーの核因子阻害因子、δ	3,9	378,5	1465,1	389,9	224,0
Kdm2b	M期ホスホタンパク質10 (U3核小体リボ核 タンパク質)	2,8	379,8	1069,3	738,4	290,8
Larp4	GRAMドメイン含有1B	2,5	382,7	949,6	363,4	659,2
Eif3d	ER01様 (出芽酵母)	2,2	387,7	872,3	773,0	520,9
Tnfaip3	核内受容体サブファミリー4、グループA、 メンバ-1	6,8	387,8	2639,0	343,7	220,7
Map1b	surfeit遺伝子2	2,1	399,8	852,2	696,3	204,0
Cdv3	N(α)-アセチルトランスフェラーゼ25、 NatB補助サブユニット	2,1	405,7	847,3	669,5	194,1
Plac8	yrdCドメイン含有 (大腸菌 (E. coli))	2,0	406,7	830,8	635,3	267,0
Mrpl3	Laリボ核タンパク質ドメインファミリー、 メンバ-4	2,2	408,8	887,9	586,6	358,3
Surf2	SDA1ドメイン含有1	2,2	419,8	939,9	631,4	284,7
Ubxn2a	インポーチン4	2,8	420,3	1183,6	777,8	173,5
Utp18	誘導性T細胞共刺激因子	2,2	423,9	920,9	818,8	796,9
Isg20	溶質キャリアファミリー7 (カチオン性アミノ 酸輸送体、y+システム)、メンバ-1	2,1	439,4	934,4	842,6	344,6
Dnajc2	arsA亜ヒ酸輸送体、ATP結合、ホモログ1 (細菌)					
Jak2	ポリメラゼ (RNA) IポリペプチドC	2,6	446,6	1165,0	717,9	963,9
Slc7a1	精子形成関連5	2,7	447,8	1208,4	854,0	295,9
Syde2	ユビキチン特異的ペプチダーゼ18	2,0	450,8	920,2	516,0	361,6
		2,7	451,8	1240,5	296,0	250,7

10

20

30

40

50

Metap1	noda モジュレーター1	2,1	563,0	1161,0	988,9	439,8
Alg3	NOP14核小体タンパク質	2,5	570,9	1418,9	925,3	398,0
Mrpl15	リボソームタンパク質L7様1	2,5	586,7	1448,7	1030,2	687,2
Oas1	メチオニルアミノペプチダーゼ1	2,1	597,5	1244,1	1139,3	433,4
Rorc	低酸素誘導性因子1、 α サブユニット	3,0	624,2	1854,6	809,4	838,4
Nomo1	Janusキナーゼ2	2,1	624,5	1328,7	390,6	917,8
Tgif1	B細胞における κ 軽ポリペプチド遺伝子エンハンサーの核因子1、p105	2,9	661,5	1913,3	713,9	720,5
Lipg	細網内皮症オンコジーン	2,5	678,9	1686,4	409,8	580,5
Rrn3	セプチン2	2,1	687,3	1436,0	1354,1	1181,3
Dnajc21	MKI67のFHAドメインと相互作用する核小体タンパク質	2,3	733,4	1658,2	1280,0	407,2
Yrdc	伸長因子Tu GTP結合ドメイン含有2	2,0	739,3	1483,5	1439,0	904,3
Acsf6	骨髄細胞腫症オンコジーン	4,0	761,0	3022,8	1064,0	211,5
Spata5	先天性角化異常症1、dyskerin	2,7	778,2	2112,0	1549,5	484,2
Urb2	室において発現されるカルニチン欠乏関連遺伝子3	2,1	801,6	1718,2	1274,7	1010,3
Nle1	GTP結合タンパク質4	2,4	824,2	1942,6	1578,7	567,3
Wars	HEATリピート含有1	2,4	830,3	2020,6	1235,5	495,4
Crem	プロテアソーム(プロソーム、マクロバイン)アクチベーターサブユニット3 (PA28 γ , Ki)	2,1	838,4	1763,5	1471,1	936,1
Larp1	Laリボ核タンパク質ドメインファミリー、メンバール	2,0	861,7	1742,1	1250,9	854,3
Eif2ak2	DNAセグメント、Chr 19、Brigham & Women's Genetics 1357発現	2,3	868,6	1978,4	1218,0	653,4
Hyou1	真核生物翻訳開始因子3、サブユニットD	2,2	909,1	1971,6	1641,9	920,6
Senp3	TSR1 20S rRNA蓋積	2,1	913,9	1915,9	1474,6	477,2
Tmtc2	MYB結合タンパク質 (P160) 1a	2,6	1140,0	2962,9	2200,7	459,8
Fosb	T細胞活性化Rho GTPアーゼ活性化タンパク質	2,4	1176,7	2794,4	489,3	704,2

10

20

30

40

50

Pcd11	RAB8B、RASオンコジーンファミリーメンバー	2,1	1189,5	2492,2	1671,3	2512,5
Usp31	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) ボックスポリペプチド21	2,4	1210,2	2928,0	2221,1	1098,2
Cdk8	シヤベロニン含有Top1、サブユニット4 (6)	2,3	1321,4	2989,7	2462,5	1294,8
Eftud2	コイルドコイル-ヘリックス-コイルドコイル-ヘリックスドメイン含有2	2,3	1374,2	3171,2	2636,9	1008,9
Fam60a	WDリピートドメイン43	2,3	1727,6	3912,6	2927,5	1014,9

10

20

30

40

【 0 3 2 8 】

(表7) 免疫細胞活性化の間に常に活性を有している (T細胞活性化に依存的または非依存的である) 好ましい内在性遺伝子の選択

50

記号	遺伝子の説明
CD3G	CD3 γ
Rn28s1	28S リボソーム RNA
Rn18s	18S リボソーム RNA
Rn7sk	RNA, 7SK, 核内
Actg1	アクチン、 γ 、細胞質内1
B2m	β -2ミクログロブリン
Rpl18a	リボソームタンパク質 L18A
Pabpc1	ポリ(A)結合タンパク質、細胞質内1
Gapdh	グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ
Rpl19	リボソームタンパク質 L19
Rpl17	リボソームタンパク質 L17
Rplp0	リボソームタンパク質、大、P0
Cfl1	コフィリン1、非筋肉
Pfn1	プロフィリン1

10

20

30

【 0 3 2 9 】

(表8) T細胞活性化時に一過性に上方制御される遺伝子の選択

40

50

記号	遺伝子の説明
Il3	インターロイキン 3
Il2	インターロイキン 2
Ccl4	ケモカイン (C-Cモチーフ) リガンド4
Il21	インターロイキン 21
Gp49a	糖タンパク質 49 A
Nr4a3	核内受容体サブファミリー4、グループA、メンバー3
Lilrb4	白血球免疫グロブリン様受容体、サブファミリーB、メンバー4
Cd200	CD200 抗原
Cdkn1a	サイクリン依存性キナーゼ阻害因子1A (P21)
Gzmc	グランザイム C
Nr4a2	核内受容体サブファミリー4、グループA、メンバー2
Cish	サイトカイン誘導性SH2含有タンパク質
Ccr8	ケモカイン (C-Cモチーフ) 受容体8
Lad1	ladinin
Crabp2	細胞レチノイン酸結合タンパク質II

10

20

30

【 0 3 3 0 】

(表9) T細胞活性化時に24時間超にわたって上方制御される遺伝子の選択

40

50

記号	説明
Gzmb	グランザイム B
Tbx21	T-ボックス 21
Pdcd1	プログラム細胞死1
Plek	プレクストリン
Chek1	チェックポイントキナーゼ1
Slamf7	SLAM ファミリーメンバー7
Zbtb32	ZnフィンガーおよびBTBドメイン含有32
Tigit	IgおよびITIMドメインを有するT細胞免疫受容体
Lag3	リンパ球活性化遺伝子3
Gzma	グランザイム A
Wee1	WEE 1 ホモログ1 (分裂酵母 (S. pombe))
Il12rb2	インターロイキン12受容体、 β 2
Ccr5	ケモカイン (C-Cモチーフ) 受容体5
Eea1	初期エンドソーム抗原1
Dtl	denticleless ホモログ (ショウジョウバエ)

10

20

30

40

50

【 0 3 3 1 】

(表 1 0) 免疫細胞活性化時に下方制御される遺伝子の選択

記号	遺伝子の説明	
Spata6	精子形成関連6	
Itga6	インテグリン α 6	
Rcbtb2	染色体凝縮の調節因子 (RCC1) およびBTB (POZ) ドメイン含有タンパク質2	
Cd1d1	CD1d1 抗原	
St8sia4	ST8 α -N-アセチル-ノイラミニド α -2,8-シアルル トランスフェラーゼ4	10
Itgae	インテグリン α E、上皮結合型	
Fam214a	配列類似性を有するファミリー214、メンバーA	
Slc6a19	溶質キャリアファミリー6 (神経伝達物質輸送体)、 メンバー19	
Cd55	CD55 抗原	
Xkrx	X Kell式血液型前駆体関連X連鎖	
Mturn	maturin、神経前駆細胞分化調節因子ホモログ (アフリカ ツメガエル (Xenopus))	20
H2-Ob	組織適合性2、0領域 β 遺伝子座	
Cnr2	カンナビノイド受容体2 (マクロファージ)	
Itgae	インテグリン α E、上皮結合型	
Raver2	リボ核タンパク質、PTB結合2	
Zbtb20	ZnフィンガーおよびBTBドメイン含有20	30
Arrb1	アレスチン、 β 1	
Abca1	ATP結合カセット、サブファミリーA (ABC1)、メンバー1	
Tet1	tetメチルシトシンジオキシゲナーゼ1	
Slc16a5	溶質キャリアファミリー16 (モノカルボン酸輸送体)、 メンバー5	
Trav14-1	T細胞受容体 α 可変14-1	
Ampd3	アデノシン-リン酸デアミナーゼ3	40

【 0 3 3 2 】

(表 1 1) T細胞活性化時に無変化であるヒト遺伝子 (安全港遺伝子標的指向組込み遺伝子座) の選択

記号	遺伝子の説明
Zfp640	Znフィンガータンパク質640
LOC100038422	特徴決定されていないLOC100038422
Zfp600	Znフィンガータンパク質600
Serpinb3a	セリン(またはシステイン)ペプチダーゼ阻害因子、クレードB(オボアルブミン)、メンバー3A
Tas2r106	味覚受容体、2型、メンバー106
Magea3	黒色腫抗原、ファミリーA、3
Omt2a	卵成熟、 α
Cpxcr1	CPX 染色体領域、候補1
Hsf3	熱ショック転写因子3
Pbsn	プロバシン
Sbp	スペルミン結合タンパク質
Wfdc6b	WAP 4-ジスルフィドコアダメイン6B
Meiob	OBドメインを有する減数分裂特異的
Dnm3os	ダイナミン3、反対の鎖
Skint11	上皮内T細胞の選択および維持11

10

20

30

【 0 3 3 3 】

(表12) 本発明の通りの外来性コード配列の遺伝子組込みに有用な、(複数の腫瘍から集計された)腫瘍消耗浸潤リンパ球において上方制御される遺伝子座のリスト

40

50

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

10

20

30

【 0 3 3 4 】

(表 1 3) 本発明の通りの外来性コード配列の遺伝子組込みに有用な、低酸素腫瘍状態において上方制御される遺伝子座のリスト

40

50

<u>遺伝子名</u>	<u>戦略</u>	
<u>CTLA-4</u>	<u>KO/KI</u>	低酸素曝露およびT細胞消耗時にT細胞において上方制御されることが示されている標的
<u>LAG-3 (CD223)</u>	<u>KO/KI</u>	
<u>PD1</u>	<u>KO/KI</u>	
<u>4-1BB (CD137)</u>	<u>KI</u>	
<u>GITR</u>	<u>KI</u>	
<u>OX40</u>	<u>KI</u>	
<u>IL10</u>	<u>KO/KI</u>	
<u>ABCB1</u>	<u>KI</u>	
<u>ABCG2</u>	<u>KI</u>	
<u>ADM</u>	<u>KI</u>	
<u>ADRA1B</u>	<u>KI</u>	
<u>AK3</u>	<u>KI</u>	
<u>ALDOA</u>	<u>KI</u>	
<u>BHLHB2</u>	<u>KI</u>	
<u>BHLHB3</u>	<u>KI</u>	
<u>BNIP3</u>	<u>KI</u>	
<u>BNIP3L</u>	<u>KI</u>	
<u>CA9</u>	<u>KI</u>	
<u>CCNG2</u>	<u>KI</u>	
<u>CD99</u>	<u>KI</u>	
<u>CDKN1A</u>	<u>KI</u>	
<u>CITED2</u>	<u>KI</u>	
<u>COL5A1</u>	<u>KI</u>	
<u>CP</u>	<u>KI</u>	

10

20

30

40

50

<u>CTGF</u>	<u>KI</u>		
<u>CTSD</u>	<u>KI</u>		
<u>CXCL12</u>	<u>KI</u>		
<u>CXCR4</u>	<u>KI</u>		
<u>CYP2S1</u>	<u>KI</u>		
<u>DDIT4</u>	<u>KI</u>		
<u>DEC1</u>	<u>KI</u>		10
<u>EDN1</u>	<u>KI</u>		
<u>EGLN1</u>	<u>KI</u>		
<u>EGLN3</u>	<u>KI</u>		
<u>ENG</u>	<u>KI</u>		
<u>ENO1</u>	<u>KI</u>		
<u>EPO</u>	<u>KI</u>		
<u>ETS1</u>	<u>KI</u>		20
<u>FECH</u>	<u>KI</u>		
<u>FN1</u>	<u>KI</u>		
<u>FURIN</u>	<u>KI</u>		
<u>GAPDH</u>	<u>KI</u>		
<u>GPI</u>	<u>KI</u>		
<u>GPX3</u>	<u>KI</u>		
<u>HK1</u>	<u>KI</u>		
<u>HK2</u>	<u>KI</u>		30
<u>HMOX1</u>	<u>KI</u>		
<u>HSP90B1</u>	<u>KI</u>		
<u>ID2</u>	<u>KI</u>		
<u>IGF2</u>	<u>KI</u>		
<u>IGFBP1</u>	<u>KI</u>		
<u>IGFBP2</u>	<u>KI</u>		
<u>IGFBP3</u>	<u>KI</u>		40

<u>ITGB2</u>	<u>KI</u>		
<u>KRT14</u>	<u>KI</u>		
<u>KRT18</u>	<u>KI</u>		
<u>KRT19</u>	<u>KI</u>		
<u>LDHA</u>	<u>KI</u>		
<u>LEP</u>	<u>KI</u>		
<u>LOX</u>	<u>KI</u>		10
<u>LRP1</u>	<u>KI</u>		
<u>MCL1</u>	<u>KI</u>		
<u>MET</u>	<u>KI</u>		
<u>MMP14</u>	<u>KI</u>		
<u>MMP2</u>	<u>KI</u>		
<u>MXI1</u>	<u>KI</u>		
<u>NOS2A</u>	<u>KI</u>		20
<u>NOS3</u>	<u>KI</u>		
<u>NPM1</u>	<u>KI</u>		
<u>NR4A1</u>	<u>KI</u>		
<u>NT5E</u>	<u>KI</u>		
<u>PDGFA</u>	<u>KI</u>		
<u>PDK1</u>	<u>KI</u>		
<u>PFKFB3</u>	<u>KI</u>		
<u>PFKL</u>	<u>KI</u>		30
<u>PGK1</u>	<u>KI</u>		
<u>PH-4</u>	<u>KI</u>		
<u>PKM2</u>	<u>KI</u>		
<u>PLAUR</u>	<u>KI</u>		
<u>PMAIP1</u>	<u>KI</u>		
<u>PPP5C</u>	<u>KI</u>		
<u>PROK1</u>	<u>KI</u>		40

<u>SERPINE1</u>	<u>KI</u>		
<u>SLC2A1</u>	<u>KI</u>		
<u>TERT</u>	<u>KI</u>		
<u>TF</u>	<u>KI</u>		
<u>TFF3</u>	<u>KI</u>		
<u>TFRC</u>	<u>KI</u>		
<u>TGFA</u>	<u>KI</u>		10
<u>TGFB3</u>	<u>KI</u>		
<u>TGM2</u>	<u>KI</u>		
<u>TPI1</u>	<u>KI</u>		
<u>VEGFA</u>	<u>KI</u>		
<u>VIM</u>	<u>KI</u>		
<u>TMEM45A</u>	<u>KI</u>		
<u>AKAP12</u>	<u>KI</u>		20
<u>SEC24A</u>	<u>KI</u>		
<u>ANKRD37</u>	<u>KI</u>		
<u>RSBN1</u>	<u>KI</u>		
<u>GOPC</u>	<u>KI</u>		
<u>SAMD12</u>	<u>KI</u>		
<u>CRKL</u>	<u>KI</u>		
<u>EDEM3</u>	<u>KI</u>		
<u>TRIM9</u>	<u>KI</u>		30
<u>GOSR2</u>	<u>KI</u>		
<u>MIF</u>	<u>KI</u>		
<u>ASPH</u>	<u>KI</u>		
<u>WDR33</u>	<u>KI</u>		
<u>DHX40</u>	<u>KI</u>		
<u>KLF10</u>	<u>KI</u>		
<u>R3HDM1</u>	<u>KI</u>		40

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

10

20

30

【 0 3 3 5 】

配列情報

SEQUENCE LISTING

110 Cellectis
120 TARGETED GENE INTEGRATION OF NK INHIBITORS GENES FOR IM
PROVED IMMUNE CELLS THERAPY
150 EP PCT/EP2017/076798
151 2017-10-19
150 EP PCT/EP2018/053343
151 2018-02-09
160 90
170 PatentIn version 3.5
210 1

40

50

211 1000
 212 DNA
 213 artificial sequence
 220
 223 PD1 left homology
 400 1

ccaagccctg accctggcag gcatatgttt caggagggtc ttgtcttggg agcccagggt 60
 cggggggcccc gtgtctgtcc acatccgagt caatggccca tctcgtctct gaagcatctt 120
 tgctgtgagc tctagtcccc actgtcttgc tggaaaatgt ggaggcccca ctgcccactg 180
 ccagaggcag caatgcccac accacgtggg ccagctccg agcttgtcct gaaaaggggg 240 10
 caaagactgg accctgagcc tgccaagggg ccacactcct ccagagggtg gggcttccat 300
 gggcagcccc ccaccacccc agaccagtta cactcccctg tgccagagca gtgcagacag 360
 gaccaggcca ggatgcccac gggtcagggg ctggggatgg gtagcccca aacagccctt 420
 tctgggggaa ctggcctcaa cggggaaggg ggtgaaggct cttagtagga aatcaggagg 480
 acccaagtca gagccagggt ctgtgcagaa gctgcagcct cacgtagaag gaagaggctc 540
 tgcagtggag gccagtgcc atccccgggt ggcagaggcc ccagcagaga cttctcaatg 600
 acattccagc tgggggtggcc cttccagagc ctttgcctg ccaggggatgt gagcagggtg 660
 ccggggaggc tttgtggggc caccagccc cttcctcacc tctctccatc tctcagactc 720
 ccagacagc ccttgaacc cccccacct ctcccagcc ctgctcgtgg tgaccgaagg 780
 ggacaacgcc accttcacct gcagcttctc caacacatcg gagagcttcg tgctaaactg 840 20
 gtaccgcatg agccccagca accagacgga caagctggcc gccttcccc aggaccgag 900
 ccagcccggc caggactgcc gcttccgtgt cacacaactg cccaacgggc gtgacttcca 960
 catgagcgtg gtcagggccc ggcgcaatga cagcggcacc 1000

210 2
 211 1000
 212 DNA
 213 artificial sequence
 220
 223 PD1 right homology
 400 2

gcctgcgggc agagctcagg gtgacagggt cggcctcggg ggccccgggg caggggtgag 60
 ctgagccggt cctgggggtg gtgtcccctc ctgcacagga tcaggagctc cagggctcgt 120
 gggcagggac cccccagctc cagtccaggg ctctgtcctg cacctgggga atggtgaccg 180
 gcatctctgt cctctagctc tggaaagcacc ccagcccctc tagtctgccc tcaccctga 240
 ccctgacctt ccaccctgac cccgtcctaa cccctgacct ttgtgccctt ccagagagaa 300
 gggcagaagt gcccacagcc caccacagcc cctcaccag gccagccggc cagttccaaa 360
 ccttgggtgt tgggtgtcgt ggcgccctgc tgggcagcct ggtgctgcta gtctgggtcc 420
 tggccgtcat ctgctcccgg gccgcacgag gtaacgtcat ccagcccct cggcctgccc 480
 tgcctaaacc ctgctggcgg cctcactcc cgcctcccct tctccacc ttccctcacc 540
 ccaccacc tcccccatc tccccgccag gctaagtccc tgatgaaggc ccttgacta 600 40
 agacccccca cctaggagca cggctcaggg tcggcctggt gacccaagt gtgtttctct 660
 gcagggacaa taggagccag gcgcaccggc cagcccctgg tgagtctcac tcttttctg 720
 catgatccac tgtgccctcc ttctgggtg ggcagagggt gaaggacagg ctgggaccac 780
 acggcctgca ggactcacat tctattatag ccaggacccc acctccccag cccccaggca 840
 gcaacctcaa tccctaaagc catgatctgg gccccagcc cacctgcggt ctccgggggt 900
 gcccgccca tgtgtgtgcc tgctgctgg ctccaggggt gcctggccca cgcgtgtgcc 960
 gcctgctggt ctctgggggt gcccgccca catatgtgcc 1000

210 3
 211 2781
 212 DNA

10
 20
 30
 40
 50

213 artificial sequence
 220
 223 PD1_T3C-L2
 400 3

atgggcgatc ctaaaaagaa acgtaaggtc atcgatatcg ccgatctacg cacgctcggc 60
 tacagccagc agcaacagga gaagatcaaa ccgaaggttc gttcgacagt ggcgacagcac 120
 cacgaggcac tggtcggcca cgggtttaca cacgcgcaca tcgttgcggtt aagccaacac 180
 ccggcagcgt tagggaccgt cgctgtcaag taccaggaca tgatcgacgc gttgccagag 240
 gcgacacacg aagcgatcgt tggcgtcggc aaacagtggf ccggcgacacg cgctctggag 300
 gccttgctca cgggtggcggg agagttgaga ggtccaccgt tacagttgga cacaggccaa 360 10
 ctctcaaga ttgcaaaacg tggcggcgtg accgcagtgg aggcagtgca tgcatggcgc 420
 aatgcaactga cgggtgcccc gctcaacttg acccccagac aagtgggtggc tatcgcttcc 480
 aagctggggg gaaagcaggc cctggagacc gtccaggccc ttctcccagt gctttgccag 540
 gctcacggac tgaccctga acaggtgggtg gcaattgcct cacacgacgg gggcaagcag 600
 gcaactggaga ctgtccagcg gctgtgcct gtccctgcc aggcccacgg actcaactct 660
 gagcaggctc tggccattgc cagccacgat gggggcaaac aggctctgga gaccgtgcag 720
 cgctcctcc cagtgtgtg ccaggctcat gggctgacc cacagcaggf cgtcgccatt 780
 gccagtaacg gcggggggaa gcaggccctc gaaacagtgc agaggctgct gcccgctttg 840
 tgccaagcac acggcctgac acccgagcag gtgggtggcca tcgcctctca tgacggcggc 900
 aagcaggccc ttgagacagt gcagagactg ttgcccggtg tgtgtcaggc ccacgggttg 960 20
 acaccccagc aggtggtcgc catcgccagc aatggcgggg gaaagcaggc cttgagacc

1020
 gtgcagcggf tgcttccagt gttgtgccag gcacacggac tgaccctca acaggtggfc 1080
 gcaatcgcca gctacaagg cggaagcag gctctggaga cagtgcagcg cctcctgcc 1140
 gtgctgtgtc aggctcacgg actgacacca cagcagggtg tcgccatcgc cagtaacggg 1200
 ggcggaagc aggccttgga gaccgtccag agactcctcc cgtcctttg ccaggcccac 1260
 gggttgacac ctacgaggt cgtcgccatt gcctccaaca acgggggcaa gcaggccctc 1320
 gaaactgtgc agaggctgct gcctgtgctg tgccaggctc atgggctgac accccagcag 1380
 gtgggtggcca ttgcctctaa caacggcggc aaacaggcac tgagaccgt gcaaaggctg 1440
 ctgcccgctc tctgccaagc ccacgggctc actccacagc aggtcgtggc catcgctca 1500 30
 aacaatggcg ggaagcaggc cctggagact gtgcaaaggc tgctcctgt gctctgccag 1560
 gcacacggac tgaccctca gcagggtggf gcaatcgctt ccaacaacgg gggaaagcag 1620
 gccctcgaaa ccgtgcagcg cctcctcca gtgctgtgcc aggcacatgg cctcacacc 1680
 gagcaagtgg tggctatcgc cagccacgac ggaggggaagc aggccttgga gaccgtgcag

1740
 aggcctgctgc ctgtcctgtg ccaggcccac gggcttactc cagagcaggf cgtcgccatc 1800
 gccagtcatg atggggggaa gcaggccctt gagacagtcc agcggctgct gccagtcctt 1860
 tgccaggctc acggcttgac tcccagcag gtcgtggcca ttgcctcaaa cattgggggc 1920
 aaacaggccc tgagacagt gcaggccctg ctgcccggtg tgtgtcaggc ccacggcttg 1980
 acaccccagc aggtggtcgc cattgcctct aatggcggcg ggagaccgc cttggagagc 2040 40
 attgttccc agttatctcg cctgatccg gcgttggccg cgttgaccaa cgaccacctc 2100
 gtcgccttgg cctgcctcgg cgggcgtcct gcgctggatg cagtgaaaaa gggattgggg 2160
 gatcctatca gccgttccca gctgggtgaag tccgagctgg aggagaagaa atccgagttg 2220
 aggcacaagc tgaagtacgt gccccacgag tacatcgagc tgatcgagat cgcccggaac 2280
 agcaccaggg accgtatcct ggagatgaag gtgatggagt tctcatgaa ggtgtacggc 2340
 tacaggggca agcacctggg cggctccagg aagcccagc gcgccatcta caccgtgggc

2400
 tccccatcg actacggcgt gatcgtggac accaaggcct actccggcgg ctacaacctg 2460
 cccatcggcc aggccgacga aatgcagagg tacgtggagg agaaccagac caggaacaag

2520

10

20

30

40

50

cacatcaacc ccaacgagtg gtggaagggtg tacccctcca gcgtgaccga gttcaagttc 2580
 ctgttcgtgt ccggccactt caagggcaac tacaaggccc agctgaccag gctgaaccac 2640
 atcaccaact gcaacggcgc cgtgctgtcc gtggaggagc tcctgatcgg cggcgagatg 2700
 atcaaggccg gcaccctgac cctggaggag gtgaggagga agttcaacaa cggcgagatc
 2760

aacttcgagg ccgactgata a 2781

- 210 4
- 211 2778
- 212 DNA
- 213 artificial sequence
- 220
- 223 PD1T3R
- 400 4

10

atgggagatc ctaaaaagaa acgtaagggtc atcgatatcg ccgatctacg cacgctcggc 60
 tacagccagc agcaacagga gaagatcaaa ccgaagggtc gttcgacagt ggcgacagcac 120
 cacgaggcac tggtcggcca cgggtttaca cacgcgcaca tcgttgcgtt aagccaacac 180
 ccggcagcgt tagggaccgt cgctgtcaag taccaggaca tgatcgagc gttgccagag 240
 gcgacacacg aagcgatcgt tggcgtcggc aaacagtggt ccggcgacag cgctctggag 300
 gccttgcctc cgggtggcggg agagttgaga ggtccaccgt tacagttgga cacaggccaa 360
 ctctcaaga ttgcaaaacg tggcggcgtg accgcagtgg aggcagtgca tgcatggcgc 420 20
 aatgcaactga cgggtgcccc gctcaacttg acccccagag aagtcgtcgc aatcgccagc 480
 catgatggag ggaagcaagc cctcgaaacc gtgcagcggg tgcttctgt gctctgccag 540
 gcccacggcc ttaccctca gcaggtgggt gccatcgcaa gtaacggagg aggaaagcaa 600
 gccttggaga cagtgcagcg cctgttggcc gtgctgtgcc aggcacacgg cctcacacca 660
 gagcaggtcg tggccattgc ctccatgac ggggggaaac aggccttggg gaccgtccag 720
 aggcctgtgc ccgtcctctg tcaagctcac ggccctgact cccaacaagt ggtcgccatc 780
 gcctctaata gggcggggaa gcaggcactg gaaacagtgc agagactgct cctgtgctt 840
 tgccaagctc atgggttgac ccccacaacag gtcgtcgcta ttgcctcaaa cggggggggc 900
 aagcaggccc ttgagactgt gcagaggctg ttgccagtgc tgtgtcaggc tcacgggctc 960
 actccacaac aggtggctgc aattgccagc aacggcggcg gaaagcaagc tcttgaaaac 1020 30
 gtgcaacgcc tcctgcccgt gctctgtcag gctcatggcc tgacaccaca acaagtcgtg 1080
 gccatcgcca gtaataatgg cgggaaacag gctcttgaga ccgtccagag gctgctccca 1140
 gtgctctgcc aggcacacgg gctgaccccc gagcaggtgg tggctatcgc cagcaatatt 1200
 gggggcaagc aggccttggg aacagtccag gccctgctgc cagtgtttg ccaggctcac 1260
 gggctcactc ccagcaggt cgtggcaatc gcctccaacg gcggagggaa gcaggctctg 1320
 gagaccgtgc agagactgct gccctgtttg tgccaggccc acggactcac acctgaacag 1380
 gtcgtcgcca ttgcctctca cgatgggggc aaacaagccc tggagacagt gcagcggctg 1440
 ttgcctgtgt tgtgccaagc ccacggcttg actcctcaac aagtggctgc catcgccctc 1500
 aatggcggcg gaaaacaagc tctggagaca gtgcagaggt tgctgcccgt cctctgcca 1560
 gcccacggcc tgactcccca acaggtcgtc gccattgcca gcaacaacgg aggaaagcag 1620 40
 gctctcgaaa ctgtgcagcg gctgcttctt gtgctgtgtc aggcctatgg gctgaccccc 1680
 gagcaagtgg tggctattgc ctctaattga ggcaagcaag cccttgagac agtccagagg 1740
 ctgttgccag tgctgtgcca ggcccacggg ctcacacccc agcaggtggg cgccatcgcc 1800
 agtaacaacg ggggcaaaca ggcatgggaa accgtccagc gcctgcttcc agtgctctgc 1860
 caggcacacg gactgacacc cgaacaggtg gtggccattg catcccatga tgggggcaag 1920
 caggccctgg agaccgtgca gagactcctg ccagtgttgt gccaagctca cggcctcacc 1980
 cctcagcaag tcgtggccat cgctcaaac gggggggggc ggccctgact ggagagcatt 2040
 gttgccagat tatctcgccc tgatccggcg ttggccgcgt tgaccaacga ccacctcgtc 2100
 gccttggcct gcctcggcgg gcgtcctgcg ctggatgcag tgaaaaaggg attgggggat 2160
 cctatcagcc gttcccagct ggtgaagtcc gagctggagg agaagaaatc cgagttgagg 2220 50

cacaagctga agtacgtgcc ccacgagtac atcgagctga tcgagatcgc ccggaacagc 2 280
accaggacc gtatcctgga gatgaagggtg atggagtctt tcatgaagggt gtacggctac 2 340
aggggcaagc acctggggcgg ctccaggaag cccgacggcg ccatctacac cgtgggctcc
2 400
cccatcgact acggcgtgat cgtggacacc aaggcctact ccggcggcta caacctgccc 2 460
atcgccagg ccgacgaaat gcagaggtac gtggaggaga accagaccag gaacaagcac
2 520
atcaaccca acgagtgggtg gaagggtgtac ccctccagcg tgaccgagtt caagttcctg 2 580
ttcgtgtccg gccacttcaa gggcaactac aaggcccagc tgaccaggct gaaccacatc 2 640
accaactgca acggcgcctg gctgtccgtg gaggagctcc tgatcggcgg cgagatgac 2 700 10
aaggccggca ccctgaccct ggaggagggtg aggaggaagt tcaacaacgg cgagatcaac
2 760
ttcgcggccg actgataa 2 778
210 5
211 49
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 PD1-T3
400 5 20
tacctctgtg gggccatctc cctggccccc aaggcgcaga tcaaagaga 49
210 6
211 60
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 2A-element
400 6
tcgggtgagg gcagaggaag tcttctaaca tgcggtgacg tggaggagaa tccgggcccc 60
210 7 30
211 1989
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 apoptosis CAR
400 7
gctttgcctg tcaactgcctt gctgcttcca cttgctctgt tgttgacgc cgcaagacc 60
gaggtaagc tccaggaaag cggaccaggg ctggtggccc ctagtacgtc attgagcgtc 120
acttgaccg tcagcggcgt gtctctgccc gattacggcg tgagctggat cagacagccc 180
ccaaggaagg gactggagtg gctgggcgtc atctggggga gcgagactac ctactacaac 240 40
agcgcctga agagcaggct gaccatcatt aaggacaact ccaagtcca ggtctttctg 300
aaaatgaaca gcctgcagac tgatgacact gccatctact actgcgcaa gcattactac 360
tacgggggca gctacgctat ggactactgg gggcagggga cctctgtcac agtgtcaagt 420
ggcggaggag gcagtggcgg agggggaagt gggggcggcg gcagcgacat ccagatgacc
480
cagacaacat ccagcctctc cgcctctctg ggcgacagag tgacaatcag ctgccgggccc 540
agtcaggaca tcagcaagta tctcaattgg taccagcaga aaccagacgg gacagtgaaa 600
ttgctgatct accacacatc caggctgcac tcaggagtcc ccagcaggtt ttccggctcc 660
ggctccggga cagattacag tctgaccatt tccaacctgg agcaggagga tattgccaca 720
tacttttgcc agcaaggcaa cactctgccc tataccttcg gcggaggcac aaaactggag 780 50

```

attactcggg cggatcccga gcccaaatct cctgacaaaa ctcacacatg cccaccgtgc 840
ccagcacctc ccggtggccgg cccgtcagtg ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc 900
ctcatgatcg cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaggac 960
cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 1020
ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 1080
caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag tgcaagggtg ccaacaaagc cctcccagcc 1140
cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc 1200
ctgcccccat cccgggatga gctgaccaag aaccagggtca gcctgacctg cctggtcaaa 1260
ggcttctatc ccagcgcacat cgccgtggag tgggagagca atgggcaacc ggagaacaac 1320
tacaagacca cgctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttctcta cagcaagtc 1380 10
accgtggaca agagcagggtg gcagcagggg aacgtgttct catgctccgt gatgcatgag 1440
gccctgcaca atcactatac ccagaaatct ctgagtctga gcccaggcaa gaaggatatt 1500
ttgggggtggc tttgccttct tcttttgcca attccactaa ttgtttgggt gaagagaaag 1560
gaagtacaga aaacatgcag aaagcacaga aaggaaaacc aaggttctca tgaatctcca 1620
accttaaatc ctgaaacagt ggcaataaat ttatctgatg ttgacttgag taaatatatc 1680
accactattg ctggagtcac gacactaagt caagttaaag gctttgttcg aaagaatggt 1740
gtcaatgaag ccaaaataga tgagatcaag aatgacaatg tccaagacac agcagaacag 1800
aaagttcaac tgcttcgtaa ttggcatcaa ctcatggaa agaaagaagc gtatgacaca 1860
ttgattgcag atctcaaaaa agccaatctt tgtactcttg cagagaaaat tcagactatc 1920
atctcaagg acattactag tgactcagaa aattcaaact tcagaaatga aatccagagc 1980 20
ttggtcgaa
1989
210 8
211 276
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 BGH polyA
400 8
tctagagggc cggtttaaac ccgctgatca gcctcgactg tgccttctag ttgccagcca 60
tctgttgttt gccctcccc cgtgccttcc ttgaccctgg aagggtccac tcccactgtc 120 30
ctttcctaataaaatgagga aattgcatcg cattgtctga gtaggtgtca ttctattctg 180
gggggtgggg tggggcagga cagcaagggg gaggattggg aagacaatag caggcatgct
240
ggggatgcgg tgggctctat gactagtggc gaattc 276
210 9
211 1000
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 Lck left homology 40
400 9
gggatagggg gtgcctctgt gtgtgtgtgt gagagtgtgt gtgtgtaggg tgtgtatatg 60
tataggggtgt gtgtgagtgt gtgtgtgtga gagagtgtgt gtgtggcaga atagactgcg 120
gagggtgatt tcatcttgat atgaaaggtc tggaatgcat ggtacattaa actttgagga 180
cagcgccttc caagcactct gaggagcagc cctagagaag gaggagctgc agggactccg 240
ggggcttcaa agtgagggcc ccactctgct tcaggcaaaa caggcacaca tttatcactt 300
tatctatgga gttctgcttg atttcatcag acaaaaaaatt tccactgcta aaacaggcaa 360
ataaacaataaa aaaaagttat ggccaacaga gtcactggag ggttttctgc tggggagaag 420
caagcccgtg tttgaaggaa ccctgtgaga tgactgtggg ctgtgtgagg ggaacagcgg 480
gggcttgatg gtggacttcg ggagcagaag cctctttctc agcctcctca gctagacagg 540 50

```

ggaattataa taggaggtgt ggcgtgcaca cctctccagt aggggagggg ctgataagtc 600
 aggtctctcc caggcttggg aaagtgtgtg tcatctctag gaggtgggtcc tcccaacaca 660
 gggfactggc agagggagag ggagggggca gaggcaggaa gtgggtaact agactaaca
 720
 aggtgcctgt ggcggtttgc ccatcccagg tgggaggggtg gggctagggc tcaggggccc 780
 tgtgtgaatt tacttgtagc ctgagggctc agagggagca cgggtttgga gctgggaccc 840
 cctattttag cttttctgtg gctggtgaat ggggatccca ggatctcaca atctcaggta 900
 cttttggaac tttccagggc aaggcccat tatactctgat gttgggggag cagatcttgg 960
 gggagcccct tcagcccct cttccattcc ctcagggacc 1000

10

210 10

211 219

212 PRT

213 artificial sequence

220

223 Interleukin-12 subunit alpha

400 10

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

1 5 10 15

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

20 25 30

20

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

35 40 45

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

50 55 60

Thr Ser Glu Glu Ile Asp His Glu Asp Ile Thr Lys Asp Lys Thr Ser

65 70 75 80

Thr Val Glu Ala Cys Leu Pro Leu Glu Leu Thr Lys Asn Glu Ser Cys

85 90 95

Leu Asn Ser Arg Glu Thr Ser Phe Ile Thr Asn Gly Ser Cys Leu Ala

100 105 110

30

Ser Arg Lys Thr Ser Phe Met Met Ala Leu Cys Leu Ser Ser Ile Tyr

115 120 125

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

130 135 140

Leu Leu Met Asp Pro Lys Arg Gln Ile Phe Leu Asp Gln Asn Met Leu

145 150 155 160

Ala Val Ile Asp Glu Leu Met Gln Ala Leu Asn Phe Asn Ser Glu Thr

165 170 175

Val Pro Gln Lys Ser Ser Leu Glu Glu Pro Asp Phe Tyr Lys Thr Lys

180 185 190

40

Ile Lys Leu Cys Ile Leu Leu His Ala Phe Arg Ile Arg Ala Val Thr

195 200 205

Ile Asp Arg Val Met Ser Tyr Leu Asn Ala Ser

210 215

210 11

211 328

212 PRT

213 artificial sequence

220

223 Interleukin-12 subunit beta

50

400 11
 Met Cys His Gln Gln Leu Val Ile Ser Trp Phe Ser Leu Val Phe Leu
 1 5 10 15
 Ala Ser Pro Leu Val Ala Ile Trp Glu Leu Lys Lys Asp Val Tyr Val
 20 25 30
 Val Glu Leu Asp Trp Tyr Pro Asp Ala Pro Gly Glu Met Val Val Leu
 35 40 45
 Thr Cys Asp Thr Pro Glu Glu Asp Gly Ile Thr Trp Thr Leu Asp Gln
 50 55 60
 Ser Ser Glu Val Leu Gly Ser Gly Lys Thr Leu Thr Ile Gln Val Lys 10
 65 70 75 80
 Glu Phe Gly Asp Ala Gly Gln Tyr Thr Cys His Lys Gly Gly Glu Val
 85 90 95
 Leu Ser His Ser Leu Leu Leu Leu His Lys Lys Glu Asp Gly Ile Trp
 100 105 110
 Ser Thr Asp Ile Leu Lys Asp Gln Lys Glu Pro Lys Asn Lys Thr Phe
 115 120 125
 Leu Arg Cys Glu Ala Lys Asn Tyr Ser Gly Arg Phe Thr Cys Trp Trp
 130 135 140
 Leu Thr Thr Ile Ser Thr Asp Leu Thr Phe Ser Val Lys Ser Ser Arg 20
 145 150 155 160
 Gly Ser Ser Asp Pro Gln Gly Val Thr Cys Gly Ala Ala Thr Leu Ser
 165 170 175
 Ala Glu Arg Val Arg Gly Asp Asn Lys Glu Tyr Glu Tyr Ser Val Glu
 180 185 190
 Cys Gln Glu Asp Ser Ala Cys Pro Ala Ala Glu Glu Ser Leu Pro Ile
 195 200 205
 Glu Val Met Val Asp Ala Val His Lys Leu Lys Tyr Glu Asn Tyr Thr
 210 215 220
 Ser Ser Phe Phe Ile Arg Asp Ile Ile Lys Pro Asp Pro Pro Lys Asn 30
 225 230 235 240
 Leu Gln Leu Lys Pro Leu Lys Asn Ser Arg Gln Val Glu Val Ser Trp
 245 250 255
 Glu Tyr Pro Asp Thr Trp Ser Thr Pro His Ser Tyr Phe Ser Leu Thr
 260 265 270
 Phe Cys Val Gln Val Gln Gly Lys Ser Lys Arg Glu Lys Lys Asp Arg
 275 280 285
 Val Phe Thr Asp Lys Thr Ser Ala Thr Val Ile Cys Arg Lys Asn Ala
 290 295 300
 Ser Ile Ser Val Arg Ala Gln Asp Arg Tyr Tyr Ser Ser Ser Trp Ser 40
 305 310 315 320
 Glu Trp Ala Ser Val Pro Cys Ser
 325
 210 12
 211 1000
 212 DNA
 213 artificial sequence
 220
 223 lck right homology
 400 12 50

ggctgtggct gcagctcaca cccggaagat gactggatgg aaaacatcga tgtgtgtgag 60
 aactgccatt atcccatagt cccactggat ggcaagggca cggtaagagg cgagacaggg 120
 gccttgggtga gggagttggg tagagaatgc aaccacaggag aaagaaatga ccagcactac 180
 aggcccttga aagaatagag tggccctctc ccctgaaata cagaaaggaa aagaggccca 240
 gagaggggaa ggaatctcc taagatcaca cagaaagtag ttggtaaact cagggataac 300
 atctaaccag gctggagagg ctgagagcag agcagggggg aagggggcca gggctctgacc 360
 caatcttctg ctttctgacc ccaccctcat cccccactcc acagctgctc atccgaaatg 420
 gctctgaggt gcgggaccca ctggttacct acgaaggctc caatccgccg gcttccccac 480
 tgcaaggtga cccacaggcag cagggcctga aagacaaggc ctgcggatcc ctggctgttg 540
 gcttccacct ctccccacc tactttctcc ccggtcttgc cttccttgc ccccacctg 600 10
 taactccagg ctctctgcc atcccagctc ggttctccct gatgccctt gtctttacag 660
 acaacctggt tctcgtctg cacagctatg agccctctca cgacggagat ctgggctttg 720
 agaaggggga acagctccgc atcctggagc agtgagtccc tctccacctt gctctggcgg 780
 agtccgtgag ggagcggcga tctccgcgac ccgcagccct cctgcggccc tgaccagct 840
 cggggtggcc gcccttggga caaaattcga ggctcagtat tgctgagcca gggttggggg 900
 aggctggctt aaggggtgga ggggtctttg agggagggtc tcaggctcagc ggctgagcga 960
 gccacactga cccacctccg tggcgcagga gcggcgagtg 1000

210 13

211 1992

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 apoptosis CAR

400 13

20

atggctttgc ctgtcactgc cttgctgctt ccacttgctc tgttgttgca cgccgcaaga 60
 cccgaggtca agctccagga aagcggacca gggctggtgg ccctagtca gtcattgagc 120
 gtcacttgca ccgtcagcgg cgtgtctctg cccgattacg gcgtgagctg gatcagacag 180
 cccccaagga agggactgga gtggctgggc gtcatctggg ggagcggagac tacctactac 240
 aacagcggcc tgaagagcag gctgaccatc attaaggaca actccaagtc ccaggctctt 300
 ctgaaaatga acagcctgca gactgatgac actgccatct actactgcgc caagcattac 360 30
 tactacgggg gcagctacgc tatggactac tgggggcagg ggacctctgt cacagtgtca 420
 agtggcggag gaggcagtgg cggaggggga agtggggggc gcggcagcga catccagatg 480

accagacaa catccagcct ctccgcctct ctgggcgaca gagtgacaat cagctgccgg 540
 gccagtcagg acatcagcaa gtatctcaat tggtagcagc agaaaccaga cgggacagtg 600
 aaattgctga tctaccacac atccaggctg cactcaggag tcccagcag gttttccggc 660
 tccggctccg ggacagatta cagtctgacc atttccaacc tggagcagga ggatattgcc 720
 acatactttt gccagcaagg caacactctg ccctatacct tcggcggagg cacaaaactg 780
 gagattactc ggtcggatcc cgagcccaaa tctcctgaca aaactcacac atgccaccg 840
 tgcccagcac ctcccgtggc cggcccgtca gtgttctct tcccccaaa acccaaggac 900 40
 accctcatga tcgcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtagcgt gagccacgag 960
 gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 1020
 aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg 1080
 caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tgtccaacaa agccctccca 1140
 gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 1200
 accctgcccc catcccggga tgagctgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 1260
 aaaggcttct atcccagcga catcgcctgt gagtggggaga gcaatgggca accggagaac 1320
 aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ctttcttct ctacagcaag 1380
 ctaccctgg acaagagcag gtggcagcag gggaaactgt tctcatgctc cgtgatgcat 1440
 gaggccctgc acaatcacta taccagaaa tctctgagtc tgagcccagg caagaaggat 1500 50

```

athttgggggt ggctttgcct tcttcttttg ccaattccac taattgtttg ggtgaagaga 1560
aaggaagtac agaaaacatg cagaaagcac agaaaggaaa accaaggttc tcatgaatct 1620
ccaaccttaa atcctgaaac agtggcaata aatttatctg atgttgactt gagtaaatat 1680
atcaccacta ttgctggagt catgacacta agtcaagtta aaggctttgt tCGaaagaat 1740
ggtgtcaatg aagccaaaat agatgagatc aagaatgaca atgtccaaga cacagcagaa 1800
cagaaagttc aactgcttcg taattggcat caacttcatg gaaagaaaga agcgtatgac 1860
acattgattg cagatctcaa aaaagccaat ctttgtactc ttgcagagaa aattcagact 1920
atcatcctca aggacattac tagtgactca gaaaattcaa acttcagaaa tGaaatccag 1980
agcttgggtcg aa 1992
210 14 10
211 1000
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 Lck left homology
400 14

ctcataacaa ttctatgagg taggaacagt tatttactct attttccaaa taaggaaact 60
gggctcgccc aaggttccac aactaacatg tgtgtattat tgagcattta atttacacca 120
gggaagcagg ttgtgggtgg gtgcacctgt tgtccagcta tttaggaggc tgaggtgaaa 180
ggatcacttg aacggaggag ttcaaatttg caatgtgcta tgattgtgcc tgtgaacagc 240 20
tgctgcactc cagcctgggc aacatagtga gatcccttat ctaaaacatt ttttttaagt 300
aaataatcag gtgggcacgg tggctcacgc ctgtaatcca gcactttggg aggctgaggc 360
gggCGgatca cctgagggtca ggagttcaag accagcctga ccaacatgga gaaaccCGtc 420
tctactaaaa atacaaaatt agcttggcgt ggtgggtgcat gcctgtaatc ccagctactc 480
gagaagctga ggcaggagaa ttgtttgaac ctgggagggtg gaggttgCGg tgagccgaga 540
tcgcaccatt gcactccagc ctgggcaaca agagtgaaat tgcattctca aaaaaaagaa 600
aaggaaataa tctataccag gcactccaag tgggtgtgact gatattcaac aagtacctct 660
agtgtgacct taccattgat gaagaccaag attccttttg attgggtgctc aactgtgcc 720
agttaaatat tccgaacatt acccttgcct gtgggcttcc agtgcctgac ctTgatgtcc 780
tttCACccat caaccCGtag ggatgaccaa cCGgagggtg attcagaacc tggagcGagg 840 30
ctaccgcatg gtgcgCCctg acaactgtcc agaggagctg taccaactca tgaggctgtg 900
ctggaaggag CGccagagg accgGCCac ctttgactac ctgcgCagtG tGctggagga 960
cttcttcacg gccacagagg gccagtacca gcctcagcct 1000
210 15
211 1000
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 lck right homology
400 15 40

gaggccttga gaggccctgg ggttctcccc ctttctctcc agcctgactt ggggagatgg 60
agttctttgt ccatagtCAC atggcctatg cacatatgga ctctgcacat gaatcccacc 120
cacatgtgac acatatgcac ctTgtgtctg tacacgtgtc ctgtagtTgc gtggactctg 180
cacatgtctt gtacatgtgt agcctgtgca tgtatgtctt ggacactgta caaggTaccC 240
ctttctggct ctccatttc ctgagaccac agagagaggG gagaagcctg ggattgacag 300
aagcttctgc ccacctactt ttctttcctc agatcatcca gaagtTcctc aaggGCCagg 360
actttatcta atacctctgt gtgctcctcc ttggTgcctg gcctggcaca catcaggagt 420
tcaataaatg tctgtttgat actgtttgtac atctctttgc tgtccactct ttgtgggtgg 480
gcagTggggg ttaagaaaat ggtaattagg tcaccctgag ttgggggtgaa agatgggatg 540
agtggatgtc tggaggctct gcagaccct tcaaatggga cagtgtcct caccctccc 600 50

```

caaaggattc aggggtgactc ctacctggaa tcccttaggg aatgggtgcg tcaaaggacc 660
 ttcctcccca ttataaaagg gcaacagcat ttttactga ttcaagggtc atatttgacc 720
 tcagattttg ttttttaag gctagtcaaa tgaagcggcg ggaatggagg aggaacaaat 780
 aatctgtaa ctatcctcag atttttttt ttttttgaga ctgggtctca ctttttcac 840
 caggctggag tgcagtcgca tgatcacggc tcaactgtgc ctcaacctct ccagctcaaa 900
 tgctcctcct gtctcagcct cccgagtacc tgggactact ttcttgaggc caggaattca 960
 agaacagagt aagatcctgg tctccaaaaa aagttttaaa 1000

210 16

211 936

212 PRT

213 artificial sequence

220

223 TALEN TRAC

400 16

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

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

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

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

Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val
 65 70 75 80

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

Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala
 100 105 110

Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp
 115 120 125

Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Val
 130 135 140

Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn
 145 150 155 160

Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
 165 170 175

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 180 185 190

His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
 195 200 205

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 210 215 220

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 225 230 235 240

Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 245 250 255

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
 260 265 270

Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 275 280 285

10

20

30

40

50

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
 290 295 300
 Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 305 310 315 320
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
 325 330 335
 Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 340 345 350
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
 355 360 365 10
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 370 375 380
 Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 385 390 395 400
 Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala
 405 410 415
 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 420 425 430
 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys
 435 440 445 20
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 450 455 460
 His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
 465 470 475 480
 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 485 490 495
 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 500 505 510
 Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val
 515 520 525 30
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala
 530 535 540
 Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 545 550 555 560
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
 565 570 575
 Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala
 580 585 590
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
 595 600 605 40
 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 610 615 620
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
 625 630 635 640
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 645 650 655
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 660 665 670
 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala
 675 680 685 50

Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala
 690 695 700
 Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg
 705 710 715 720
 Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Gly Asp Pro Ile Ser Arg
 725 730 735
 Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg
 740 745 750
 His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile
 755 760 765 10
 Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu
 770 775 780
 Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser
 785 790 795 800
 Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr
 805 810 815
 Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro
 820 825 830
 Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr
 835 840 845 20
 Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser
 850 855 860
 Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly
 865 870 875 880
 Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn
 885 890 895
 Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile
 900 905 910
 Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn
 915 920 925 30
 Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp
 930 935
 210 17
 211 942
 212 PRT
 213 artificial sequence
 220
 223 TALEN TRAC
 400 17
 Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Lys Glu Thr Ala
 1 5 10 15 40
 Ala Ala Lys Phe Glu Arg Gln His Met Asp Ser Ile Asp Ile Ala Asp
 20 25 30
 Leu Arg Thr Leu Gly Tyr Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro
 35 40 45
 Lys Val Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His
 50 55 60
 Gly Phe Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala
 65 70 75 80
 Leu Gly Thr Val Ala Val Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro 50

	85	90	95	
Glu Ala Thr His	Glu Ala Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly			
	100	105	110	
Ala Arg Ala Leu	Glu Ala Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly			
	115	120	125	
Pro Pro Leu Gln	Leu Asp Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg			
	130	135	140	
Gly Gly Val Thr	Ala Val Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu			
	145	150	155	160
Thr Gly Ala Pro	Leu Asn Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala			10
	165	170	175	
Ser His Asp Gly	Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu			
	180	185	190	
Pro Val Leu Cys	Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala			
	195	200	205	
Ile Ala Ser Asn	Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg			
	210	215	220	
Leu Leu Pro Val	Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val			
	225	230	235	240
Val Ala Ile Ala	Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val			20
	245	250	255	
Gln Arg Leu Leu	Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu			
	260	265	270	
Gln Val Val Ala	Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu			
	275	280	285	
Thr Val Gln Ala	Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr			
	290	295	300	
Pro Gln Gln Val	Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala			
	305	310	315	320
Leu Glu Thr Val	Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly			30
	325	330	335	
Leu Thr Pro Glu	Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys			
	340	345	350	
Gln Ala Leu Glu	Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala			
	355	360	365	
His Gly Leu Thr	Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly			
	370	375	380	
Gly Lys Gln Ala	Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys			
	385	390	395	400
Gln Ala His Gly	Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn			40
	405	410	415	
Asn Gly Gly Lys	Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val			
	420	425	430	
Leu Cys Gln Ala	His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala			
	435	440	445	
Ser Asn Asn Gly	Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu			
	450	455	460	
Pro Val Leu Cys	Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala			
	465	470	475	480
Ile Ala Ser Asn	Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg			50

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val	485	490	495	
500	505	510		
Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val	515	520	525	
Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu	530	535	540	
Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu	545	550	555	560
Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr	565	570	575	10
Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala	580	585	590	
Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly	595	600	605	
Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys	610	615	620	
Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala	625	630	635	640
His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly	645	650	655	20
Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys	660	665	670	
Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn	675	680	685	
Gly Gly Gly Arg Pro Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg	690	695	700	
Pro Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu	705	710	715	720
Ala Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu	725	730	735	30
Gly Asp Pro Ile Ser Arg Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu	740	745	750	
Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr	755	760	765	
Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu	770	775	780	
Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly	785	790	795	800
Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val	805	810	815	40
Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser	820	825	830	
Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr	835	840	845	
Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp	850	855	860	
Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val	865	870	875	880
Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn				50

	885	890	895	
His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu				
	900	905	910	
Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val				
	915	920	925	
Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp				
	930	935	940	
210 18				
211 913				
212 PRT				10
213 artificial sequence				
220				
223 TALEN CD25				
400 18				
Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Tyr Pro Tyr Asp				
1 5 10 15				
Val Pro Asp Tyr Ala Ile Asp Ile Ala Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr				
	20	25	30	
Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val				
	35	40	45	20
Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr His Ala His				
	50	55	60	
Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val				
65 70 75 80				
Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Ala				
	85	90	95	
Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala				
	100	105	110	
Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp				
	115	120	125	30
Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Val				
	130	135	140	
Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn				
145 150 155 160				
Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys				
	165	170	175	
Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala				
	180	185	190	
His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly				
	195	200	205	40
Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys				
	210	215	220	
Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn				
225 230 235 240				
Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val				
	245	250	255	
Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala				
	260	265	270	
Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu				
	275	280	285	50

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala
 290 295 300
 Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 305 310 315 320
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
 325 330 335
 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 340 345 350
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln
 355 360 365 10
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 370 375 380
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 385 390 395 400
 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala
 405 410 415
 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 420 425 430
 Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
 435 440 445 20
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 450 455 460
 His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
 465 470 475 480
 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 485 490 495
 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 500 505 510
 Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 515 520 525 30
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala
 530 535 540
 Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 545 550 555 560
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala
 565 570 575
 Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 580 585 590
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
 595 600 605 40
 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 610 615 620
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
 625 630 635 640
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 645 650 655
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 660 665 670
 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala
 675 680 685 50

Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ser Gly Ser
 690 695 700
 Gly Ser Gly Gly Asp Pro Ile Ser Arg Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu
 705 710 715 720
 Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro
 725 730 735
 His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp
 740 745 750
 Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly
 755 760 765 10
 Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile
 770 775 780
 Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys
 785 790 795 800
 Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met
 805 810 815
 Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro
 820 825 830
 Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe
 835 840 845 20
 Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr
 850 855 860
 Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu
 865 870 875 880
 Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu
 885 890 895
 Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala
 900 905 910
 Asp
 210 19 30
 211 913
 212 PRT
 213 artificial sequence
 220
 223 TALEN CD25
 400 19
 Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Tyr Pro Tyr Asp
 1 5 10 15
 Val Pro Asp Tyr Ala Ile Asp Ile Ala Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr
 20 25 30 40
 Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val
 35 40 45
 Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr His Ala His
 50 55 60
 Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val
 65 70 75 80
 Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Ala
 85 90 95
 Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala
 100 105 110 50

Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp
 115 120 125
 Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Val
 130 135 140
 Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn
 145 150 155 160
 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys
 165 170 175
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 180 185 190 10
 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
 195 200 205
 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 210 215 220
 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 225 230 235 240
 Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val
 245 250 255
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala
 260 265 270 20
 Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 275 280 285
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala
 290 295 300
 Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 305 310 315 320
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
 325 330 335
 Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 340 345 350 30
 Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln
 355 360 365
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 370 375 380
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 385 390 395 400
 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
 405 410 415
 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 420 425 430 40
 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys
 435 440 445
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 450 455 460
 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly
 465 470 475 480
 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys
 485 490 495
 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 500 505 510 50

Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 515 520 525
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
 530 535 540
 Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu
 545 550 555 560
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala
 565 570 575
 Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 580 585 590 10
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
 595 600 605
 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 610 615 620
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
 625 630 635 640
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 645 650 655
 Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 660 665 670 20
 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala
 675 680 685
 Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ser Gly Ser
 690 695 700
 Gly Ser Gly Gly Asp Pro Ile Ser Arg Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu
 705 710 715 720
 Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro
 725 730 735
 His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp
 740 745 750 30
 Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly
 755 760 765
 Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile
 770 775 780
 Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys
 785 790 795 800
 Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met
 805 810 815
 Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro
 820 825 830 40
 Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe
 835 840 845
 Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr
 850 855 860
 Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu
 865 870 875 880
 Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu
 885 890 895
 Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala
 900 905 910 50

Asp

210 20

211 936

212 PRT

213 artificial sequence

220

223 TALEN PD1

400 20

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

10

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

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

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

Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val
65 70 75 80

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

20

Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala
100 105 110

Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp
115 120 125

Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Val
130 135 140

Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn
145 150 155 160

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

30

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
180 185 190

His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
195 200 205

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
210 215 220

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
225 230 235 240

Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
245 250 255

40

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala
260 265 270

Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
275 280 285

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
290 295 300

Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
305 310 315 320

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
325 330 335

50

Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
340 345 350

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

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

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

Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala
405 410 415 10

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

Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
435 440 445

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

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

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
485 490 495 20

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

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

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

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

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
565 570 575 30

Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
580 585 590

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
595 600 605

Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
610 615 620

Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
625 630 635 640

Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
645 650 655 40

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

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

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

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

Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Gly Asp Pro Ile Ser Arg
725 730 735 50

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

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

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

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

Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr
805 810 815 10

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

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

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

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

Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn
885 890 895 20

Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile
900 905 910

Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn
915 920 925

Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp
930 935

210 21
211 941
212 PRT
213 artificial sequence 30
220
223 TALEN PD1
400 21

Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Lys Glu Thr Ala
1 5 10 15

Ala Ala Lys Phe Glu Arg Gln His Met Asp Ser Ile Asp Ile Ala Asp
20 25 30

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

Lys Val Arg Ser Thr Val Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His
50 55 60 40

Gly Phe Thr His Ala His Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala
65 70 75 80

Leu Gly Thr Val Ala Val Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro
85 90 95

Glu Ala Thr His Glu Ala Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly
100 105 110

Ala Arg Ala Leu Glu Ala Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly
115 120 125

Pro Pro Leu Gln Leu Asp Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg 50

130	135	140	
Gly Gly Val Thr Ala Val Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu			
145	150	155	160
Thr Gly Ala Pro Leu Asn Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala			
	165	170	175
Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu			
	180	185	190
Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala			
	195	200	205
Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg			10
	210	215	220
Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val			
225	230	235	240
Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val			
	245	250	255
Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln			
	260	265	270
Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu			
	275	280	285
Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr			20
	290	295	300
Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala			
305	310	315	320
Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly			
	325	330	335
Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys			
	340	345	350
Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala			
	355	360	365
His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly			30
	370	375	380
Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys			
385	390	395	400
Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn			
	405	410	415
Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val			
	420	425	430
Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala			
	435	440	445
Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu			40
	450	455	460
Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala			
465	470	475	480
Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg			
	485	490	495
Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val			
	500	505	510
Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val			
	515	520	525
Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln			50

530 535 540
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 545 550 555 560
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 565 570 575
 Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu
 580 585 590
 Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu
 595 600 605
 Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln 10
 610 615 620
 Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His
 625 630 635 640
 Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly
 645 650 655
 Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln
 660 665 670
 Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly
 675 680 685
 Gly Gly Arg Pro Ala Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro 20
 690 695 700
 Asp Pro Ala Leu Ala Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala
 705 710 715 720
 Cys Leu Gly Gly Arg Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Gly
 725 730 735
 Asp Pro Ile Ser Arg Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys
 740 745 750
 Lys Ser Glu Leu Arg His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile
 755 760 765
 Glu Leu Ile Glu Ile Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu 30
 770 775 780
 Met Lys Val Met Glu Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys
 785 790 795 800
 His Leu Gly Gly Ser Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly
 805 810 815
 Ser Pro Ile Asp Tyr Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly
 820 825 830
 Gly Tyr Asn Leu Pro Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val
 835 840 845
 Glu Glu Asn Gln Thr Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp 40
 850 855 860
 Lys Val Tyr Pro Ser Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser
 865 870 875 880
 Gly His Phe Lys Gly Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His
 885 890 895
 Ile Thr Asn Cys Asn Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile
 900 905 910
 Gly Gly Glu Met Ile Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg
 915 920 925
 Arg Lys Phe Asn Asn Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp 50

930
 210 22
 211 2814
 212 DNA
 213 artificial sequence
 220
 223 TALEN TRAC pCLS11370
 400 22

940

```

atgggcgatc ctaaaaagaa acgtaaggtc atcgattacc catacgatgt tccagattac 60
gctatcgata tgcgggatct acgcacgctc ggctacagcc agcagcaaca ggagaagatc 120 10
aaaccgaagg ttcggtcgac agtggcgag caccacgagg cactggtcgg ccacggggtt 180
acacacgcgc acatcgttgc gttaagccaa caccggcag cgttagggac cgtcgctgtc 240
aagtatcagg acatgatcgc agcgttgcca gaggcgacac acgaagcgtat cgttggcgtc 300
ggcaaacagt ggtccggcgc acgcgctctg gaggccttgc tcacgggtggc gggagagttg 360
agaggtccac cgttacagtt ggacacaggc caacttctca agattgcaaa acgtggcggc 420
gtgaccgcag tggaggcagt gcatgcatgg cgcaatgcac tgacgggtgc cccgctcaac 480
ttgaccccc agcagggtgt ggccatcgcc agcaatggcg gtggcaagca ggcgctggag 540
acgggtccagc ggctgttggc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ccagcagggtg 600
gtggccatcg ccagcaataa tgggtggcaag caggcgctgg agacgggtcca gcggctgttg 660
ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc cccagcagg tgggtggccat cgccagcaat 720 20
ggcgggtggca agcaggcgct ggagacggtc cagcggctgt tgccggtgct gtgccaggcc 780
cacggcttga ccccgagca ggtggtggcc atcgccagcc acgatggcgg caagcaggcg 840
ctggagacgg tccagcggct gttgccggtg ctgtgccagg cccacggctt gacccccggag 900
cagggtggtg ccatcgccag ccacgatggc ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg 960
ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc ttgacccccg agcagggtgt ggccatcgcc 1020
agccacgatg gcggcaagca ggcgctggag acgggtccagc ggctgttggc ggtgctgtgc 1080
caggcccacg gcttgacccc ggagcagggt gtggccatcg ccagcaatat tgggtggcaag 1140
caggcgctgg agacgggtgca ggcgctgttg ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc 1200
ccggagcagg tgggtggccat cgccagccac gatggcggca agcaggcgct ggagacggtc
1260 30
cagcggctgt tgccggtgct gtgccaggcc cacggcttga ccccgagca ggtggtggcc 1320
atcgccagca atattggtgg caagcaggcg ctggagacgg tgcaggcgct gttgccggtg 1380
ctgtgccagg cccacggctt gacccccag cagggtggtg ccatcgccag caataatggt 1440
ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc 1500
ttgacccccg agcagggtgt ggccatcgcc agcaatattg gtggcaagca ggcgctggag 1560
acgggtcagg cgctgttggc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ccagcagggtg 1620
gtggccatcg ccagcaatgg cgggtggcaag caggcgctgg agacgggtcca gcggctgttg 1680
ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc ccggagcagg tgggtggccat cgccagcaat 1740
attggtggca agcaggcgct ggagacgggt caggcgctgt tgccggtgct gtgccaggcc 1800
cacggcttga cccccagca ggtggtggcc atcgccagca atggcgggtg caagcaggcg 1860 40
ctggagacgg tccagcggct gttgccggtg ctgtgccagg cccacggctt gacccccggag 1920
cagggtggtg ccatcgccag ccacgatggc ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg
1980
ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc ttgacccctc agcagggtgt ggccatcgcc 2040
agcaatggcg gcggcaggcc ggcgctggag agcattgttg cccagttatc tgcacctgat 2100
ccggcgttgg ccgcttgac caacgaccac ctgctgcct tggcctgcct cggcgggctg 2160
cctgcgctgg atgcagtga aaagggttgg ggggatccta tcagccgttc ccagctggtg 2220
aagtccgagc tggaggagaa gaaatccgag ttgaggcaca agctgaagta cgtgccccac 2280
gagtacatcg agctgatcga gatcgcccgg aacagcacc aggaccgtat cctggagatg 2340
aaggatgatg agttcttcat gaagggtgtac ggctacaggg gcaagcacct ggcgggctcc 2400 50

```

aggaagccccg acggcgccat ctacaccgtg ggctccccca tcgactacgg cgtgatcgtg 2460
 gacaccaagg cctactccgg cggctacaac ctgccatcg gccaggccga cgaaatgcag 2520
 aggtacgtgg aggagaacca gaccaggaac aagcacatca accccaacga gtgggtggaag
 2580
 gtgtaccctt ccagcgtgac cgagttcaag ttcctgttcg tgtccggcca cttcaagggc 2640
 aactacaagg cccagctgac caggctgaac cacatcacca actgcaacgg cgccgtgctg 2700
 tccgtggagg agctcctgat cggcggcgag atgatcaagg ccggcacctt gaccctggag 2760
 gaggtgagga ggaagttcaa caacggcgag atcaacttcg cggccgactg ataa 2814

210 23

211 2832

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 TALEN TRAC pCLS11369

400 23

10

atgggcatc ctaaaaagaa acgtaaggtc atcgataagg agaccgcccg tgccaagttc 60
 gagagacagc acatggacag catcgatata gccgatctac gcacgctcgg ctacagccag 120
 cagcaacagg agaagatcaa accgaagggt cgttcgacag tggcgcagca ccacgaggca 180
 ctggtcggcc acgggtttac acacgcgcac atcgttgctg taagccaaca cccggcagcg 240
 ttagggaccg tcgctgtcaa gtatcaggac atgatcgcag cgttgccaga ggcgacacac 300
 gaagcgatcg ttggcgtcgg caaacagtgg tccggcgcac gcgctctgga ggccttgctc 360
 acggtggcgg gagagttgag aggtccaccg ttacagttgg acacaggcca acttctcaag 420
 attgcaaac gtggcggcgt gaccgcagtg gaggcagtgc atgcatggcg caatgcaactg 480
 acgggtgccc cgctcaactt gaccccgag cagggtgggg ccatcgccag ccacgatggc 540
 ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg ctggtgcccg tgctgtgcca ggcccacggc 600
 ttgaccccc agcaggtggt ggccatcgcc agcaatggcg gtggcaagca ggcgctggag 660
 acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ggagcaggtg 720
 gtggccatcg ccagccacga tggcggcaag caggcgctgg agacgggtcca gcggctgttg 780
 ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc ccggagcagg tgggtggccat cgccagcaat 840
 attggtggca agcaggcgct ggagacggtg caggcgctgt tgccggtgct gtgccaggcc 900
 cacggcttga cccccagca ggtggtggcc atcgccagca ataatggtgg caagcaggcg 960
 ctggagacgg tccagcggct gttgccggtg ctgtgccagg cccacggctt gaccccgag 1020
 cagggtggtg ccatcgccag ccacgatggc ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg
 1080

20

30

ctggtgcccg tgctgtgcca ggcccacggc ttgaccccc agcaggtggt ggccatcgcc 1140
 agcaatggcg gtggcaagca ggcgctggag acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc 1200
 caggcccacg gcttgacccc ccagcaggtg gtggccatcg ccagcaataa tgggtggcaag 1260
 caggcgctgg agacgggtcca gcggctgttg ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc 1320
 cccagcagg tgggtggccat cgccagcaat aatggtggca agcaggcgct ggagacggtc 1380
 cagcggctgt tgccggtgct gtgccaggcc cacggcttga cccccagca ggtggtggcc 1440
 atcgccagca atggcgggtg caagcaggcg ctggagacgg tccagcggct gttgccggtg 1500
 ctgtgccagg cccacggctt gaccccgag cagggtggtg ccatcgccag caatattggt 1560
 ggcaagcagg cgctggagac ggtgcaggcg ctgttgcccg tgctgtgcca ggcccacggc
 1620

40

ttgacccccg agcaggtggt ggccatcgcc agccacgatg gcggcaagca ggcgctggag
 1680

acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ggagcaggtg 1740
 gtggccatcg ccagcaatat tgggtggcaag caggcgctgg agacgggtgca ggcgctgttg 1800
 ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc ccggagcagg tgggtggccat cgccagccac 1860
 gatggcggca agcaggcgct ggagacggtc cagcggctgt tgccggtgct gtgccaggcc 1920

50

cacggcttga cccccagca ggtggtggcc atcgccagca ataatggtgg caagcaggcg 1980
 ctggagacgg tccagcggct gttgccggtg ctgtgccagg cccacggctt gacccctcag 2040
 caggtggtgg ccatcgccag caatggcggc ggcaggccgg cgctggagag cattgttgcc 2100
 cagttatctc gccctgatcc ggcgttggcc gcgttgacca acgaccacct cgtcgccttg 2160
 gcctgcctcg gcgggcgtcc tgcgctggat gcagtgaaaa agggattggg ggatcctatc 2220
 agccgttccc agctggtgaa gtccgagctg gaggagaaga aatccgagtt gaggcacaag 2280
 ctgaagtacg tgccccacga gtacatcgag ctgatcgaga tcgcccggaa cagcaccag 2340
 gaccgtatcc tggagatgaa ggtgatggag ttcttcatga aggtgtacgg ctacaggggc 2400
 aagcacctgg gcggctccag gaagcccagc ggcgccatct acaccgtggg ctccccatc 2460
 gactacggcg tgatcgtgga caccaaggcc tactccggcg gctacaacct gcccatcggc 2520 10
 caggccgacg aaatgcagag gtacgtggag gagaaccaga ccaggaacaa gcacatcaac
 2580

cccaacgagt ggtggaaggt gtaccctcc agcgtgaccg agttcaagtt cctgttcgtg 2640
 tccggccact tcaagggcaa ctacaaggcc cagctgacca ggctgaacca catcaccaac 2700
 tgcaacggcg ccgtgctgtc cgtggaggag ctctgatcg gcggcgagat gatcaaggcc 2760
 ggcacctga ccctggagga ggtgaggagg aagttcaaca acggcgagat caacttcgcg 2820
 gccgactgat aa 2832

210 24

211 2745

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 TALEN CD25 pCLS30480

400 24

atgggcgatc ctaaaaagaa acgtaaggtc atcgattacc catacgatgt tccagattac 60
 gctatcgata tcgccgatct acgcacgctc ggctacagcc agcagcaaca ggagaagatc 120
 aaaccgaagg ttcgttcgac agtggcgcag caccacgagg cactggtcgg ccacgggttt 180
 acacacgcgc acatcgttgc gttaaagcaa caccggcag cgttagggac cgtcgcctgtc 240
 aagtatcagg acatgatcgc agcgttgcca gaggcgacac acgaagcgat cgttggcgtc 300
 ggcaaacagt ggtccggcgc acgcgctctg gaggccttgc tcacggtggc gggagagttg 360 30
 agaggccac cgttacagtt ggacacaggc caacttctca agattgcaaa acgtggcggc 420
 gtgaccgcag tggaggcagt gcatgcatgg cgcaatgcac tgacgggtgc cccgctcaac 480
 ttgaccccc agcaggtggt ggccatcgcc agcaataatg gtggcaagca ggcgctggag 540
 acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ccagcaggtg 600
 gtggccatcg ccagcaatgg cggtggaag caggcgcctgg agacgggtcca gcggctgttg 660
 ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc ccccagcagg tgggtggccat cgccagcaat 720
 ggcggtggca agcaggcgtc ggagacggtc cagcggctgt tgccggtgct gtgccaggcc 780
 cacggcttga ccccgagca ggtggtggcc atcgccagcc acgatggcgg caagcaggcg 840
 ctggagacgg tccagcggct gttgccggtg ctgtgccagg cccacggctt gacccccag 900
 caggtggtgg ccatcgccag caatggcggg ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg 960 40
 ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc ttgaccccc agcaggtggt ggccatcgcc 1020
 agcaatggcg gtggcaagca ggcgctggag acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc 1080
 caggcccacg gcttgacccc ccagcaggtg gtggccatcg ccagcaatgg cgggtggcaag 1140
 caggcgcctg agacgggtcca gcggctgttg ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc 1200
 ccccagcagg tgggtggccat cgccagcaat ggcggtggca agcaggcgtc ggagacggtc
 1260

cagcggctgt tgccggtgct gtgccaggcc cacggcttga cccccagca ggtggtggcc 1320
 atcgccagca ataatggtgg caagcaggcg ctggagacgg tccagcggct gttgccggtg 1380
 ctgtgccagg cccacggctt gacccccag caggtggtgg ccatcgccag caataatggt 1440
 ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc 1500 50

ttgaccccc agcaggtggt ggccatcgcc agcaatggcg gtggcaagca ggcgctggag 1560
 acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ccagcaggtg 1620
 gtggccatcg ccagcaatgg cgggtggcaag caggcgctgg agacgggtcca gcggctgttg 1680
 ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc cccagcagg tgggtggccat cgccagcaat 1740
 ggcggtggca agcaggcgct ggagacggtc cagcggctgt tgccgggtgct gtgccaggcc 1800
 cacggcttga cccccagca ggtggtggcc atcgccagca atggcgggtg caagcaggcg 1860
 ctggagacgg tccagcggct gttgccggtg ctgtgccagg cccacggctt gacccccgag 1920
 caggtggtgg ccatcgccag ccacgatggc ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg
 1980

ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc ttgaccctc agcaggtggt ggccatcgcc 2040
 agcaatggcg gcggcaggcc ggcgctggag agcattgttg cccagttatc tcgccctgat 2100
 ccgagtggca gcggaagtgg cggggatcct atcagccgtt cccagctggt gaagtccgag 2160
 ctggaggaga agaaatccga gttgaggcac aagctgaagt acgtgcccc aaggtacatc 2220
 gagctgatcg agatcgccc gaacagcacc caggaccgta tcctggagat gaaggtgatg 2280
 gagttcttca tgaaggtgta cggctacagg ggcaagcacc tgggcggtc caggaagccc 2340
 gacggcgcca tctacaccgt gggctcccc atcgactacg gcgtgatcgt ggacaccaag 2400
 gcctactccg gcggctacaa cctgcccac ggccaggccg acgaaatgca gaggtacgtg 2460
 gaggagaacc agaccaggaa caagcacatc aaccccacg agtgggtggaa ggtgtacccc
 2520

tccagcgtga ccgagttcaa gttcctgttc gtgtccggcc acttcaaggg caactacaag 2580
 gccagctga ccaggctgaa ccacatcacc aactgcaacg gcgccgtgct gtccgtggag 2640
 gagctcctga tcggcggcga gatgatcaag gccggcacc tgaccctgga ggaggtgagg 2700
 aggaagtta acaacggcga gatcaactt cgggcccgact gataa 2745

- 210 25
- 211 2745
- 212 DNA
- 213 artificial sequence
- 220
- 223 TALEN CD25 pCLS30479
- 400 25

atgggcgatc ctaaaaagaa acgtaaggtc atcgattacc catacgatgt tccagattac 60
 gctatcgata tcgccgatct acgcacgctc ggctacagcc agcagcaaca ggagaagatc 120
 aaaccgaagg ttcgttcgac agtggcgag caccacgagg cactggtcgg ccacggggtt 180
 acacacgcgc acatcgttgc gtttaagcaa caccggcag cgttagggac cgtcgtctgc 240
 aagtatcagg acatgatcgc agcgttgcca gaggcgacac acgaagcgat cgttggcgtc 300
 ggcaaacagt ggtccggcgc acgcgctctg gaggccttgc tcacggtggc gggagagttg 360
 agaggtccac cgttacagtt ggacacaggc caacttctca agattgcaaa acgtggcggc 420
 gtgaccgcag tggaggcagt gcatgcatgg cgcaatgcac tgacgggtgc cccgctcaac 480
 ttgaccccc agcaggtggt ggccatcgcc agcaatattg gtggcaagca ggcgctggag 540
 acggtgcagg cgctgttgcc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ggagcaggtg 600
 gtggccatcg ccagccacga tggcggcaag caggcgctgg agacgggtcca gcggctgttg 660
 ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc ccggagcagg tgggtggccat cgccagcaat 720
 attggtggca agcaggcgct ggagacggtg caggcgctgt tgccgggtgct gtgccaggcc 780
 cacggcttga cccccagca ggtggtggcc atcgccagca ataatggtgg caagcaggcg 840
 ctggagacgg tccagcggct gttgccggtg ctgtgccagg cccacggctt gacccccag 900
 caggtggtgg ccatcgccag caataatggt ggcaagcagg cgctggagac ggtccagcgg 960
 ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc ttgacccgg agcaggtggt ggccatcgcc 1020
 agcaatattg gtggcaagca ggcgctggag acggtgcagg cgctgttgcc ggtgctgtgc 1080
 caggcccacg gcttgacccc ccagcaggtg gtggccatcg ccagcaataa tgggtggcaag 1140
 caggcgctgg agacgggtcca gcggctgttg ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc 1200

10
20
30
40
50

ccccagcagg tgggtggccat cgccagcaat aatgggtggca agcagggcgct ggagacggtc 1 260
 cagcggctgt tgccgggtgct gtgccaggcc cacggcttga ccccgagca ggtgggtggcc 1 320
 atgccagca atattggtgg caagcaggcg ctggagacgg tgcagggcgct gttgccggtg 1 380
 ctgtgccagg cccacggctt gaccccgag caggtgggtg ccatcgccag caatattggt 1 440
 ggcaagcagg cgctggagac ggtgcaggcg ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc
 1500

ttgaccccc agcaggtggt ggccatcgcc agcaataatg gtggcaagca ggcgctggag 1 560
 acggtccagc ggctgttgcc ggtgctgtgc caggcccacg gcttgacccc ggagcaggtg 1 620
 gtggccatcg ccagcaatat tgggtggcaag caggcgctgg agacgggtgca ggcgctgttg 1 680
 ccggtgctgt gccaggccca cggcttgacc cccagcagg tgggtggccat cgccagcaat 1 740 10
 aatgggtggca agcagggcgct ggagacggtc cagcggctgt tgccgggtgct gtgccaggcc 1 800
 cacggcttga cccccagca ggtgggtggcc atgccagca atggcgggtg caagcaggcg 1 860
 ctggagacgg tccagcggct gttgccgggtg ctgtgccagg cccacggctt gaccccgag 1 920
 caggtgggtg ccatcgccag caatattggt ggcaagcagg cgctggagac ggtgcaggcg 1 980
 ctgttgccgg tgctgtgcca ggcccacggc ttgaccctc agcaggtggt ggccatcgcc 2 040
 agcaatggcg gcggcaggcc ggcgctggag agcattgttg cccagttatc tcgccctgat 2 100
 ccgagtggca gcggaagtgg cggggatcct atcagccgtt cccagctggt gaagtccgag 2 160
 ctggaggaga agaaatccga gttgaggcac aagctgaagt acgtgcccc cgagtacatc 2 220
 gagctgatcg agatgcccc gaacagcacc caggaccgta tcctggagat gaaggtgatg 2 280
 gagttcttca tgaaggtgta cggctacagg ggcaagcacc tgggcggctc caggaagccc 2 340 20
 gacggcgcca tctacaccgt gggctcccc atcgactacg gcgtgatcgt ggacaccaag 2 400
 gcctactccg gcggctacaa cctgcccac ggccaggccg acgaaatgca gaggtacgtg 2 460
 gaggagaacc agaccaggaa caagcacatc aaccccaacg agtgggtggaa ggtgtacccc
 2520
 tccagcgtga ccgagttcaa gttcctgttc gtgtccggcc acttcaaggg caactacaag 2 580
 gccagctga ccaggctgaa ccacatcacc aactgcaacg gcgcccgtgct gtccgtggag 2 640
 gagctcctga tcggcggcga gatgatcaag gccggcacc tgaccctgga ggaggtgagg 2 700
 aggaagtta acaacggcga gatcaactt gcggccgact gataa 2 745

210 26

211 2814

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 TALEN PD1 pCLS28959

400 26

atgggcgatc ctaaaaagaa acgtaaggtc atcgattacc catacgatgt tccagattac 60
 gctatcgata tcgccgatct acgcacgctc ggctacagcc agcagcaaca ggagaagatc 120
 aaaccgaagg ttcgttcgac agtggcgcag caccacgagg cactggctcg ccacggggtt 180
 acacacgcgc acatcgttgc gtttaagccaa caccggcag cgttagggac cgtcgtctgc 240
 aagtatcagg acatgatcgc agcgttgcca gaggcgacac acgaagcgat cgttggcgtc 300 40
 ggcaaacagt ggtccggcgc acgcgctctg gaggccttgc tcacggtggc gggagagttg 360
 agaggtccac cgttacagtt ggacacaggc caacttctca agattgcaaa acgtggcggc 420
 gtgaccgcag tggaggcagt gcatgcatgg cgcaatgcac tgacgggtgc cccgctcaac 480
 ttgaccccc agcaagtggg ggctatcgt tccaagctgg ggggaaagca ggccctggag 540
 accgtccagg ccttctccc agtgctttgc caggctcacg gactgacccc tgaacaggtg 600
 gtggcaattg cctcacacga cgggggcaag caggcactgg agactgtcca gcggctgctg 660
 cctgtcctct gccaggccca cggactcact cctgagcagg tcgtggccat tgccagccac 720
 gatgggggca aacaggctct ggagaccgtg cagcgcctcc tcccagtgtg gtgccaggct 780
 catgggctga cccacagca ggtcgtcgc attgccagta acggcggggg gaagcaggcc 840
 ctgaaacag tgcagaggct gctgcccgtc ttgtgccaag cacacggcct gacaccggag 900 50

cagggtggtgg ccatcgccctc tcatgacggc ggcaagcagg cccttgagac agtgcagaga 960
ctgttgcccg tgttgtgtca ggcccacggg ttgacacccc agcagggtgg cgccatcgcc 1020
agcaatggcg ggggaaagca ggcccttgag accgtgcagc ggttgcttcc agtgttgtgc 1080
caggcacacg gactgacccc tcaacagggtg gtcgcaatcg ccagctacaa gggcggaaa 1140
caggctctgg agacagtga ggcctcctg cccgtgctgt gtcaggctca cggactgaca 1200
ccacagcagg tggtcgccat cgccagtaac gggggcggca agcaggcttt ggagaccgtc 1260
cagagactcc tccccgtcct ttgccaggcc cacgggttga cacctcagca ggtcgtcgcc 1320
attgcctcca acaacggggg caagcaggcc ctcgaaactg tgcagaggct gctgcctgtg 1380
ctgtgccagg ctcatgggct gacaccccag cagggtggtg ccattgcctc taacaacggc 1440
ggcaaacagg cactggagac cgtgcaaagg ctgctgcccg tcctctgcca agcccacggg 1500 10
ctcactccac agcaggctgt ggccatcgcc tcaaacaatg gcgggaagca ggccctggag 1560
actgtgcaaa ggctgctccc tgtgctctgc caggcacacg gactgacccc tcagcagggtg 1620
gtggcaatcg ctccaacaa cgggggaaaag caggccctcg aaaccgtgca ggcctcctc 1680
ccagtgctgt gccaggcaca tggcctcaca cccgagcaag tgggtggctat cgccagccac 1740
gacggaggga agcaggctct ggagaccgtg cagaggctgc tgcctgtcct gtgccaggcc 1800
cacgggctta ctccagagca ggtcgtcgcc atcgccagtc atgatggggg gaagcaggcc 1860
cttgagacag tccagcggct gctgccagtc ctttgccagg ctacggctt gactcccag 1920
caggctcgtg ccattgcctc aaacattggg ggcaaacagg ccctggagac agtgcaggcc 1980
ctgctgcccg tgttgtgtca ggcccacggc ttgacacccc agcagggtgg cgccattgcc 2040
tctaattggc gcgggagacc cgccttgag agcattgttg ccagttatc tcgccctgat 2100 20
ccggcgttgg ccgcttgac caacgaccac ctgctgcct tggcctgcct cggcgggct 2160
cctgcgctgg atgcagtga aaagggattg ggggatccta tcagccgttc ccagctggtg 2220
aagtccgagc tggaggagaa gaaatccgag ttgaggcaca agctgaagta cgtgccccac 2280
gagtacatcg agctgatcga gatcgcccgg aacagcacc aggaccgtat cctggagatg 2340
aaggatgatg agttcttcat gaagggtgac ggctacagg gcaagcacct gggcggctcc 2400
aggaagcccg acggcgccat ctacaccgtg ggctccccca tcgactacgg cgtgatcgtg 2460
gacaccaagg cctactccgg cggctacaac ctgcccacatc gccaggccga cgaatgcag 2520
aggtacgtgg aggagaacca gaccaggaac aagcacatca accccaacga gtgggtggaag

2580
gtgtaccctt ccagcgtgac cgagttcaag ttctgttctg tgtccggcca cttcaagggc 2640 30
aactacaagg ccagctgac caggctgaac cacatcacca actgcaacgg cgccgtgctg 2700
tccgtggagg agctctgat cggcggcgag atgatcaagg ccggcacctt gaccctggag 2760
gaggatgagga ggaagttaa caacggcgag atcaacttc cggccgactg ataa 2814

- 210 27
- 211 2829
- 212 DNA
- 213 artificial sequence
- 220
- 223 TALEN PD1 pCLS18792
- 400 27

atgggcgatc ctaaaaagaa acgtaaggtc atcgataagg agaccgcccg tgccaagttc 60
gagagacagc acatggacag catcgatata gccgatctac gcacgctcgg ctacagccag 120
cagcaacagg agaagatcaa accgaagggt cgttcgacag tggcgcagca ccacgaggca 180
ctggctcggcc acgggtttac acacgcgcac atcgttgcgt taagccaaca cccggcagcg 240
ttagggaccg tgcgtgtcaa gtatcaggac atgatcgag cgttgccaga ggcgacacac 300
gaagcgatcg ttggcgtcgg caaacagtgg tccggcgcac gcgctctgga ggccttgctc 360
acgggtggcg gagagttgag aggtccaccg ttacagttgg acacaggcca acttctcaag 420
attgcaaac gtggcggcgt gaccgcagtg gaggcagtgc atgcatggcg caatgcaactg 480
acgggtgccc cgctcaactt gacccccgag caagtcgtc caatcgccag ccatgatgga 540
gggaagcaag ccctcgaaac cgtgcagcgg ttgcttctctg tgctctgcca ggcccacggc 600 50

ctaccctc agcagggtggg ggccatcgca agtaacggag gaggaagca agccttggag 660
 acagtgcagc gcctgttgcc cgtgctgtgc caggcacacg gcctcacacc agagcaggtc 720
 gtggccattg cctcccatga cggggggaaa caggctctgg agaccgtcca gaggctgctg 780
 cccgtcctct gtcaagctca cggcctgact cccaacaag tggtcgccat cgcctcta 840
 ggcggcggga agcaggcact ggaacagtg cagagactgc tcctgtgct ttgccaagct 900
 catgggttga ccccccaaca ggctgctgct attgcctcaa acgggggggg caagcaggcc 960
 ctgagactg tgcagaggct gttgccagt ctgtgtcagg ctacaggct cactccaca 1020
 cagggtgtcg caattgccag caacggcggc gaaagcaag ctcttgaac cgtgcaacgc 1080
 ctctgcccg tgctctgtca ggctcatggc ctgacaccac aacaagtcgt ggccatcgcc 1140
 agtaataatg gcgggaaaca ggctcttgag accgtccaga ggctgtctcc agtgctctgc 1200 10
 caggcacacg ggctgacccc cgagcagggt gtggctatcg ccagcaatat tgggggcaag 1260
 caggccctgg aacagtcca ggccctgctg ccagtgttt gccaggctca cgggctcact 1320
 cccagcagg tegtggcaat cgcctccaac ggcgaggga agcaggctct ggagaccgtg 1380
 cagagactgc tgcccgtctt gtgccaggcc cacggactca cacctgaaca ggtcgtcgcc 1440
 attgcctctc acgatggggg caaacaagcc ctggagacag tgcagcggct gttgctgtg 1500
 ttgtgccaag cccacggctt gactcctcaa caagtggctg ccatcgctc aaatggcggc 1560
 ggaaaacaag ctctggagac agtgcagagg ttgctgccc tcctctgcca agcccacggc 1620
 ctgactcccc aacaggctgt cgccattgcc agcaacaacg gaggaagca ggctctcgaa 1680
 actgtgcagc ggctgcttcc tgtgctgtgt caggctcatg ggctgacccc cgagcaagtg 1740
 gtggctattg cctctaattg aggcaagcaa gcccttgaga cagtccagag gctgttgcca 1800 20
 gtgctgtgcc aggccacgg gctcacacccc cagcagggtg tgcctatcg cagtaacaac 1860
 gggggcaaac aggcattgga aaccgtccag cgcctgctc cagtgtctg ccaggcacac 1920
 ggactgacac ccgaacagg gtgtggccatt gcatcccatg atgggggcaa gcaggccctg 1980
 gagaccgtgc agagactcct gccagtgtt tgccaagctc acggcctcac cctcagcaa 2040
 gtcgtggcca tgcctcaaa cggggggggc cggcctgcac tggagagcat tttgcccag 2100
 ttatctgcc ctgatccggc gttggccgc ttgaccaacg accacctcgt cgccttggcc 2160
 tgctcggcg ggctcctgc gctggatgca gtgaaaagg gattggggga tcctatcagc 2220
 cgttcccagc tgggtgaagtc cgagctggag gagaagaaat ccgagttgag gcacaagctg 2280
 aagtacgtgc cccacgagta catcgagctg atcgagatcg cccggaacag caccagggac 2340
 cgtatcctgg agatgaagg gatggagttc ttcatgaagg tgtacggcta caggggcaag 2400 30
 cacctggcg gctccaggaa gcccgacggc gccatctaca ccgtgggctc ccccatcgac 2460
 tacggcgtga tegtggacac caaggcctac tccggcggct acaacctgcc catcggccag 2520
 gccgacgaaa tgcagaggta cgtggaggag aaccagacca ggaacaagca catcaacccc
 2580

aacgagtggg ggaagggtgta cccctccagc gtgaccgagt tcaagttcct gttcgtgtcc 2640
 ggccacttca agggcaacta caaggcccag ctgaccaggc tgaaccacat caccaactgc 2700
 aacggcggcc tegtgtccgt ggaggagctc ctgatcggcg gcgagatgat caaggcggc 2760
 acctgacc tggaggaggg gaggaggaag ttcaacaacg gcgagatcaa ctctcgggccc 2820
 gactgataa 2829

210 28 40
 211 49
 212 DNA
 213 artificial sequence
 220
 223 TALEN target TRAC
 400 28

ttgtcccaca gatatccaga acctgacc tgccgtgtac cagctgaga 49
 210 29
 211 45
 212 DNA 50

213 artificial sequence
220
223 TALEN target CD25
400 29
tacaggagga agagtagaag aacaatctag aaaaccaaaa gaaca 45
210 30
211 49
212 DNA
213 artificial sequence
220 10
223 TALEN target PD1
400 30
tacctctgtg gggccatctc cctggcccc aaggcgcaga tcaaagaga 49
210 31
211 2897
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 Matrice TRAC locus_CubiCAR CD22 pCLS30056
400 31 20
ttgctgggcc ttttcccat gcctgcctt actctgccag agttatattg ctggggtttt 60
gaagaagatc ctattaaata aaagaataag cagtattatt aagtagccct gcatttcagg 120
tttccctgag tggcaggcca ggcttgccg tgaacgttca ctgaaatcat ggcctcttgg 180
ccaagattga tagcttgtgc ctgtccctga gtcccagtcc atcacgagca gctggtttct 240
aagatgctat ttcccgtata aagcatgaga ccgtgacttg ccagccccac agagccccgc 300
cctgttccat cactggcatc tggactccag cctgggttgg ggcaaagagg gaaatgagat 360
catgtcctaa cctgatcct ctgttcccac agatatccag taccctacg acgtgcccga 420
ctacgcctcc ggtgagggca gaggaagtct tctaacatgc ggtgacgtgg aggagaatcc 480
gggccccgga tccgctctgc ccgtcaccgc tctgtctgtg ccaactggcac tctgtctgca 540
cgctgctagg cccggagggg gaggcagctg cccctacagc aaccccagcc tgtgcagcgg 600 30
aggcggcggc agcggcggag ggggtagcca ggtgcagctg cagcagagcg gccctggcct
660
ggtgaagcca agccagacac tgtccctgac ctgcgccatc agcggcgatt ccgtgagctc 720
caactccgcc gcctggaatt ggatcaggca gtccccttct cggggcctgg agtggctggg 780
aaggacatac tatcggctta agtggtaaa cgattatgcc gtgtctgtga agagcagaat 840
cacaatcaac cctgacacct ccaagaatca gttctctctg cagctgaata gcgtgacacc 900
agaggacacc gccgtgtact attgcgccag ggaggtgacc ggcgacctgg aggatgcctt 960
tgacatctgg ggccagggca caatggtgac cgtgagctcc ggaggcggcg gatctggcgg 1020
aggaggaagt gggggcggcg ggagtgatat ccagatgaca cagtcccat cctctctgag 1080
cgctccgtg ggcgacagag tgacaatcac ctgtagggcc tcccagacca tctggtctta 1140 40
cctgaactgg tatcagcaga ggcccggcaa ggcccctaatt ctgctgatct acgcagcaag 1200
ctccctgcag agcggagtgc catccagatt ctctggcagg ggctccggca cagacttcac 1260
cctgaccatc tctagcctgc aggccgagga ctctgccacc tactattgcc agcagtctta 1320
tagcatcccc cagacatttg gccagggcac caagctggag atcaagtcgg atcccggaag 1380
cggaggggga ggcagctgcc cctacagcaa ccccagcctg tgcagcggag gcggcggcag
1440
cgagctgccc acccagggca ctttctccaa cgtgtccacc aacgtgagcc cagccaagcc 1500
caccaccacc gcctgtcctt attccaatcc ttccctgtgt gctcccacca caacccccgc 1560
tccaaggccc cctacccccg caccaactat tgccctccag ccaactctac tgcggcctga 1620
ggcctgtcgg cccgctgctg gaggcgcagt gcatacaagg ggccctcgatt tcgcctgcga 1680 50

tatttacatc tgggcacccc tgcgccggcac ctgcgggggtg cttctcctct ccctgggtgat 1740
 tacctgtat tgcagacggg gccggaagaa gctcctctac atttttaagc agcctttcat 1800
 gcgccagtg cagacaaccc aagaggagga tgggtgttcc tgcagattcc ctgaggaaga 1860
 ggaaggcggg tgcgagctga gagtgaagtt ctccaggagc gcagatgcc cgcctatca 1920
 acagggccag aaccagctct acaacgagct taacctcggg aggcgcgaag aatacgaagt 1980
 gttggataag agaagggggc gggaccccga gatgggagga aagccccgga ggaagaaccc
 2040

tcaggagggc ctgtacaacg agctgcagaa ggataagatg gccgaggcct actcagagat 2100
 cgggatgaag ggggagcggc gccgcgggaa ggggcacgat gggctctacc aggggctgag
 2160

10

cacagccaca aaggacacat acgacgcctt gcacatgcag gcccttccac cccgggaata 2220
 gtctagaggg cccgtttaaa cccgctgac agcctcgact gtgccttcta gttgccagcc 2280
 atctgttgtt tgcccctccc ccgtgccttc ctgaccctg gaagggtgcca ctcccactgt 2340
 ctttcctaa taaaatgagg aaattgcatc gcattgtctg agtaggtgtc attctattct 2400
 ggggggtggg gtggggcagg acagcaaggg ggaggattgg gaagacaata gcaggcatgc
 2460

tggggatgcg gtgggctcta tgactagtgg cgaattcccg tgtaccagct gagagactct 2520
 aaatccagtg acaagtctgt ctgcctattc accgatittg attctcaaac aaatgtgtca 2580
 caaagtaagg attctgatgt gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg 2640
 gacttcaaga gcaacagtg tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac 2700
 gccttcaaca acagcattat tccagaagac accttcttcc ccagcccagg taagggcagc 2760
 tttggtgcct tgcagggctg tttccttgct tcaggaatgg ccaggttctg cccagagctc 2820
 tggtaaatga tgtctaaaac tcctctgatt ggtgggtctcg gccttatcca ttgccaccaa 2880
 aaccctcttt ttactaa 2897

20

210 32

211 2688

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 Matrice CD25 locus_IL15_2A_sIL15Ra pCLS30519

30

400 32

gtttattatt cctgttccac agctattgtc tgccatataa aaacttaggc caggcacagt 60
 ggctcacacc tgtaatccca gcactttgga aggccgaggc aggcagatca caaggtcagg 120
 agttcgagac cagcctggcc aacatagcaa aacccccatct ctactaaaaa taaaaaatt 180
 agccaggcat ggtggcgtgt gcactggttt agagtgagga ccacattttt ttggtgccgt 240
 gttacacata tgaccgtgac tttgttacac cactacagga ggaagagtag aagaacaatc 300
 ggttctggcg taaaacagac tttgaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag 360
 tccaaccag ggcccgttac cgggtccgcc accatggact ggacctggat tctgttcctc 420
 gtggctgctg ctacaagagt gcacagcggc attcatgtct tcattttggg ctgtttcagt 480
 gcagggttc ctaaacagaga agccaactgg tggaatgtaa taagtattt gaaaaaatt 540
 gaagatctta ttcaatctat gcatattgat gctactttat atacggaaag tgatgttcac 600
 cccagttgca aagtaacagc aatgaagtgc tttctcttgg agttacaagt tatttacttt 660
 gagtccggag atgcaagtat tcatgataca gtagaaaatc tgatcatcct agcaaacac 720
 agtttgtctt ctaatgggaa tgtaacagaa tctggatgca aagaatgtga ggaactggag 780
 gaaaaaata ttaaagaatt ttgacagagt ttgtacata ttgtccaaat gttcatcaac 840
 acttctggaa gcggagctac taacttcagc ctgctgaagc aggctggaga cgtggaggag 900
 aaccctggac ctgggaccgg ctctgcaacc atggattgga cgtggatcct gtttctcgtg 960
 gcagctgcca caagagttca cagtatcacg tgcccctccc ccatgtccgt ggaacacgca 1020
 gacatctggg tcaagagcta cagcttgtag tccagggagc ggtacatttg taactctggt 1080
 ttcaagcgta aagccggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccacgaat 1140

50

```

gtcgcccact ggacaacccc cagtctcaaa tgcattagag accctgccct ggttcaccaa 1200
aggccagcgc caccctccac agtaacgacg gcaggggtga cccacagcc agagagcctc
1260
tccccttctg gaaaagagcc cgcagcttca tctcccagct caaacaacac agcggccaca 1320
acagcagcta ttgtcccggg ctcccagctg atgccttcaa aatcaccttc cacaggaacc 1380
acagagataa gcagtcattg gtctctccac ggcaccccct ctacagacaac agccaagaac 1440
tgggaactca cagcatccgc ctcccaccag ccgccagggtg tgtatccaca gggccacagc 1500
gacaccactg agggcagagg cagcctgctg acctgcggcg acgtcgagga gaaccccggg
1560
cccatggggg caggtgccac cggccgcgcc atggacgggc cgcgcctgct gctgttgctg 1620 10
cttctggggg tgtcccttgg aggtgccaaag gaggcatgcc ccacaggcct gtacacacac 1680
agcggtgagt gctgcaaagc ctgcaacctg ggcgaggggtg tggcccagcc ttgtggagcc 1740
aaccagaccg tgtgtgagcc ctgcctggac agcgtgacgt tctccgacgt ggtgagcgcg 1800
accgagccgt gcaagccgtg caccgagtgc gtggggctcc agagcatgtc ggcgccgtgc 1860
gtggaggccg atgacgccgt gtgccgctgc gcctacggct actaccagga tgagacgact 1920
gggcgctgcg aggcgtgccg cgtgtgcgag gcgggctcgg gcctcgtgtt ctctgccag 1980
gacaagcaga acaccgtgtg cgaggagtgc cccgacggca cgtattccga cgaggccaac
2040
cacgtggacc cgtgcctgcc ctgcaccgtg tgcgaggaca ccgagcgcca gctccgag 2100
tgcacacgct gggccgacgc cgagtgcgag gagatccctg gccgttggat tacacggtcc 2160 20
acacccccag agggctcggg cagcacagcc cccagcacc aggagcctga ggcacctcca
2220
gaacaagacc tcatagccag cacgggtggc ggtgtggtga ccacagtga gggcagctcc 2280
cagcccgtgg tgacccgagg caccaccgac aacctcatcc ctgtctattg ctccatcctg 2340
gctgctgtgg ttgtgggtct tgtggcctac atagccttca agaggtgaaa aaccaaaga 2400
acaagaattt cttggtgaga agccgggaac agacaacaga agtcatgaag cccaagtga 2460
atcaaagggt ctaaattggt gccccaggaga catccgttgt gcttgccctgc gttttggaag 2520
ctctgaagtc acatcacagg acacggggca gtggcaacct tgtctctatg ccagctcagt 2580
cccatcagag agcagcgcct acccacttct aatagcaat ttcgccgttg aagaggaagg 2640
gcaaaaccac tagaactctc catcttattt tcatgtatat gtgttcat 2688 30
210 33
211 2964
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 Matrice PD1 locus_IL15_2A_sIL15Ra pCLS30513
400 33
gactccccag acaggccctg gaaccccccc accttctccc cagccctgct cgtggtgacc 60
gaaggggaca acgccacctt cacctgcagc ttctccaaca catcggagag cttcgtgcta 120
aactggtacc gcatgagccc cagcaaccag acggacaagc tggccgcctt ccccgaggac 180 40
cgcagccagc ccggccagga ctgccgcttc cgtgtcacac aactgcccaa cgggcgtgac
240
ttccacatga gcgtggtcag ggcccggcgc aatgacagcg gcacctacct ctgtggggcc 300
ggttctggcg tgaacagac ttgaaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag 360
tccaacccag ggcccgttac cgggtccgcc accatggact ggacctggat tctgttccctc 420
gtggctgctg ctacaagagt gcacagcggc attcatgtct tcattttggg ctgtttcagt 480
gcagggcttc ctaaacaga agccaactgg gtgaatgtaa taagtattt gaaaaaatt 540
gaagatctta ttcaatctat gcatattgat gctactttat atacggaaag tgatgttcac 600
cccagttgca aagtaacagc aatgaagtgc tttctcttgg agttacaagt tatttcactt 660
gagtcgggag atgcaagtat tcatgataca gtagaaaatc tgatcatcct agcaaacac 720
agtttgtctt ctaatgggaa tgtaacagaa tctggatgca aagaatgtga ggaactggag 780 50

```

gaaaaaaata ttaaagaatt tttgcagagt tttgtacata ttgtccaaat gttcatcaac 840
acttctggaa gcgagctac taacttcagc ctgctgaagc aggctggaga cgtggaggag 900
aaccttgac ctgggaccgg ctctgcaacc atggattgga cgtggatcct gtttctcgtg 960
gcagctgcca caagagtcca cagtatcacg tgccctcccc ccatgtccgt ggaacacgca 1020
gacatctggg tcaagagcta cagcttgtac tccagggagc ggtacatttg taactctggt 1080
ttcaagcgtg aagccggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccacgaat 1140
gtcgcccact ggacaacccc cagtctcaaa tgcattagag accctgccct ggttcaccaa 1200
aggccagcgc caccctccac agtaacgacg gcaggggtga cccacagcc agagagcctc
1260
tccccttctg gaaaagagcc cgcagcttca tctcccagct caaacaacac agcggccaca 1320 10
acagcagcta ttgtcccggg ctcccagctg atgccttcaa aatcaccttc cacaggaacc 1380
acagagataa gcagtcatga gtccctccac ggcaccccct ctcagacaac agccaagaac 1440
tgggaactca cagcatccgc ctcccaccag ccgccagggtg tgtatccaca gggccacagc 1500
gacaccactg agggcagagg cagcctgctg acctgcggcg acgtcgagga gaaccccggg
1560
cccatggggg caggtgccac cggccgcgcc atggacgggc cgcgcctgct gctgttgctg 1620
cttctggggg tgtcccttgg aggtgccaaag gaggcatgcc ccacaggcct gtacacacac 1680
agcggtgagt gctgcaaagc ctgcaacctg ggcgagggtg tggcccagcc ttgtggagcc 1740
aaccagaccg tgtgtgagcc ctgcctggac agcgtgacgt tctccgacgt ggtgagcgcg 1800
accgagccgt gcaagccgtg caccgagtgc gtggggctcc agagcatgtc ggcgccgtgc 1860 20
gtggaggccg atgacgccgt gtgccgctgc gcctacggct actaccagga tgagacgact 1920
gggcgctgcg aggcgtgccg cgtgtgcgag gcgggctcgg gcctcgtgtt ctctgccag 1980
gacaagcaga acaccgtgtg cgaggagtgc cccgacggca cgtattccga cgaggccaac
2040
cacgtggacc cgtgcctgcc ctgcaccgtg tgcgaggaca ccgagcgcca gctccgagag 2100
tgcacacgct gggccgacgc cgagtgcgag gagatccctg gccgttggat tacacggtcc 2160
acacccccag agggctcggg cagcacagcc cccagcacc aggagcctga ggcacctcca
2220
gaacaagacc tcatagccag cacggtggca ggtgtggtga ccacagtgat gggcagctcc 2280
cagcccgtgg tgaccgagc caccaccgac aacctcatcc ctgtctattg ctccatcctg 2340 30
gctgctgtgg ttgtgggtct tgtggcctac atagccttca agaggatgc tagagggccc 2400
gtttaaaccg cctgatcagc ctgcactgtg ctttctagt gccagccatc tgttgtttgc 2460
ccctcccccg tgccttcctt gaccctggaa ggtgccactc ccaactgtcct ttcctaataa 2520
aatgaggaaa ttgcatcga ttgtctgagt aggtgtcatt ctattctggg ggggtgggtg 2580
gggcaggaca gcaaggggga ggattgggaa gacaatagca ggcatgctgg ggatgcggtg
2640
ggctctatga ctagtggcga attcggcgca gatcaaagag agcctgcggg cagagctcag 2700
ggtgacaggt gcggcctcgg agggcccggg gcaggggtga gctgagccgg tcctgggggtg
2760
ggtgtcccct cctgcacagg atcaggagct ccagggtcgt agggcaggga cccccagct 2820 40
ccagtccagg gctctgtcct gcacctgggg aatggtgacc ggcattcttg tcctctagct 2880
ctggaagcac cccagcccct ctagtctgcc ctaccccctg accctgacct tccacctga 2940
ccccgtccta acccctgacc tttg 2964
210 34
211 3363
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 Matrice CD25 locus_IL12a_2A_IL12b pCLS30520
400 34

gtttattatt cctgttccac agctattgtc tgccatataa aaacttaggc caggcacagt 60
 ggctcacacc tgtaatccca gcactttgga aggccgaggc aggcagatca caaggtcagg 120
 agttcgagac cagcctggcc aacatagcaa aaccccatct ctactaaaaa taaaaaatt 180
 agccaggcat ggtggcgtgt gcactggttt agagtgagga ccacattttt ttggtgccgt 240
 gttacacata tgaccgtgac ttgtttacac cactacagga ggaagagtag aagaacaatc 300
 ggttctggcg tgaacacagac ttggaatfff gaccttctca agttggcggg agacgtggag 360
 tccaaccag ggcccatgtg gccccctggg tcagcctccc agccaccgcc ctacactgcc 420
 gcggccacag gtctgcatcc agcggctcgc cctgtgtccc tgcagtgccg gctcagcatg 480
 tgtccagcgc gcagcctcct cttgtggct accctggfcc tcttgacca cctcagttg 540
 gccagaaacc tcccctgggc cactccagac ccaggaatgt tcccatgcct tcaccactcc 600 10
 caaaacctgc tgagggccgt cagcaacatg ctccagaagg ccagacaaac tctagaattt 660
 tacccttgca cttctgaaga gattgatcat gaagatatca caaaagataa aaccagcaca 720
 gtggaggcct gtttaccatt ggaattaacc aagaatgaga gttgcctaaa ttccagagag 780
 acctctttca taactaatgg gagttgcctg gcctccagaa agacctcttt tatgatggcc 840
 ctgtgcctta gtagtattta tgaagacttg aagatgtacc aggtggagtt caagaccatg 900
 aatgcaaagc ttctgatgga tcctaagagg cagatctttc tagatcaaaa catgctggca 960
 gttattgatg agctgatgca ggccctgaat ttcaacagtg agactgtgcc aaaaaatcc 1020
 tcccttgaag aaccggattt ttataaaaact aaaatcaagc tctgcatact tcttcatgct 1080
 ttcagaattc gggcagtgac tattgataga gtgatgagct atctgaatgc ttccggaagc 1140
 ggagctacta acttcagcct gctgaagcag gctggagacg tggaggagaa ccctggacct 1200 20
 atgtgtcacc agcagttggt catctcttgg tttccctgg ttttctggc atctcccctc 1260
 gtggccatat gggaactgaa gaaagatggt tatgtcgtag aattggattg gtatccgat 1320
 gcccctggag aatggtggt ctcacctgt gacaccctg aagaagatgg tatcacctgg 1380
 accttgacc agagcagtga ggtcttaggc tctggcaaaa ccctgacct ccaagtcaaa 1440
 gagtttggag atgctggcca gtacacctgt cacaaaggag gcgaggttct aagccattcg 1500
 ctctgctgc ttcacaaaaa ggaagatgga atttggtcca ctgatatttt aaaggaccag 1560
 aaagaacca aaaataagac ctttctaaga tgcgaggcca agaattattc tggacgtttc 1620
 acctgctggt ggctgacgac aatcagctact gatttgacat tcagtgtcaa aagcagcaga 1680
 ggctctctg acccccaagg ggtgacgtgc ggagctgcta cactctctgc agagagagtc 1740
 agaggggaca acaaggagta tgagtactca gtggagtgcc aggaggacag tgccctgcca 1800 30
 gctgctgagg agagtctgcc cattgaggtc atggtggatg ccgttcacaa gctcaagtat 1860
 gaaaactaca ccagcagctt ctcatcagg gacatcatca aacctgacct acccaagaac 1920
 ttgcagctga agccattaaa gaattctcgg caggtggagg tcagctggga gtacctgac 1980
 acctggagta ctccacattc ctacttctcc ctgacattct gcgttcagggt ccagggcaag 2040
 agcaagagag aaaagaaaga tagagtcttc acggacaaga cctcagccac ggtcatctgc 2100
 cgcaaaaatg ccagcattag cgtgcgggcc caggaccgct actatagctc atcttggagc 2160
 gaatgggcat ctgtgccctg cagtgagggc agaggcagcc tgctgacctg cggcgacgtc 2220
 gaggagaacc ccgggccccat gggggcaggt gccaccggcc gcgcatgga cgggcccgcg 2280 40
 ctgctgctgt tgctgcttct gggggtgtcc cttggagggtg ccaaggaggc atgccccaca 2340
 ggctgtaca cacacagcgg tgagtgtgc aaagcctgca acctgggcca ggggtgtggcc 2400
 cagccttgtg gagccaacca gaccgtgtgt gagccctgcc tggacagcgt gacgttctcc 2460
 gacgtggtga gcgcgaccga gccgtgcaag ccgtgcaccg agtgctgtgg gctccagagc 2520
 atgtcggcgc cgtgcgtgga ggccgatgac gccgtgtgcc gctgcgccta cggctactac 2580
 caggatgaga cgactgggcg ctgcgaggcg tgccgcgtgt gcgaggcggg ctggggcctc 2640
 gtgttctcct gccaggacaa gcagaacacc gtgtgcgagg agtgccccga cggcacgtat 2700
 tccgacgagg ccaaccacgt ggaccctgct ctgccctgca ccgtgtgcga ggacaccgag 2760 50

```

cgccagctcc gcgagtgcac acgctgggcc gacgccgagt gcgaggagat ccctggccgt 2820
tggattacac ggtccacacc cccagagggc tccgacagca cagccccag caccagagg 2880
cctgaggcac ctccagaaca agacctata gccagcacgg tggcaggtgt ggtgaccaca 2940
gtgatgggca gctcccagcc cgtggtgacc cgaggcacca ccgacaacct catccctgtc 3000
tattgctcca tctggctgc tgtggttgtg ggtcttggg cctacatagc cttcaagagg 3060
tgaaaaacca aaagaacaag aatttcttgg taagaagccg ggaacagaca acagaagtca 3120
tgaagcccaa gtgaaatcaa aggtgctaaa tggtcgcca ggagacatcc gttgtgcttg 3180
cctgcgtttt ggaagctctg aagtcacatc acaggacacg gggcagtgcc aacctgtct 3240
ctatgccagc tcagtcccat cagagagcga gcgctacca cttctaaata gcaatttcgc 3300
cgttgaagag gaagggcaaa accactagaa ctctccatct tattttcatg tatatgtgtt 3360 10
cat
                                     3363
210    35
211    3639
212    DNA
213    artificial sequence
220
223    Matrice PD1 locus_IL12a_2A_IL12b pCLS30511
400    35
gactccccag acaggccctg gaaccccccc accttctccc cagccctgct cgtggtgacc 60
gaaggggaca acgccacctt cacctgcagc ttctccaaca catcggagag cttcgtgcta 120 20
aactggtacc gcatgagccc cagcaaccag acggacaagc tggccgcctt ccccgaggac 180
cgcagccagc ccggccagga ctgccgcttc cgtgtcacac aactgcccaa cgggcgtgac 240
ttccacatga gcgtggtcag ggcccggcgc aatgacagcg gcacctacct ctgtggggcc 300
ggttctggcg tgaaacagac ttgaatfff gaccttctca agttggcggg agacgtggag 360
tccaaccagc ggcccatgtg gccccctggg tcagcctccc agccaccgcc ctacctgcc 420
gcggccacag gtctgcatcc agcggctcgc cctgtgtccc tgcagtgccg gctcagcatg 480
tgtccagcgc gcagcctcct cttgtggct acctgggtcc tctggacca cctcagttg 540
gccagaaacc tcccgtggc cactccagac ccaggaatgt tcccatgcct tcaccactcc 600
caaacctgc tgagggccgt cagcaacatg ctccagaagg ccagacaaac tctagaattt 660
tacccttga cttctgaaga gattgatcat gaagatatca caaaagataa aaccagcaca 720 30
gtggaggcct gtttaccatt ggaattaacc aagaatgaga gttgcctaaa ttccagagag 780
acctctttca taactaatgg gagttgctg gcctccagaa agacctcttt tatgatggcc 840
ctgtgcctta gtagtattta tgaagacttg aagatgtacc aggtggagtt caagaccatg 900
aatgcaaagc tctgatgga tccaaagagg cagatctttc tagatcaaaa catgctggca 960
gttattgatg agctgatgca ggccctgaat ttcaacagtg agactgtgcc acaaaaatcc 1020
tcccttgaag aaccggatft ttataaaact aaaatcaagc tctgcatact tcttcatgct 1080
ttcagaattc gggcagtgac tattgataga gtgatgagct atctgaatgc ttccggaagc 1140
ggagctacta acttcagcct gctgaagcag gctggagacg tggaggagaa ccctggacct 1200
atgtgtcacc agcagttggt catctcttgg tttccctgg ttttctggc atctcccctc 1260
gtggccatat gggaactgaa gaaagatgtt tatgtcgtag aattggattg gtatccggat 1320 40
gcccctggag aatggtggt cctcacctgt gacaccctg aagaagatgg tatcacctgg 1380
accttggacc agagcagtga ggtcttaggc tctggcaaaa ccctgacct ccaagtcaaa 1440
gagtttggag atgctggcca gtacacctgt cacaaaggag gcgaggttct aagccattcg 1500
ctcctgctgc ttcacaaaaa ggaagatgga atttggtcca ctgatatttt aaaggaccag 1560
aaagaacca aaaataagac ctttctaaga tgcgaggcca agaattattc tggacgtttc 1620
acctgctggt ggctgacgac aatcagtact gatttgacat tcagtgtaa aagcagcaga 1680
ggctctctg acccccaagg ggtgacgtgc ggagctgcta cactctctgc agagagagtc 1740
agaggggaca acaaggagta tgagtactca gtggagtgcc aggaggacag tgcctgcca
1800
gctgctgagg agagtctgcc cattgaggtc atggtggatg ccgttcacaa gctcaagtat 1860 50

```

gaaaactaca ccagcagctt cttcatcagg gacatcatca aacctgaccc acccaagaac 1920
 ttgcagctga agccattaaa gaattctcgg caggtggagg tcagctggga gtaccctgac 1980
 acctggagta ctccacattc ctacttctcc ctgacattct gcgttcaggc ccagggcaag 2040
 agcaagagag aaaagaaaga tagagtcttc acggacaaga cctcagccac ggatcatctgc 2100
 cgcaaaaatg ccagcattag cgtgcggggc caggaccgct actatagctc atcttggagc 2160
 gaatgggcat ctgtgccctg cagtgagggc agaggcagcc tgctgacctg cggcgacgtc 2220
 gaggagaacc ccggggcccat gggggcaggc gccaccggcc gcgcatgga cggggccgcg
 2280
 ctgctgctgt tgctgcttct ggggggtgtcc cttggagggtg ccaaggaggc atgccccaca 2340
 ggctgtaca cacacagcgg tgagtgtctc aaagcctgca acctgggcca ggggtgtggc 2400 10
 cagccttgtg gagccaacca gaccgtgtgt gagcctgcc tggacagcgt gacgttctcc 2460
 gacgtggtga gcgacaccga gccgtgcaag ccgtgcaccg agtgcgtggg gctccagagc
 2520
 atgtcggcgc cgtgcgtgga ggccgatgac gccgtgtgcc gctgcgccta cggctactac 2580
 caggatgaga cgactgggcg ctgcgagggc tgccgcgtgt gcgagggcggg ctggggcctc
 2640
 gtgttctcct gccaggacaa gcagaacacc gtgtgcgagg agtgccccga cggcacgtat 2700
 tccgacgagg ccaaccacgt ggaccctgtc ctgccctgca ccgtgtgcca ggacaccgag 2760
 cgccagctcc gcgagtgcac acgctggggc gacgccgagt gcgaggagat ccctggccgt 2820
 tggattacac ggtccacacc cccagagggc tcggacagca cagccccag caccagggag 2880 20
 cctgaggcac ctccagaaca agacctcata gccagcacgg tggcagggtgt ggtgaccaca 2940
 gtgatgggca gctcccagcc cgtggtgacc cgaggcacca ccgacaacct catccctgtc 3000
 tattgctcca tctggctgc tgtggttgtg ggtcttgtgg cctacatagc cttcaagagg 3060
 tgatctagag ggcccgttta aaccgctga tcagcctcga ctgtgccttc tagttgccag 3120
 ccactgtttg ttgcccctc ccccgctgct tcttgacc c tggaaagggtc cactcccact 3180
 gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc tgagttaggtg tcattctatt 3240
 ctgggggggtg ggggtggggca ggacagcaag ggggaggatt gggaagacaa tagcaggcat
 3300
 gctgggggatg cgggtgggctc tatgactagt ggcgaattcg gcgcagatca aagagagcct 3360
 gcgggcagag ctgagggtga cagggtgcggc ctgaggggcc ccggggcagg ggtgagctga 3420 30
 gccggtcctg ggggtgggtgt cccctcctgc acaggatcag gagctccagg gtcgtagggc 3480
 agggaccccc cagctccagt ccagggtctt gtccctgacc tggggaatgg tgaccggcat 3540
 ctctgtctc tagctctgga agcaccacag cccctctagt ctgccctcac cctgaccct 3600
 gaccctccac cctgaccccg tctaaccac tgaccttg 3639

210 36
 211 3017
 212 DNA
 213 artificial sequence

220
 223 Inserted matrice TRAC locus_CubiCAR CD22 (60 nucleotides up
 stream and downstream)
 400 36

atgagatcat gtcctaacc tgatcctctt gtcccacaga tatccagaac cctgaccctg 60
 ttgctgggccc ttttcccat gcctgcctt actctgccag agttatatt ctggggtttt 120
 gaagaagatc ctattaaata aaagaataag cagtattatt aagtagccct gcatttcagg 180
 tttccttgag tggcaggcca ggctgggccc tgaacgttca ctgaaatcat ggctcttgg 240
 ccaagattga tagcttgtgc ctgtccctga gtcccagtc atcacgagca gctggtttct 300
 aagatgctat ttcccgtata aagcatgaga ccgtgacttg ccagccccac agagccccgc 360
 cttgtccat cactggcatc tggactccag cctggggttg ggcaaagagg gaaatgagat 420 50

catgtcctaa cctgatcct ctgtcccac agatatccag taccctacg acgtgccga 480
ctacgcctcc ggtgaggca gaggaagtct tctaactgc ggtgacgtgg aggagaatcc 540
gggccccga tccgctctgc ccgtcaccgc tctgctgctg ccaactggcac tctgctgca 600
cgctgctagg cccggagggg gaggcagctg cccctacagc aaccccagcc tgtgcagcgg 660
aggcggcggc agcggcggag ggggtagcca ggtgcagctg cagcagagcg gcctggcct
720

ggtgaagcca agccagacac tgtccctgac ctgcccacac agcggcgatt ccgtgagctc 780
caactccgcc gcctggaatt ggatcaggca gtccccttct cggggcctgg agtggctggg 840
aaggacatac tatcggctta agtggtacaa cgattatgcc gtgtctgtga agagcagaat 900
cacaatcaac cctgacacct ccaagaatca gttctctctg cagctgaata gcgtgacacc 960
agaggacacc gccgtgtact attgcccag ggaggtgacc ggcgacctgg aggatgcctt 1020
tgacatctgg ggccagggca caatggtgac cgtgagctcc ggaggcggcg gatctggcgg 1080
aggaggaagt gggggcggcg ggagtgatat ccagatgaca cagtcccat cctctctgag 1140
cgcctccgtg ggcgacagag tgacaatcac ctgtagggcc tcccagacca tctggtctta 1200
cctgaactgg tatcagcaga ggcccggcaa ggccccta ctgctgatct acgcagcaag 1260
ctcctgacag agcggagtgc catccagatt ctctggcagg ggctccggca cagacttcac 1320
cctgaccatc tctagcctgc aggccgagga ctccgccacc tactattgcc agcagtctta 1380
tagcatcccc cagacatttg gccagggcac caagctggag atcaagtcgg atcccggaag 1440
cggaggggga ggcagctgcc cctacagcaa ccccagcctg tgcagcggag gcggcggcag
1500

cgagctgcc acccagggca cttctccaa cgtgtccacc aacgtgagcc cagccaagcc 1560
caccaccacc gcctgtcctt attccaatcc ttccctgtgt gctcccacca caacccccgc 1620
tccaaggccc cctacccccg caccaactat tgcctcccag ccaactctac tgcggcctga 1680
ggcctgtcgg cccgctgctg gaggcgcagt gcatacaagg ggcctcgatt tgcctgca 1740
tatttacatc tgggcacccc tgcgggcac ctgcccgggtg cttctcctct cctgggtgat 1800
taccctgtat tgcagacggg gccggaagaa gctcctctac attttaagc agcctttcat 1860
gcccagctg cagacaacc aagaggagga tgggtgttcc tgcagattcc ctgaggaaga 1920
ggaaggcggg tgcgagctga gagtgaagt ctccaggagc gcagatgcc ccgcctatca 1980
acagggccag aaccagctct acaacgagct taacctcggg aggcgcgaag aatacagct 2040
gttgataag agaagggggc gggaccccga gatgggagga aagccccgga ggaagaacc
2100

tcaggagggc ctgtacaacg agctgcagaa ggataagatg gccgaggcct actcagagat 2160
cgggatgaag ggggagcggc gccgcgggaa ggggcacgat gggctctacc aggggctgag
2220
cacagccaca aaggacacat acgacgcctt gcacatgcag gcccttccac cccgggaata 2280
gtctagaggg cccgtttaa cccgctgatc agcctcgact gtgccttcta gttgccagcc 2340
atctgtgtt tgcctctccc ccgtgccttc ctgaccctg gaaggtgcca ctcccactgt 2400
ctttcctaa taaaatgagg aaattgcac gcattgtctg agtaggtgtc attctattct 2460
ggggggtggg gtggggcagg acagcaagg ggaggattgg gaagacaata gcaggcatgc
2520

tggggatgcg gtgggctcta tgactagtgg cgaattccc tgtaccagct gagagactct 2580
aatccagtg acaagtctgt ctgcctattc accgatittg attctcaaac aaatgtgtca 2640
caaagtaagg attctgatgt gtatatcaca gacaaaactg tgctagacat gaggtctatg 2700
gacttcaaga gcaacagtgc tgtggcctgg agcaacaaat ctgactttgc atgtgcaaac 2760
gccttcaaca acagcattat tccagaagac accttcttcc ccagcccagg taagggcagc 2820
tttgggtgct tgcagggctg tttccttgct tcaggaatgg ccaggttctg cccagagctc 2880
tggtaaatga tgtctaaaac tcctctgatt ggtgggtctc gccttatcca ttgccaccaa 2940
aacctcttt ttactaagaa acagtgagcc ttgttctggc agtccagaga atgacacggg 3000
aaaaaagcag atgaaga 3017

211 2808
 212 DNA
 213 artificial sequence
 220
 223 Inserted matrice CD25 locus_IL15_2A_sIL15Ra (60 nucleotides
 upstream and downstream)
 400 37
 agtgctggct agaaaccaag tgctttactg catgcacatc atttagcaca gttagttgct 60
 gtttattatt cctgttccac agctattgtc tgccatataa aaacttaggc caggcacagt 120
 ggctcacacc tgtaatccca gcactttgga aggccgaggc aggcagatca caaggtcagg 180 10
 agttcgagac cagcctggcc aacatagcaa aaccccatct ctactaaaaa taaaaaatt 240
 agccaggcat ggtggcgtgt gcactggttt agagtgagga ccacattttt ttggtgccgt 300
 gttacacata tgaccgtgac ttgtttacac cactacagga ggaagagtag aagaacaatc 360
 ggttctggcg tgaacagac ttgaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag 420
 tccaaccag ggcccgttac cgggtccgcc accatggact ggacctggat tctgttcctc 480
 gtggctgctg ctacaagagt gcacagcggc attcatgtct tcattttggg ctgtttcagt 540
 gcagggcttc ctaaacagaga agccaactgg gtgaatgtaa taagtattt gaaaaaatt 600
 gaagatctta tcaatctat gcatattgat gctactttat atacggaaag tgatgttcac 660
 ccagttgca aagtaacagc aatgaagtgc tttctctgg agttacaagt tatttactt 720
 gagtccggag atgcaagtat tcatgataca gtagaaaatc tgatcatcct agcaaacac 780 20
 agttgtctt ctaatgggaa tgtaacagaa tctggatgca aagaatgtga ggaactggag 840
 gaaaaaata ttaaagaatt ttgacagagt ttgtacata ttgtccaaat gttcatcaac 900
 acttctggaa gcggagctac taacttcagc ctgctgaagc aggctggaga cgtggaggag 960
 aacctggac ctgggaccgg ctctgcaacc atggattgga cgtggatcct gtttctcgtg 1020
 gcagctgcca caagagttca cagtatcacg tgccctcccc ccatgtccgt ggaacacgca 1080
 gacatctggg tcaagagcta cagcttgtag tccaggagc ggtacatttg taactctggt 1140
 ttcaagcgtg aagccggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccacgaat 1200
 gtcgccact ggacaacccc cagtctcaaa tgcatlagag acctgccct ggttcaccaa 1260
 aggccagcgc caccctccac agtaacgacg gcaggggtga cccacagcc agagagcctc 1320 30
 tccccttctg gaaaagagcc cgcagcttca tctcccagct caaacaacac agcggccaca 1380
 acagcagcta ttgtcccggg ctcccagctg atgccttcaa aatcaccttc cacaggaacc 1440
 acagagataa gcagtcatga gtctccac gccaccccct ctacagacaac agccaagaac 1500
 tgggaactca cagcatccgc ctcccaccag ccgccaggtg tgtatccaca gggccacagc 1560
 gacaccactg agggcagagg cagcctgctg acctgcggcg acgtcgagga gaaccccggg 1620
 cccatggggg caggtgccac cggccgcgcc atggacgggc cgcgcctgct gctgttgctg 1680
 cttctggggg tgtcccttgg aggtgccaaag gaggcatgcc ccacaggcct gtacacacac 1740
 agcggtgagt gctgcaaagc ctgcaacctg ggcgaggggtg tggcccagcc ttgtggagcc 1800
 aaccagaccg tgtgtgagcc ctgcctggac agcgtgacgt tctccgacgt ggtgagcgcg 1860 40
 accgagccgt gcaagccgtg caccgagtgc gtggggctcc agagcatgtc ggcgcccgtg 1920
 gtggaggccg atgacgccgt gtgccgtgc gcctacggct actaccagga tgagacgact 1980
 gggcgctgcg aggcgtgccg cgtgtgcgag gcgggctcgg gcctcgtgtt ctctgccag 2040
 gacaagcaga acaccgtgtg cgaggagtgc cccgacggca cgtattccga cgaggccaac 2100
 cacgtggacc cgtgcctgcc ctgcaccgtg tgcgaggaca ccgagcgcca gctccgag 2160
 tgcacacgct gggccgacgc cgagtgcgag gagatccctg gccgttggat tacacggtcc 2220
 acacccccag agggctcggg cagcacagcc cccagcacc aggagcctga ggcacctcca 2280
 gaacaagacc tcatagccag cacggtggca ggtgtgggtga ccacagtgt gggcagctcc 2340 50

cagcccgtgg tgacccgagg caccaccgac aacctcatcc ctgtctattg ctccatcctg 2400
gctgctgtgg ttgtgggtct tgtggcctac atagccttca agaggtgaaa aacccaaaaga 2460
acaagaatft cttggtaaga agccgggaac agacaacaga agtcatgaag cccaagtga 2520
atcaaagggtg ctaaattggtc gccaggaga catccgttgt gcttgcctgc gttttggaag 2580
ctctgaagtc acatcacagg acacggggca gtggcaacct tgtctctatg ccagctcagt 2640
cccatcagag agcgagcgct acccacttct aaatagcaat ttcgccgttg aagaggaag 2700
gcaaaaccac tagaactctc catcttattt tcatgtatat gtgttcatta aagcatgaat 2760
ggfatggaac tctctccacc ctatatgtag tataaagaaa agtaggtt 2808

210 38

211 3084

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 Inserted matrice PD1 locus_IL15_2A_sIL15Ra (60 nucleotides upstream and downstream)

400 38

ggtggccggg gaggctttgt ggggccaccc agccccttcc tcacctctct ccattctctca 60
gactccccag acaggccctg gaaccccccc accttctccc cagccctgct cgtggtgacc 120
gaaggggaca acgccacctt cacctgcagc ttctccaaca catcggagag cttcgtgcta 180
aactggtacc gcatgagccc cagcaaccag acggacaagc tggccgcctt ccccgaggac 240
cgagccagc ccggccagga ctgccgctc cgtgtcacac aactgcccaa cgggcgtgac 300
ttccacatga gcgtggtcag ggcccggcgc aatgacagcg gcacctacct ctgtggggcc 360
ggttctggcg taaaacagac ttgaatftt gaccttctca agttggcggg agacgtggag 420
tccaaccag ggcccgttac cgggtccgcc accatggact ggacctgat tctgttcctc 480
gtggctgctg ctacaagagt gcacagcggc attcatgtct tcattttggg ctgtttcagt 540
gcagggcttc ctaaaacaga agccaactgg gtgaatgtaa taagtattt gaaaaaatt 600
gaagatctta ttcaatctat gcatattgat gctactttat atacggaaag tgatgttcac 660
cccagttgca aagtaacagc aatgaagtgc ttctcttgg agttacaagt tatttcaactt 720
gagtccggag atgcaagtat tcatgataca gtagaaaatc tgatcatcct agcaaacac 780
agtttgtctt ctaatgggaa tgtaacagaa tctggatgca aagaatgtga ggaactggag 840
gaaaaaata ttaaagaatt ttgacagagt ttgtacata ttgtccaat gttcatcaac 900
acttctggaa gcggagctac taacttcagc ctgctgaagc aggctggaga cgtggaggag 960
aacctggac ctgggaccgg ctctgcaacc atggattgga cgtggatcct gtttctcgtg 1020
gcagctgcca caagagttca cagtatcacg tgccctccc ccattgtccgt ggaacacgca 1080
gacatctggg tcaagagcta cagcttctac tccaggagc ggtacatttg taactctggt 1140
ttcaagcgt aagccggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccacgaat 1200
gtcggccact ggacaacccc cagtctcaaa tgcattagag accctgccct ggttcaccaa 1260
aggccagcgc caccctccac agtaacgacg gcaggggtga cccacagcc agagagcctc 1320

tccccttctg gaaaagagcc cgcagcttca tctcccagct caaacaacac agcggccaca 1380
acagcagcta ttgtcccggg ctcccagctg atgccttcaa aatcaccttc cacaggaacc 1440
acagagataa gcagtcata gtctctccac ggcaccccct ctacagacaac agccaagaac 1500
tggaactca cagcatccgc ctcccaccag ccggcagggtg tgtatccaca gggccacagc 1560
gacaccactg agggcagagg cagcctgctg acctgcggcg acgtcgagga gaaccccggg 1620

cccatggggg caggtgccac cggccgcgcc atggacgggc cgcgcctgct gctgttgctg 1680
cttctggggg tgtcccttgg aggtgccaaag gaggcatgcc ccacaggcct gtacacacac 1740
agcggtgagt gctgcaaagc ctgcaacctg ggcgagggtg tggcccagcc ttgtggagcc 1800
aaccagaccg tgtgtgagcc ctgcctggac agcgtgacgt tctccgacgt ggtgagcgcg 1860
accgagccgt gcaagccgtg caccgagtgc gtggggctcc agagcatgtc ggcgcccgtgc 1920

10

20

30

40

50

gtggaggccg atgacgccgt gtgccgctgc gcctacggct actaccagga tgagacgact 1980
 gggcgctgcg aggcgtgccg cgtgtgcgag gcgggctcgg gcctcgtgtt ctccctgccag 2040
 gacaagcaga acaccgtgtg cgaggagtgc cccgacggca cgtattccga cgaggccaac
 2100

cacgtggacc cgtgcctgcc ctgcaccgtg tgcgaggaca ccgagcgcca gctccgcgag 2160
 tgcacacgct gggccgacgc cgagtgcgag gagatccctg gccgttggat tacacggctc 2220
 acacccccag agggctcggg cagcacagcc cccagcacc aggagcctga ggcacctcca
 2280

gaacaagacc tcatagccag cacgggtggca ggtgtgggta ccacagtgat gggcagctcc 2340
 cagcccgtgg tgacccgagg caccaccgac aacctcatcc ctgtctattg ctccatcctg 2400
 gctgctgtgg ttgtgggtct tgtggcctac atagccttca agagggtgatc tagagggccc 2460
 gtttaaaccg gctgatcagc ctgactgtg ctttctagt gccagccatc tgttgtttgc 2520
 cctcccccg tgccttcctt gaccctggaa ggtgccactc ccactgtcct ttccataataa 2580
 aatgaggaaa ttgcatcgca ttgtctgagt aggtgtcatt ctattctggg ggggtggggtg 2640
 gggcaggaca gcaaggggga ggattgggaa gacaatagca ggcatgctgg ggatgcggtg
 2700

ggctctatga ctagtggcga attcggcgca gatcaaagag agcctgcggg cagagctcag 2760
 ggtgacaggt gcggcctcgg agggccccgg gcagggggtga gctgagccgg tcctggggtg
 2820

ggtgtcccct cctgcacagg atcaggagct ccagggtcgt agggcaggga cccccagct 2880
 ccagtccagg gctctgtcct gcacctgggg aatggtgacc ggcatctctg tcctctagct 2940
 ctggaagcac cccagcccct ctagtctgcc ctcaccctg accctgacct tccacctga 3000
 cccgctccta acccctgacc tttgtgccct tccagagaga agggcagaag tgcccacagc 3060
 ccacccagc cctcaccga gcc 3084

210 39

211 3475

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 Inserted matrice CD25 locus_IL12a_2A_IL12b (60 nucleotides upstream and downstream) 30

400 39

agtgctggct agaaaccaag tgctttactg catgcacatc atttagcaca gttagtgtct 60
 gtttattatt cctgttccac agctattgtc tgccatataa aaacttaggc caggcacagt 120
 ggctcacacc tgtaatccca gcactttgga aggccgaggc aggcagatca caaggctcagg 180
 agttcgagac cagcctggcc aacatagcaa aaccccatct ctactaaaaa taaaaaatt 240
 agccaggcat ggtggcgtgt gcaactggtt agagttagga ccacattttt ttggtgccgt 300
 gttacacata tgaccgtgac tttgttacac cactacagga ggaagagtag aagaacaatc 360
 ggttctggcg tgaacagac ttggaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag 420
 tccaaccag ggccatgtg gccccctggg tcagcctccc agccaccgcc ctcacctgcc 480
 gcgccacag gtctgcatcc agcggctcgc cctgtgtccc tgcagtgccg gctcagcatg 540
 tgtccagcgc gcagcctcct cttgtggct accctggctc tcctggacca cctcagttg 600
 gccagaaacc tcccctggc cactccagac ccaggaatgt tccatgcct tcaccactcc 660
 caaaacctgc tgagggccgt cagcaacatg ctccagaagg ccagacaaac tctagaattt 720
 tacccttgca cttctgaaga gattgatcat gaagatatca caaaagataa aaccagcaca 780
 gtggaggcct gtttaccatt ggaattaacc aagaatgaga gttgcctaaa ttccagagag 840
 acctctttca taactaatgg gagttgctg gcctccagaa agacctctt tatgatggcc 900
 ctgtgcctta gtagtattta tgaagacttg aagatgtacc aggtggagtt caagaccatg 960
 aatgcaaagc ttctgatgga tcctaagagg cagatctttc tagatcaaaa catgctggca 1020
 gttattgatg agctgatgca ggccctgaat ttcaacagtg agactgtgcc aaaaaatcc 1080

10

20

30

40

50

tcccttgaag aaccggattt ttataaaact aaaatcaagc tctgcatact tcttcatgct 1140
 ttcagaattc gggcagtgac tattgataga gtgatgagct atctgaatgc ttccggaagc 1200
 ggagctacta acttcagcct gctgaagcag gctggagacg tggaggagaa ccctggacct 1260
 atgtgtcacc agcagttggt catctcttgg tttccctgg ttttctggc atctcccctc 1320
 gtggccatat gggaactgaa gaaagatggt tatgtcgtag aattggattg gtatccggat 1380
 gcccctggag aaatggtggt ctcacctgt gacaccctg aagaagatgg taccacctgg 1440
 accttgacc agagcagtga ggtcttaggc tctggcaaaa ccctgacct ccaagtcaaa 1500
 gagtttggag atgctggcca gtacacctgt cacaaaggag gcgaggttct aagccattcg 1560
 ctctgctgc ttcacaaaaa ggaagatgga atttggtcca ctgatatttt aaaggaccag 1620
 aaagaaccca aaaataagac ctttctaaga tgcgaggcca agaattattc tggacgtttc 1680
 acctgctggt ggtgacgac aatcagctact gatttgacat tcagtgtaa aagcagcaga 1740
 ggctcttctg accccaagg ggtgacgtgc ggagctgcta cactctctgc agagagagtc 1800
 agaggggaca acaaggagta tgagtactca gtggagtgcc aggaggacag tgctgacca
 1860
 gctgctgagg agagtctgcc cattgaggtc atggtggatg ccgttcacaa gctcaagtat 1920
 gaaaactaca ccagcagctt ctcatcagg gacatcatca aacctgacct acccaagaac 1980
 ttgcagctga agccattaaa gaattctcgg caggtggagg tcagctggga gtacctgac 2040
 acctggagta ctccacattc ctacttctcc ctgacattct gcgttcaggc ccagggcaag 2100
 agcaagagag aaaagaaaga tagagtcttc acggacaaga cctcagccac ggtcatctgc 2160
 cgcaaaaatg ccagcattag cgtgcgggcc caggaccgct actatagctc atcttggagc 2220
 gaatgggcat ctgtgccctg cagtgagggc agaggcagcc tgctgacctg cggcgacgtc 2280
 gaggagaacc ccgggccccat gggggcaggt gccaccggcc gcgcatgga cgggccgccc
 2340
 ctgctgctgt tgctgcttct gggggtgtcc cttggaggtg ccaaggaggc atgccccaca 2400
 ggctgtaca cacacagcgg tgagtgtctc aaagcctgca acctgggcca ggggtgtggcc 2460
 cagccttgtg gagccaacca gaccgtgtgt gagccctgcc tggacagcgt gacgttctcc 2520
 gacgtggtga gcgacaccga gccgtgcaag ccgtgcaccg agtgcgtggg gctccagagc
 2580
 atgtcggcgc cgtgcgtgga ggccgatgac gccgtgtgcc gctgcgccta cggctactac 2640
 caggatgaga cgactgggcg ctgagagggc tgccgcgtgt gcgaggcggg ctggggctc
 2700
 gtgttctcct gccaggacaa gcagaacacc gtgtgagagg agtgccccga cggcacgtat 2760
 tccgacgagg ccaaccacgt ggaccctgtc ctgccctgca ccgtgtgca ggacaccgag 2820
 cgccagctcc gcgagtgcac acgctgggcc gacgccgagt gcgaggagat ccctggccgt 2880
 tggattacac ggtccacacc cccagagggc tcggacagca cagccccag caccagggag 2940
 cctgaggcac ctccagaaca agacctcata gccagcacgg tggcaggtgt ggtgaccaca 3000
 gtgatgggca gctcccagcc cgtggtgacc cgaggcacca ccgacaacct catccctgtc 3060
 tattgctcca tctggctgc tgtggttgtg ggtcttgtgg cctacatagc cttcaagagg 3120
 tgaaaaacca aaagaacaag aatttcttgg taagaagccg ggaacagaca acagaagtca 3180
 tgaagcccaa gtgaaatcaa aggtgctaaa tggtcgcca ggagacatcc gttgtgcttg 3240
 cctgcgtttt ggaagctctg aagtcacatc acaggacacg gggcagtggc aacctgtct 3300
 ctatgccagc tcagtcccat cagagagcga gcgctacca cttctaaata gcaatttcgc 3360
 cgttgaagag gaagggcaaa accactagaa ctctccatct tattttcatg tatatgtgtt 3420
 catgaatggt atggaactct ctccacccta tatgtagtat aaagaaaagt aggtt 3475

10

20

30

40

210 40

211 3759

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 Inserted matrice PD1 locus_IL12a_2A_IL12b (60 nucleotides u 50

pstream and downstream)

400 40

ggtggccggg gaggctttgt ggggccaccc agccccttcc tcacctctct ccactctctca 60
 gactccccag acaggccctg gaaccccccc accttctccc cagccctgct cgtggtgacc 120
 gaaggggaca acgccacctt cacctgcagc ttctccaaca catcggagag cttcgtgcta 180
 aactggtacc gcatgagccc cagcaaccag acggacaagc tggccgcctt ccccgaggac 240
 cgcagccagc ccggccagga ctgccgcttc cgtgtcacac aactgcccaa cgggcgtgac 300
 ttccacatga gcgtggtcag ggcccggcgc aatgacagcg gcacctacct ctgtggggcc 360
 ggttctggcg tgaacagac ttgaaatftt gaccttctca agttggcggg agacgtggag 420
 tccaaccag ggcccatgtg gcccctggg tcagcctccc agccaccgcc ctccactgcc 480 10
 gcggccacag gtctgcatcc agcggctcgc cctgtgtccc tgcagtgccg gctcagcatg 540
 tgtccagcgc gcagcctcct cttgtggct accctggctc tcctggacca cctcagtttg 600
 gccagaaacc tcccgtggc cactccagac ccaggaatgt tcccatgcct tcaccactcc 660
 caaacctgc tgagggccgt cagcaacatg ctccagaagg ccagacaaac tctagaatft 720
 tacctttgca cttctgaaga gattgatcat gaagatatca caaagataa aaccagcaca 780
 gtggaggcct gtttaccatt ggaattaacc aagaatgaga gttgcctaaa ttccagagag 840
 acctctttca taactaatgg gagttgcctg gcctccagaa agacctcttt tatgatggcc 900
 ctgtgcctta gtagtattta tgaagacttg aagatgtacc aggtggagtt caagacctg 960
 aatgcaaagc ttctgatgga tcctaagagg cagatctttc tagatcaaaa catgctggca 1020
 gttattgatg agctgatgca ggccctgaat ttcaacagtg agactgtgcc acaaaaatcc 1080 20
 tcccttgaag aaccggatftt ttataaaact aaaatcaagc tctgcatact tttcatgct 1140
 ttcagaattc gggcagtgac tattgataga gtgatgagct atctgaatgc ttccggaagc 1200
 ggagctacta acttcagcct gctgaagcag gctggagacg tggaggagaa ccctggacct 1260
 atgtgtcacc agcagttggt catctcttgg tttccctgg ttttctggc atctcccctc 1320
 gtggccatat gggaactgaa gaaagatgft tatgtcgtag aattggattg gtatccggat 1380
 gcccctggag aaatggtggt cctcacctgt gacaccctg aagaagatgg tatcacctgg 1440
 accttggacc agagcagtgga ggtcttaggc tctggcaaaa ccctgacct ccaagtcaaa 1500
 gagtttggag atgctggcca gtacacctgt cacaaaggag gcgaggttct aagccattcg 1560
 ctctgtctgc ttcacaaaaa ggaagatgga atttggtcca ctgatatttt aaaggaccag 1620
 aaagaaccca aaaataagac ctttctaaga tgcgaggcca agaattattc tggacgtttc 1680 30
 acctgctggt ggctgacgac aatcagtact gatttgacat tcagtgtcaa aagcagcaga 1740
 ggctcttctg acccccaagg ggtgacgtgc ggagctgcta cactctctgc agagagagtc 1800
 agaggggaca acaaggagta tgagtactca gtggagtgcc aggaggacag tgcctgcccc
 1860

gctgctgagg agagtctgcc cattgaggtc atggtggatg ccgttcacaa gctcaagtat 1920
 gaaaactaca ccagcagctt cttcatcagg gacatcatca aacctgacct acccaagaac 1980
 ttgcagctga agccattaaa gaattctcgg caggtggagg tcagctggga gtacctgac 2040
 acctggagta ctccacattc ctacttctcc ctgacattct gcgttcagggt ccagggcaag 2100
 agcaagagag aaaagaaaga tagagtcttc acggacaaga cctcagccac ggtcatctgc 2160
 cgaaaaatg ccagcattag cgtgcgggcc caggaccgct actatagctc atcttggagc 2220 40
 gaatgggcat ctgtgccctg cagtgagggc agaggcagcc tgctgacctg cggcgacgtc 2280
 gaggagaacc ccgggccccat gggggcagggt gccaccggcc gcgcatgga cgggccgccc
 2340

ctgctgctgt tgctgcttct ggggggtgtcc cttggaggtg ccaaggaggc atgccccaca 2400
 ggctgtaca cacacagcgg tgagtgtctc aaagcctgca acctgggcga ggggtgtggcc 2460
 cagccttgtg gagccaacca gaccgtgtgt gagccctgcc tggacagcgt gacgttctcc 2520
 gacgtggtga gcgcgaccga gccgtgcaag ccgtgcaccg agtgcgtggg gctccagagc
 2580

atgtcggcgc cgtgcgtgga ggccgatgac gccgtgtgcc gctgcgccta cggctactac 2640
 caggatgaga cgactgggcg ctgcgaggcg tgccgcgtgt gcgaggcggg ctcgggcctc 50

2700

gtgttctcct gccaggacaa gcagaacacc gtgtgcgagg agtgccccga cggcacgtat 2760
 tccgacgagg ccaaccacgt ggacccgtgc ctgccctgca ccgtgtgcca ggacaccgag 2820
 cgccagctcc gcgagtgcac acgctgggcc gacgccgagt gcgaggagat ccctggccgt 2880
 tggattacac ggtccacacc cccagagggc tcggacagca cagccccag caccagggag 2940
 cctgaggcac ctccagaaca agacctcata gccagcacgg tggcaggtgt ggtgaccaca 3000
 gtgatgggca gctcccagcc cgtggtgacc cgaggcacca ccgacaacct catccctgtc 3060
 tattgctcca tcctggctgc tgtggttgtg ggtcttgtgg cctacatagc cttcaagagg 3120
 tgatctagag ggcccgttta aaccgctga tcagcctcga ctgtgccttc tagttgccag 3180
 ccatctgttg ttgcccctc ccccgctgcct tccttgacc tggaaggtgc cactcccact 3240 10
 gtcctttcct aataaaatga ggaaattgca tcgcattgtc tgagtaggtg tcattctatt 3300
 ctggggggtg ggggtggggca ggacagcaag ggggaggatt gggaagacaa tagcaggcat
 3360

gctgggggatg cgggtgggctc tatgactagt ggcgaattcg gcgcagatca aagagagcct 3420
 gcgggcagag ctgagggtga cagggtcggc ctgaggaggcc ccggggcagg ggtgagctga
 3480

gccggtcctg ggggtgggtgt cccctcctgc acaggatcag gagctccagg gtcgtagggc 3540
 agggaccccc cagctccagt ccagggtctt gtccctgcacc tggggaatgg tgaccggcat 3600
 ctctgtcctc tagctctgga agcaccacag cccctctagt ctgccctcac ccctgaccct 3660
 gaccctccac cctgaccccg tcctaacccc tgacctttgt gcccttccag agagaagggc 3720 20
 agaagtgcc acagcccacc ccagcccctc acccaggcc 3759

210 41

211 60

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 upstream TRAC locus polynucleotide sequence

400 41

atgagatcat gtcctaaccc tgatcctctt gtcccacaga tatccagaac cctgaccctg 60

210 42

211 60

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 downstream TRAC locus polynucleotide sequence

400 42

gaaacagtga gccttgttct ggcagtccag agaatgacac gggaaaaaag cagatgaaga 60

210 43

211 60

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 upstream CD25 locus polynucleotide sequence

400 43

agtgctggct agaaaccaag tgctttactg catgcacatc atttagcaca gttagttgct 60

210 44

211 52

212 DNA

213 artificial sequence

220

50

223 downstream CD25 locus polynucleotide sequence
 400 44
 gaatggtatg gaactctctc caccctatat gtagtataaa gaaaagtagg tt 52
 210 45
 211 60
 212 DNA
 213 artificial sequence
 220
 223 upstream PD1 locus polynucleotide sequence
 400 45 10
 ggtggccggg gaggcttgt ggggccaccc agccccttc tcacctctct ccatctctca 60
 210 46
 211 60
 212 DNA
 213 artificial sequence
 220
 223 downstream PD1 locus polynucleotide sequence
 400 46
 tgccttcca gagagaaggg cagaagtgcc cacagcccac cccagcccct caccagggcc 60
 210 47 20
 211 759
 212 DNA
 213 artificial sequence
 220
 223 IL-12a polynucleotide
 400 47
 atgtggcccc ctgggtcagc ctcccagcca ccgccctcac ctgccgaggc cacaggtctg 60
 catccagcgg ctgccctgt gtccctgcag tgccggctca gcatgtgtcc agcgcgcagc 120
 ctctccttg tggctaccct ggtcctcctg gaccacctca gtttggccag aaacctcccc 180
 gtggccactc cagaccagg aatgttcca tgccttcacc actcccmeta cctgctgagg 240 30
 gccgtcagca acatgctcca gaaggccaga caaactctag aattttacc ttgcacttct 300
 gaagagattg atcatgaaga taccacmeta gataaaacca gcacagtga ggccctgtta 360
 ccattggaat taaccaagaa tgagagttgc ctaaattcca gagagacctc tttcataact 420
 aatgggagtt gcctggcctc cagaaagacc tctttatga tggccctgtg ccttagtagt 480
 atttatgaag acttgaagat gtaccagggt gagttcaaga ccatgaatgc aaagcttctg 540
 atggatccta agaggcagat ctttctagat caaacatgc tggcagttat tgatgagctg 600
 atgcaggccc tgaatttcaa cagtgcagact gtgccacmeta aatcctccct tgaagaaccg 660
 gattttata aaactmeta caagctctgc atacttctc atgctttcag aattcggggca 720
 gtgactattg atagagtgat gagctatctg aatgcttcc 759
 210 48 40
 211 984
 212 DNA
 213 artificial sequence
 220
 223 IL12b polynucleotide
 400 48
 atgtgtcacc agcagttggt catctcttgg tttccctgg ttttctggc atctcccctc 60
 gtggccatat gggaactgaa gaaagatgtt tatgtcgtag aattggattg gtatccggat 120
 gccctggag aatgggtggt cctcacctgt gacaccctg aagaagatgg tatcacctgg 180
 acctggacc agagcagtga ggtcttaggc tctggcmeta cctgacat ccaagtmeta 240 50

gagtttggag atgctggcca gtacacctgt cacaaaggag gcgaggttct aagccattcg 300
ctctgctgc ttcacaaaaa ggaagatgga atttggcca ctgatatttt aaaggaccag 360
aaagaaccca aaaataagac ctttctaaga tgcgaggcca agaattattc tggacgttc 420
acctgctggt ggctgacgac aatcagtagt gatttgacat tcagtgtaa aagcagcaga 480
ggctcttctg acccccaagg ggtgacgtgc ggagctgcta cactctctgc agagagagtc 540
agaggggaca acaaggagta tgagtactca gtggagtgcc aggaggacag tgcctgcca 600
gctgctgagg agagtctgcc cattgaggtc atggtggatg ccgttcacaa gctcaagtat 660
gaaaactaca ccagcagctt cttcatcagg gacatcatca aacctgacct acccaagaac 720
ttgcagctga agccattaaa gaattctcgg cagggtggagg tcagctggga gtacctgac 780
acctggagta ctccacattc ctacttctcc ctgacattct gcgttcagg ccagggcaag 840 10
agcaagagag aaaagaaaga tagagtcttc acggacaaga ctcagccac ggtcatctgc 900
cgcaaaaatg ccagcattag cgtgcgggcc caggaccgct actatagctc atcttggagc 960
gaatgggcat ctgtgccctg cagt 984
210 49
211 399
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 IL15 polynucleotide
400 49 20
ggcattcatg tcttcatttt gggctgtttc agtgcagggc ttcctaaaac agaagccaac 60
tgggtgaatg taataagtga ttgaaaaaa attgaagatc ttattcaatc tatgcatatt 120
gatgctactt tatatacgga aagtgatgtt caccacagtt gcaaagtaac agcaatgaag 180
tgctttctct tggagttaca agttatttca ctgagtgccg gagatgcaag tattcatgat 240
acagtagaaa atctgatcat cctagcaaac aacagtttgt cttctaattg gaatgtaaca 300
gaatctggat gcaaagaatg tgaggaactg gaggaaaaaa atattaaaga atttttgcag 360
agttttgtac atattgtcca aatgttcac aacacttct 399
210 50
211 525
212 DNA 30
213 artificial sequence
220
223 sIL15ra polynucleotide
400 50
atcacgtgcc ctcccccat gtccgtggaa cacgcagaca tctgggtcaa gagctacagc 60
ttgtactcca gggagcggta catttgtaac tctggtttca agcgtaaagc cggcacgtcc 120
agcctgacgg agtgcgtgtt gaacaaggcc acgaatgtcg cccactggac aacccccagt 180
ctcaaatgca ttagagacct tgccctgggt caccaaaggc cagcgcacc ctccacagta 240
acgacggcag gggtgacccc acagccagag agcctctccc cttctggaaa agagcccgca 300
gcttcatctc ccagctcaaa caacacagcg gccacaacag cagctattgt cccgggctcc 360 40
cagctgatgc cttcaaaatc accttccaca ggaaccacag agataagcag tcatgagtcc 420
tcccacggca ccccctctca gacaacagcc aagaactggg aactcacagc atccgcctcc 480
caccagccgc cagggtgtgta tccacagggc cacagcgaca ccaact 525
210 51
211 1818
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 soluble GP130 polynucleotide
400 51 50

```

atgctgacac tgcagacttg gctgggtgcag gcactgttta tttttctgac tactgaatca      60
actggcgaac tgctggaccc ttgtggctac atcagccctg agtccccagt ggtgcagctg      120
cacagcaact tcaccgccgt gtgctgtgctg aaggagaagt gtatggacta ctttcacgtg      180
aacgccaaat atatcgtgtg gaaaaccaac cacttcacaa tccccaagga gcagtacacc      240
atcatcaata ggacagccag ctccgtgacc tttacagaca tcgcctccct gaacatccag      300
ctgacctgca atatcctgac attcggccag ctggagcaga acgtgtatgg catcaccatc      360
atctctggcc tgccccctga gaagcctaag aacctgagct gcatcgtgaa tgagggcaag      420
aagatgCGGT gtgagtggga cggcggcaga gagacacacc tggagacaaa cttcacccctg      480
aagtccgagt gggccacaca caagtttgcc gactgcaagg ccaagcgcga tacccaaca      540
tcctgtaccg tggattactc tacagtgtat tttgtgaaca tcgaagtgtg ggtggaggcc      600  10
gagaatgccc tgggcaaggt gacctccgac cacatcaact tcgatcccgt gtacaaggtg      660
aagcctaacc caccacaaa tctgagcgtg atcaattccg aggagctgtc tagcatcctg      720
aagctgacct ggacaaacc atctatcaag agcgtgatca tcctgaagta caatatccag      780
tatcggacca aggacgcctc cacatggagc cagatccctc cagaggatac cgccagcaca      840
agatcctctt tcaccgtgca ggacctgaag cccttcacag agtacgtgtt tcggatcaga      900
tgtatgaagg aggacggcaa gggctactgg agcgattggt ccgaggaggc cagcggcatc      960
acctatgagg acaggccttc taaggcccc agcttctggt acaagatcga tccatcccac     1020
accagggtct atcgcacagt gcagctggtg tggaaaacc tgccccctt cgaggccaac     1080
ggcaagatcc tggactacga ggtgacctg acacggtgga agtcccacct gcagaactat     1140
accgtgaatg ccaccaagct gacagtgaac ctgacaaatg atcggtaact ggccaccctg     1200  20
acagtgagaa acctggtggg caagtctgac gccgccgtgc tgaccatccc tgcttgcgat     1260
ttccaggcca cacaccagt gatggacctg aaggcctttc ccaaggataa tatgctgtgg     1320
gtggagtggg ccacacctag agagtccgtg aagaagtaca tcctggagtg gtgctgtctg     1380
tctgacaagg ccccatgtat caccgactgg cagcaggagg atggcaccgt gcacaggaca     1440
tatctgcgcg gcaacctggc cgagtctaag tttacctga tcaccgtgac acccgtgtat     1500
gcagacggac caggctctcc tgagagcatc aaggcctacc tgaagcaggc accaccaagc     1560
aagggaccaa ccgtgcggac aaagaaggtc ggcaagaatg aggccgtgct ggagtgggac
1620
cagctgcctg tggatgtgca gaacggcttc atcaggaatt acaccatctt ttatgcaca     1680
atcatcggca acgagacagc cgtgaatgtg gacagctccc acaccgagta tacactgtct     1740  30
agcctgacct ccgatacact gtacatggtg aggatggccg cctatacaga cgagggcggc     1800
aaggatggcc ccgagttt                                     1818
  210    52
  211    72
  212    DNA
  213    artificial sequence
  220
  223    IgE signal sequence
  400    52
ggtaaccgggt ccgccacat ggactggacc tggattctgt tcctcgtggc tgctgctaca     60  40
agagtgcaca gc                                           72
  210    53
  211    75
  212    DNA
  213    artificial sequence
  220
  223    F2A
  400    53
ggttctggcg tgaacagac tttgaatitt gaccttctca agttggcggg agacgtggag     60
tccaaccag ggccc                                           75

```

210 54
 211 66
 212 DNA
 213 artificial sequence
 220
 223 P2A
 400 54
 ggaagcggag ctactaactt cagcctgctg aagcaggctg gagacgtgga ggagaaccct 60
 ggacct 66

10

210 55
 211 54
 212 DNA
 213 artificial sequence
 220
 223 T2A
 400 55

gagggcagag gcagcctgct gacctgcggc gacgtcgagg agaaccctgg gcc 54

210 56
 211 825
 212 DNA
 213 artificial sequence
 220
 223 LNGFR
 400 56

20

atgggggcag gtgccaccgg ccgcgccatg gacgggccgc gcctgctgct gttgctgctt 60
 ctgggggtgt cccttgagg tgccaaggag gcatgccccca caggcctgta cacacacagc 120
 ggtgagtgt gcaaagcctg caacctgggc gaggggtgtgg ccagccttg tggagccaac 180
 cagaccgtgt gtgagccctg cctggacagc gtgacgttct ccgacgtggt gagcgcgacc 240
 gagccgtgca agccgtgcac cgagtgcgtg gggctccaga gcatgtcggc gccgtgctg 300
 gagggccgatg acgccgtgtg ccgctgcgcc tacggctact accaggatga gacgactggg 360 30
 cgctgcgagg cgtgccgcgt gtgagaggcg ggctcgggcc tcgtgttctc ctgccaggac 420
 aagcagaaca ccgtgtgcga ggagtgcacc gacggcacgt attccgacga ggccaaccac 480
 gtggaccctg gcctgccctg caccgtgtgc gaggacaccg agcgcagct ccgcgagtgc 540
 acacgctggg ccgacgccga gtgagaggag atccctggcc gttggattac acggtccaca 600
 cccccagagg gctcggacag cacagcccc agcaccagg agcctgaggc acctccagaa 660
 caagacctca tagccagcac ggtggcagg gtggtgacca cagtgatggg cagctcccag 720
 ccggtggtga ccgaggcac caccgacaac ctcatcctg tctattgctc catcctggct 780
 gctgtggttg tgggtcttgt ggcctacata gccttcaaga ggtga 825

40

210 57
 211 253
 212 PRT
 213 artificial sequence
 220
 223 IL-12a polypeptide
 400 57

Met Trp Pro Pro Gly Ser Ala Ser Gln Pro Pro Pro Ser Pro Ala Ala
 1 5 10 15
 Ala Thr Gly Leu His Pro Ala Ala Arg Pro Val Ser Leu Gln Cys Arg
 20 25 30
 Leu Ser Met Cys Pro Ala Arg Ser Leu Leu Leu Val Ala Thr Leu Val 50

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

10

20

210 59
211 133
212 PRT
213 artificial sequence
220
223 IL15 polypeptide
400 59

30

40

50

Gly Ile His Val Phe Ile Leu Gly Cys Phe Ser Ala Gly Leu Pro Lys
1 5 10 15
Thr Glu Ala Asn Trp Val Asn Val Ile Ser Asp Leu Lys Lys Ile Glu
20 25 30
Asp Leu Ile Gln Ser Met His Ile Asp Ala Thr Leu Tyr Thr Glu Ser
35 40 45
Asp Val His Pro Ser Cys Lys Val Thr Ala Met Lys Cys Phe Leu Leu
50 55 60
Glu Leu Gln Val Ile Ser Leu Glu Ser Gly Asp Ala Ser Ile His Asp
65 70 75 80
Thr Val Glu Asn Leu Ile Ile Leu Ala Asn Asn Ser Leu Ser Ser Asn
85 90 95
Gly Asn Val Thr Glu Ser Gly Cys Lys Glu Cys Glu Glu Leu Glu Glu
100 105 110
Lys Asn Ile Lys Glu Phe Leu Gln Ser Phe Val His Ile Val Gln Met
115 120 125

Phe Ile Asn Thr Ser

130

210 60

211 175

212 PRT

213 artificial sequence

220

223 sIL15ra polypeptide

400 60

Ile Thr Cys Pro Pro Pro Met Ser Val Glu His Ala Asp Ile Trp Val 10

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Lys Ala Thr Asn Val Ala His Trp Thr Thr Pro Ser Leu Lys Cys Ile

50 55 60

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

65 70 75 80

Thr Thr Ala Gly Val Thr Pro Gln Pro Glu Ser Leu Ser Pro Ser Gly 20

85 90 95

Lys Glu Pro Ala Ala Ser Ser Pro Ser Ser Asn Asn Thr Ala Ala Thr

100 105 110

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

115 120 125

Ser Thr Gly Thr Thr Glu Ile Ser Ser His Glu Ser Ser His Gly Thr

130 135 140

Pro Ser Gln Thr Thr Ala Lys Asn Trp Glu Leu Thr Ala Ser Ala Ser

145 150 155 160

His Gln Pro Pro Gly Val Tyr Pro Gln Gly His Ser Asp Thr Thr 30

165 170 175

210 61

211 606

212 PRT

213 artificial sequence

220

223 soluble gp130

400 61

Met Leu Thr Leu Gln Thr Trp Leu Val Gln Ala Leu Phe Ile Phe Leu 40

1 5 10 15

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

20 25 30

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

35 40 45

Val Leu Lys Glu Lys Cys Met Asp Tyr Phe His Val Asn Ala Asn Tyr

50 55 60

Ile Val Trp Lys Thr Asn His Phe Thr Ile Pro Lys Glu Gln Tyr Thr

65 70 75 80

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

85 90 95 50

Leu Asn Ile Gln Leu Thr Cys Asn Ile Leu Thr Phe Gly Gln Leu Glu
 100 105 110
 Gln Asn Val Tyr Gly Ile Thr Ile Ile Ser Gly Leu Pro Pro Glu Lys
 115 120 125
 Pro Lys Asn Leu Ser Cys Ile Val Asn Glu Gly Lys Lys Met Arg Cys
 130 135 140
 Glu Trp Asp Gly Gly Arg Glu Thr His Leu Glu Thr Asn Phe Thr Leu
 145 150 155 160
 Lys Ser Glu Trp Ala Thr His Lys Phe Ala Asp Cys Lys Ala Lys Arg
 165 170 175 10
 Asp Thr Pro Thr Ser Cys Thr Val Asp Tyr Ser Thr Val Tyr Phe Val
 180 185 190
 Asn Ile Glu Val Trp Val Glu Ala Glu Asn Ala Leu Gly Lys Val Thr
 195 200 205
 Ser Asp His Ile Asn Phe Asp Pro Val Tyr Lys Val Lys Pro Asn Pro
 210 215 220
 Pro His Asn Leu Ser Val Ile Asn Ser Glu Glu Leu Ser Ser Ile Leu
 225 230 235 240
 Lys Leu Thr Trp Thr Asn Pro Ser Ile Lys Ser Val Ile Ile Leu Lys
 245 250 255 20
 Tyr Asn Ile Gln Tyr Arg Thr Lys Asp Ala Ser Thr Trp Ser Gln Ile
 260 265 270
 Pro Pro Glu Asp Thr Ala Ser Thr Arg Ser Ser Phe Thr Val Gln Asp
 275 280 285
 Leu Lys Pro Phe Thr Glu Tyr Val Phe Arg Ile Arg Cys Met Lys Glu
 290 295 300
 Asp Gly Lys Gly Tyr Trp Ser Asp Trp Ser Glu Glu Ala Ser Gly Ile
 305 310 315 320
 Thr Tyr Glu Asp Arg Pro Ser Lys Ala Pro Ser Phe Trp Tyr Lys Ile
 325 330 335 30
 Asp Pro Ser His Thr Gln Gly Tyr Arg Thr Val Gln Leu Val Trp Lys
 340 345 350
 Thr Leu Pro Pro Phe Glu Ala Asn Gly Lys Ile Leu Asp Tyr Glu Val
 355 360 365
 Thr Leu Thr Arg Trp Lys Ser His Leu Gln Asn Tyr Thr Val Asn Ala
 370 375 380
 Thr Lys Leu Thr Val Asn Leu Thr Asn Asp Arg Tyr Leu Ala Thr Leu
 385 390 395 400
 Thr Val Arg Asn Leu Val Gly Lys Ser Asp Ala Ala Val Leu Thr Ile
 405 410 415 40
 Pro Ala Cys Asp Phe Gln Ala Thr His Pro Val Met Asp Leu Lys Ala
 420 425 430
 Phe Pro Lys Asp Asn Met Leu Trp Val Glu Trp Thr Thr Pro Arg Glu
 435 440 445
 Ser Val Lys Lys Tyr Ile Leu Glu Trp Cys Val Leu Ser Asp Lys Ala
 450 455 460
 Pro Cys Ile Thr Asp Trp Gln Gln Glu Asp Gly Thr Val His Arg Thr
 465 470 475 480
 Tyr Leu Arg Gly Asn Leu Ala Glu Ser Lys Cys Tyr Leu Ile Thr Val
 485 490 495 50

Thr Pro Val Tyr Ala Asp Gly Pro Gly Ser Pro Glu Ser Ile Lys Ala
 500 505 510
 Tyr Leu Lys Gln Ala Pro Pro Ser Lys Gly Pro Thr Val Arg Thr Lys
 515 520 525
 Lys Val Gly Lys Asn Glu Ala Val Leu Glu Trp Asp Gln Leu Pro Val
 530 535 540
 Asp Val Gln Asn Gly Phe Ile Arg Asn Tyr Thr Ile Phe Tyr Arg Thr
 545 550 555 560
 Ile Ile Gly Asn Glu Thr Ala Val Asn Val Asp Ser Ser His Thr Glu
 565 570 575 10
 Tyr Thr Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Thr Leu Tyr Met Val Arg Met
 580 585 590
 Ala Ala Tyr Thr Asp Glu Gly Gly Lys Asp Gly Pro Glu Phe
 595 600 605
 210 62
 211 836
 212 PRT
 213 artificial sequence
 220
 223 soluble gp130 fused to a Fc 20
 400 62
 Met Leu Thr Leu Gln Thr Trp Leu Val Gln Ala Leu Phe Ile Phe Leu
 1 5 10 15
 Thr Thr Glu Ser Thr Gly Glu Leu Leu Asp Pro Cys Gly Tyr Ile Ser
 20 25 30
 Pro Glu Ser Pro Val Val Gln Leu His Ser Asn Phe Thr Ala Val Cys
 35 40 45
 Val Leu Lys Glu Lys Cys Met Asp Tyr Phe His Val Asn Ala Asn Tyr
 50 55 60
 Ile Val Trp Lys Thr Asn His Phe Thr Ile Pro Lys Glu Gln Tyr Thr 30
 65 70 75 80
 Ile Ile Asn Arg Thr Ala Ser Ser Val Thr Phe Thr Asp Ile Ala Ser
 85 90 95
 Leu Asn Ile Gln Leu Thr Cys Asn Ile Leu Thr Phe Gly Gln Leu Glu
 100 105 110
 Gln Asn Val Tyr Gly Ile Thr Ile Ile Ser Gly Leu Pro Pro Glu Lys
 115 120 125
 Pro Lys Asn Leu Ser Cys Ile Val Asn Glu Gly Lys Lys Met Arg Cys
 130 135 140
 Glu Trp Asp Gly Gly Arg Glu Thr His Leu Glu Thr Asn Phe Thr Leu 40
 145 150 155 160
 Lys Ser Glu Trp Ala Thr His Lys Phe Ala Asp Cys Lys Ala Lys Arg
 165 170 175
 Asp Thr Pro Thr Ser Cys Thr Val Asp Tyr Ser Thr Val Tyr Phe Val
 180 185 190
 Asn Ile Glu Val Trp Val Glu Ala Glu Asn Ala Leu Gly Lys Val Thr
 195 200 205
 Ser Asp His Ile Asn Phe Asp Pro Val Tyr Lys Val Lys Pro Asn Pro
 210 215 220
 Pro His Asn Leu Ser Val Ile Asn Ser Glu Glu Leu Ser Ser Ile Leu 50

225	230	235	240	
Lys Leu Thr Trp Thr Asn Pro Ser Ile Lys Ser Val Ile Ile Leu Lys				
	245	250	255	
Tyr Asn Ile Gln Tyr Arg Thr Lys Asp Ala Ser Thr Trp Ser Gln Ile				
	260	265	270	
Pro Pro Glu Asp Thr Ala Ser Thr Arg Ser Ser Phe Thr Val Gln Asp				
	275	280	285	
Leu Lys Pro Phe Thr Glu Tyr Val Phe Arg Ile Arg Cys Met Lys Glu				
	290	295	300	
Asp Gly Lys Gly Tyr Trp Ser Asp Trp Ser Glu Glu Ala Ser Gly Ile				10
305	310	315	320	
Thr Tyr Glu Asp Arg Pro Ser Lys Ala Pro Ser Phe Trp Tyr Lys Ile				
	325	330	335	
Asp Pro Ser His Thr Gln Gly Tyr Arg Thr Val Gln Leu Val Trp Lys				
	340	345	350	
Thr Leu Pro Pro Phe Glu Ala Asn Gly Lys Ile Leu Asp Tyr Glu Val				
	355	360	365	
Thr Leu Thr Arg Trp Lys Ser His Leu Gln Asn Tyr Thr Val Asn Ala				
	370	375	380	
Thr Lys Leu Thr Val Asn Leu Thr Asn Asp Arg Tyr Leu Ala Thr Leu				20
385	390	395	400	
Thr Val Arg Asn Leu Val Gly Lys Ser Asp Ala Ala Val Leu Thr Ile				
	405	410	415	
Pro Ala Cys Asp Phe Gln Ala Thr His Pro Val Met Asp Leu Lys Ala				
	420	425	430	
Phe Pro Lys Asp Asn Met Leu Trp Val Glu Trp Thr Thr Pro Arg Glu				
	435	440	445	
Ser Val Lys Lys Tyr Ile Leu Glu Trp Cys Val Leu Ser Asp Lys Ala				
	450	455	460	
Pro Cys Ile Thr Asp Trp Gln Gln Glu Asp Gly Thr Val His Arg Thr				30
465	470	475	480	
Tyr Leu Arg Gly Asn Leu Ala Glu Ser Lys Cys Tyr Leu Ile Thr Val				
	485	490	495	
Thr Pro Val Tyr Ala Asp Gly Pro Gly Ser Pro Glu Ser Ile Lys Ala				
	500	505	510	
Tyr Leu Lys Gln Ala Pro Pro Ser Lys Gly Pro Thr Val Arg Thr Lys				
	515	520	525	
Lys Val Gly Lys Asn Glu Ala Val Leu Glu Trp Asp Gln Leu Pro Val				
	530	535	540	
Asp Val Gln Asn Gly Phe Ile Arg Asn Tyr Thr Ile Phe Tyr Arg Thr				40
545	550	555	560	
Ile Ile Gly Asn Glu Thr Ala Val Asn Val Asp Ser Ser His Thr Glu				
	565	570	575	
Tyr Thr Leu Ser Ser Leu Thr Ser Asp Thr Leu Tyr Met Val Arg Met				
	580	585	590	
Ala Ala Tyr Thr Asp Glu Gly Gly Lys Asp Gly Pro Glu Phe Arg Ser				
	595	600	605	
Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Ala Glu				
	610	615	620	
Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu				50

625	630	635	640	
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser				
	645	650	655	
His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu				
	660	665	670	
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr				
	675	680	685	
Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn				
	690	695	700	
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro				10
705	710	715	720	
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln				
	725	730	735	
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val				
	740	745	750	
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val				
	755	760	765	
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro				
	770	775	780	
Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr				20
785	790	795	800	
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val				
	805	810	815	
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu				
	820	825	830	
Ser Pro Gly Lys				
	835			
210	63			
211	7711			
212	DNA			30
213	artificial sequence			
220				
223	Matrice TRAC locus_CubiCAR CD22 pCLS30056 full sequence			
400	63			
gtggcacttt tcggggaaat gtgcgcgga cccctatttg tttatitttc taaatacatt				60
caaatatgta tccgctcatg agacaataac cctgataaat gcttcaataa tattgaaaaa				120
ggaagagtat gagtattcaa catttccgtg tgcgcccttat tccctttttt gcggcatttt				180
gccttcctgt ttttgctcac ccagaaacgc tggtgaaagt aaaagatgct gaagatcagt				240
tgggtgcacg agtgggttac atcgaactgg atctcaacag cggttaagatc cttgagagtt				300
ttcgccccga agaacgtttt ccaatgatga gcacttttaa agttctgcta tgtggcgcg				360
tattatcccg tattgacgcc gggcaagagc aactcggctc cgcatacac tattctcaga				420
atgacttggg tgagtactca ccagtcacag aaaagcatct tacggatggc atgacagtaa				480
gagaattatg cagtgtctgcc ataaccatga gtgataacac tgcggccaac ttacttctga				540
caacgatcgg aggaccgaag gagctaaccg cttttttgca caacatgggg gatcatgtaa				600
ctcgccctga tctgtgggaa ccggagctga atgaagccat accaaacgac gagcgtgaca				660
ccacgatgcc tgtagcaatg gcaacaacgt tgcgcaaact attaactggc gaactactta				720
ctctagcttc ccggcaacaa ttaatagact ggatggaggc ggataaagtt gcaggaccac				780
ttctgcgctc ggcccttccg gctggctggt ttattgctga taaatctgga gccggtgagc				840
gtggttctcg cggatcatt gcagcactgg ggccagatgg taagccctcc cgtatcgtag				900
ttatctacac gacggggagt caggcaacta tggatgaacg aatagacag atcgctgaga				960
				50

taggtgcctc actgattaag cattggtaac tgtcagacca agtttactca tatatacttt 1020
agattgattt aaaacttcat ttttaattta aaaggatcta ggtgaagatc ctttttgata 1080
atctcatgac caaaatccct taacgtgagt tttcgttcca ctgagcgtca gaccccgtag 1140
aaaagatcaa aggatcttct tgagatcctt tttttctgcg cgtaatctgc tgcttgcaaa 1200
caaaaaaacc accgctacca gcggtggttt gtttgccgga tcaagagcta ccaactcttt 1260
ttccgaaggf aactggcttc agcagagcgc agataccaaa tactgttctt ctagtgtagc 1320
cgtagttagg ccaccacttc agaactctg tagcaccgcc tacatacctc gctctgctaa 1380
tcctgttacc agtggctgct gccagtgggc ataagtcgtg tcttaccggg ttggactcaa 1440
gacgatagtt accggataag gcgcagcggf cgggctgaac ggggggttcg tgcacacagc 1500
ccagcttggg gcgaacgacc tacaccgaac tgagatacct acagcgtgag ctatgagaaa 1560 10
gcgccacgct tcccgaaggg agaaaggcgg acaggtatcc ggtaagcggc agggctcgaa
1620
caggagagcg cacgagggag cttccagggg gaaacgcctg gtatctttat agtcctgtcg 1680
ggtttcgcca cctctgactt gagcgtcgat ttttgtgatg ctctcaggg gggcggagcc 1740
tatggaaaaa cgccagcaac gcggcctttt tacggttctt ggccttttgc tggccttttg 1800
ctcacatggt ctttctgcg ttatcccctg attctgtgga taaccgtatt accgcctttg 1860
agtgagctga taccgctcgc cgcagccgaa cgaccgagcg cagcagatca gtgagcggg
1920
aagcggagag cgccaatac gcaaaccgcc tctccccgcg cgttggccga ttcattaatg 1980
cagctggcac gacaggtttc ccgactggaa agcgggcagt gagcgcacg caattaatgt 2040 20
gagttagctc actcattagg caccacaggc tttacacttt atgcttccgg ctctgatgft
2100
gtgtggaatt gtgagcggat aacaatttca cacaggaaac agctatgacc atgattacgc 2160
caagcgcgfc aattaaccct cactaaaggg aacaaaagct gttaattaat tgctgggcct 2220
ttttcccatg cctgccttta ctctgccaga gttatattgc tggggttttg aagaagatcc 2280
tattaaataa aagaataagc agtattatta agtagccctg catttcaggt ttccttgagt 2340
ggcaggccag gcctggccgt gaacgttcac tgaaatcatg gcctcttggc caagattgat 2400
agcttgtgcc tgtccctgag tcccagtcca tcacgagcag ctggtttcta agatgctatt 2460
tcccgtataa agcatgagac cgtgacttgc cagccccaca gagccccgcc cttgtccatc 2520
actggcatct ggactccagc ctgggttggg gaaagaggg aatgagatc atgtcctaac 2580
cctgatcctc ttgtcccaca gatatccagt acccctacga cgtgcccagc tacgcctccg 2640 30
gtgagggcag aggaagtctt ctaacatgcg gtgacgtgga ggagaatccg ggccccggat
2700
ccgctctgcc cgtcaccgct ctgctgctgc cactggcact gctgctgcac gctgctaggc 2760
cgggaggggg aggcagctgc ccctacagca accccagcct gtgcagcggg ggcggcggca
2820
gcgccggagg gggtagccag gtgcagctgc agcagagcgg ccctggcctg gtgaagccaa
2880
gccagacact gtccctgacc tgcgccatca gcggcgattc cgtgagctcc aactccgccg 2940
cctggaattg gatcaggcag tccccttctc ggggcctgga gtggctggga aggacatact 3000
atcggctctaa gtggtacaac gattatgccg tgtctgtgaa gagcagaatc acaatcaacc 3060
ctgacacctc caagaatcag ttctctctgc agctgaatag cgtgacacca gaggacaccg 3120 40
ccgtgtacta ttgcgccagg gaggtgaccg gcgacctgga ggatgccttt gacatctggg 3180
gccagggcac aatggtgacc gtgagctccg gaggcggcgg atctggcggg ggaggaagtg
3240
ggggcggcgg gagtgatata cagatgacac agtccccatc ctctctgagc gcctccgtgg 3300
gcgacagagt gacaatcacc tgtagggcct cccagacat ctggctttac ctgaactggt 3360
atcagcagag gcccggaag gccctaatac tctgatcta cgcagcaagc tccttcgaga 3420
gcgagtgcc atccagattc tctggcaggg gctccggcac agacttcacc ctgacctct 3480
ctagcctgca ggccgaggac ttcgccacct actattgcca gcagtcttat agcatcccc 3540
agacatttgg ccagggcacc aagctggaga tcaagtcgga tcccgggaagc ggagggggag
3600

10

20

30

40

50

gcagctgccc ctacagcaac cccagcctgt gcagcggagg cggcggcagc gagctgccc
3660

cccagggcac cttctccaac gtgtccacca acgtgagccc agccaagccc accaccaccg 3720
cctgtcctta ttccaatcct tccctgtgtg ctcccaccac aacccccgct ccaaggcccc 3780
ctacccccgc accaactatt gcctcccagc cactctcact gcggcctgag gcctgtcggc 3840
ccgctgctgg aggcgcagtg catacaaggg gcctcgattt cgcctgcatg atttacctt 3900
gggcacccct cgccggcacc tgcgggggtgc ttctcctctc cctgggtgatt accctgtatt 3960
gcagacgggg ccggaagaag ctccctctaca tttttaagca gcctttcatg cggccagtgc 4020
agacaaccca agaggaggat ggggtttcct gcagattccc tgaggaagag gaaggcgggt 4080
gcgagctgag agtgaagttc tccaggagcg cagatgcccc cgcctatcaa cagggccaga 4140 10
accagctcta caacgagctt aacctcggga ggcgcgaaga atacgacgtg ttggataaga 4200
gaagggggcg ggacccccgag atgggaggaa agccccggag gaagaaccct caggaggggc
4260

tgtacaacga gctgcagaag gataagatgg ccgaggccta ctacagagatc gggatgaagg 4320
gggagcggcg ccgcggaag gggcacgatg ggctctacca ggggctgagc acagccacaa
4380

aggacacata cgacgccttg cacatgcagg cccttccacc ccgggaatag tctagagggc 4440
ccgtttaaac ccgctgatca gcctcgactg tgccttctag ttgccagcca tctgttgttt 4500
gccccctccc cgtgccttcc ttgacctgg aagggtccac tcccactgtc ctttctaat 4560
aaaatgagga aattgcatcg cattgtctga gtagggttca ttctattctg ggggggtggg 4620 20
tggggcagga cagcaagggg gaggattggg aagacaatag caggcatgct ggggatgcbg
4680

tgggctctat gactagtggc gaattcccgt gtaccagctg agagactcta aatccagtga 4740
caagtctgtc tgcctattca ccgattttga ttctcaaaaca aatgtgtcac aaagtaagga 4800
ttctgatgtg tatatcacag acaaaactgt gctagacatg aggtctatgg acttcaagag 4860
caacagtgtc gtggcctgga gcaacaaatc tgactttgca tgtgcaaacg cttcaacaa 4920
cagcattatt ccagaagaca ctttcttccc cagcccagggt aagggcagct ttgggtgcctt 4980
cgcaggctgt ttccttgcct caggaatggc caggttctgc ccagagctct ggtcaatgat 5040
gtctaaaact cctctgattg gtggctcgg ccttatccat tgccaccaa accctctttt 5100
tactaagcga tcgctccgggt gcccgctcagt gggcagagcg cacatcgccc acagtcctcg 5160 30
agaagtggg gggaggggtc ggcaattgaa cgggtgccta gagaagggtg cgcggggtaa
5220

actgggaaag tgatgtcgtg tactggctcc gccttttcc cgaggggtggg ggagaaccgt 5280
atataagtgc agtagtcgcc gtgaacgttc tttttcgcaa cgggtttgcc gccagaacac 5340
agctgaagct tcgaggggct cgcactctc cttcacgcgc ccgcccctt acctgaggcc 5400
gccatccacg ccggttgagt cgcgttctgc cgcctcccgc ctgtggtgcc tctgaactg 5460
cgtccgccgt ctaggttaagt ttaaagctca ggctcgagacc gggcctttgt ccggcgctcc 5520
cttgagacct acctagactc agccggctct ccacgctttg cctgaccctg ctgtctcaac 5580
tctacgtctt tgtttcgtt tctgttctgc gccgttacag atccaagctg tgaccggcgc 5640
ctacctgaga tcaccggcgc caccatggct tcttaccctg gacaccagca tgcttctgcc 5700 40
tttgaccagg ctgccagatc caggggccac tccaacagga gaactgccct aagaccaga 5760
agacagcagg aagccactga ggtgaggcct gagcagaaga tgccaaccct gctgagggtg
5820

tacattgatg gacctcatgg catgggcaag accaccacca ctcaactgct ggtggcactg 5880
ggctccaggg atgacattgt gtatgtgcct gagccaatga cctactggag agtgctagga 5940
gcctctgaga ccattgcaa catctacacc acccagcaca ggctggacca gggagaaatc 6000
tctgctggag atgctgctgt ggtgatgacc tctgcccaga tcacaatggg aatgccctat 6060
gctgtgactg atgctgttct ggctcctcac attggaggag aggctggctc ttctcatgcc 6120
cctccacctg cctgacctt gatctttgac agacacccca ttgcagccct gctgtgctac 6180
ccagcagcaa ggtacctcat gggctccatg accccacagg ctgtgctggc tttgtggc 6240 50

ctgatccctc caaccctccc tggcaccaac attgttctgg gagcactgcc tgaagacaga 6300
cacattgaca ggctggcaaa gaggcagaga cctggagaga gactggacct ggccatgctg 6360
gctgcaatca gaaggggtga tggactgctg gcaaactg tgagatacct ccagtgtgga 6420
ggctcttggga gagaggactg gggacagctc tctggaacag cagtgccccc tcaaggagct 6480
gagccccagt ccaatgctgg tccaagacc cacattgggg acaccctgtt caccctgttc 6540
agagccccctg agctgctggc tccaatgga gacctgtaca atgtgtttgc ctgggctctg 6600
gatgttctag ccaagaggct gagggtccatg catgtgttca tcttggacta tgaccagtcc 6660
cctgctggat gcagagatgc tctgctgcaa ctaacctctg gcatggtgca gacccatgtg 6720
accaccctg gcagcatccc caccatctgt gacctagcca gaacctttgc cagggagatg 6780
ggagaggcca actaaggcgc gccactcgag cgctagctgg ccagacatga taagatacat 6840 10
tgatgagttt ggacaaacca caactagaat gcagtgaaaa aatgcttta tttgtgaaat 6900
ttgtgatgct attgctttat ttgtaacct tataagctgc aataacaag ttaacaaca 6960
caattgcatt cttttatgt ttcaggttca gggggagggtg tgggaggttt ttaaagcaa 7020
gtaaacctc tacaaatgtg gtatggaagg cgcgcccaat tgcacctata gtgagtcgta 7080
ttacgtcgcg ctactggcc gtcgttttac aacgtcgtga ctgggaaaac cctggcgta 7140
cccaacttaa tgccttga gcacatcccc ctttcgccag ctggcgtaat agcgaagagg 7200
cccgaccga aacgcccttc ccaacagttg cgcagcctga atggcgaatg ggagcgccct 7260
gtagcggcgc attaagcgcg gcgggtgtgg tggttacgcg cagcgtgacc gctacacttg 7320
ccagcgccct agcggccgct ctttcgctt tcttcccttc ctttctcgc acgttcgccg 7380
gctttccccg tcaagctcta aatcgggggc tcccttagg gttccgattt agtgctttac 7440 20
ggcacctcga ccccaaaaaa cttgattagg gtgatggtt gcctgtagtg ggccatagcc 7500
ctgatagacg gttttcgc ctttgacgtt ggagtccacg tctttaata gtggactctt 7560
gttccaaact ggaacaacac tcaacctat ctcggtctat tctttgatt tataagggat 7620
tttgccgatt tcggcctatt ggttaaaaaa tgagctgatt taacaaaaat ttaacgcgaa 7680
ttttaacaaa atattaacgc ttacaattta g 7711

210 64

211 7502

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 Matrice CD25 locus_IL15_2A_sIL15Ra pCLS30519 full sequence

400 64

gttattatt cctgttccac agctattgtc tgccatataa aaacttaggc caggcacagt 60
ggctcacacc tgtaatccca gcactttgga aggccgaggc aggcagatca caaggtcagg 120
agttcgagac cagcctggcc aacatagcaa aaccccatct ctactaaaaa taaaaaatt 180
agccaggcat ggtggcgtgt gcactggttt agagtgagga ccacattttt ttggtgccgt 240
gttacacata tgaccgtgac tttgttacac cactacagga ggaagagtag aagaacaatc 300
ggttctggcg tgaacagac tttgaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag 360
tccaaccag ggcccgttac cgggtccgcc accatggact ggacctggat tctgttcctc 420
gtggctgctg ctacaagagt gcacagcggc attcatgtct tcattttggg ctgtttcagt 480 40
gcagggcttc ctaaacaga agccaactgg gtgaatgtaa taagtattt gaaaaaatt 540
gaagatctta ttcaatctat gcatattgat gctactttat atacggaaag tgatgttcac 600
cccagttgca aagtaacagc aatgaagtgc tttctcttgg agttacaagt tatttactt 660
gagtcgggag atgcaagtat tcatgataca gtagaaaatc tgatcatcct agcaaacac 720
agtttgtctt ctaatgggaa tgtaacagaa tctggatgca aagaatgtga ggaactggag 780
gaaaaaata ttaaagaatt tttgcagagt tttgtacata ttgtccaaat gttcatcaac 840
acttctggaa gcggagctac taacttcagc ctgctgaagc aggctggaga cgtggaggag 900
aacctggac ctgggaccgg ctctgcaacc atggattgga cgtggatcct gtttctcgtg 960
gcagctgcca caagagttca cagtatcacg tgccctcccc ccatgtccgt ggaacacgca 1020
gacatctggg tcaagagcta cagcttgtag tccagggagc ggtacatttg taactctggt 1080 50

ttcaagcgta aagccggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccacgaat 1140
 gtcgcccact ggacaacccc cagtctcaaa tgcatlagag accctgccct ggffcaccaa 1200
 aggccagcgc caccctccac agtaacgacg gcaggggtga cccacagcc agagagcctc
 1260
 tccccttctg gaaaagagcc cgcagcttca tctcccagct caaacaacac agcggccaca 1320
 acagcagcta ttgtcccggg ctcccagctg atgccttcaa aatcaccttc cacaggaacc 1380
 acagagataa gcagtcatga gtccctccac ggcaccccct ctacagacaac agccaagaac 1440
 tgggaactca cagcatccgc ctcccaccag ccgccaggtg tgtatccaca gggccacagc 1500
 gacaccactg agggcagagg cagcctgctg acctgcggcg acgtcgagga gaaccccggg
 1560
 cccatggggg caggtgccac cggccgcgcc atggacgggc cgcgcctgct gctgttgctg 1620
 cttctggggg tgtcccttgg aggtgccaaag gaggcattgcc ccacaggcct gtacacacac 1680
 agcgggtgagt gctgcaaagc ctgcaacctg ggcgaggggtg tggcccagcc ttgtggagcc 1740
 aaccagaccg tgtgtgagcc ctgcctggac agcgtgacgt tctccgacgt ggtgagcgcg 1800
 accgagccgt gcaagccgtg caccgagtgc gtggggctcc agagcatgtc ggcgccgtgc 1860
 gtggaggccg atgacgccgt gtgccgctgc gcctacggct actaccagga tgagacgact 1920
 gggcgctgcg aggcgtgccg cgtgtgcgag gcgggctcgg gcctcgtgtt ctctgccag 1980
 gacaagcaga acaccgtgtg cgaggagtgc cccgacggca cgtattccga cgaggccaac
 2040
 cacgtggacc cgtgcctgcc ctgcaccgtg tgcgaggaca ccgagcgcca gctccgagag 2100
 tgcacacgct gggccgacgc cgagtgcgag gagatccctg gccgttggat tacacggtcc 2160
 acacccccag agggctcggg cagcacagcc cccagcacc aggagcctga ggcacctcca
 2220
 gaacaagacc tcatagccag cacggtggca ggtgtggtga ccacagtat gggcagctcc 2280
 cagcccgtgg tgacccgagg caccaccgac aacctcatcc ctgtctattg ctccatcctg 2340
 gctgctgtgg ttgtgggtct tgtggcctac atagccttca agaggtgaaa aaccaaaga 2400
 acaagaatft cttggtaaga agccgggaac agacaacaga agtcatgaag cccaagtga 2460
 atcaaagggt ctaaattggtc gcccaggaga catccgttgt gcttgcctgc gttttggaag 2520
 ctctgaagtc acatcacagg acacggggca gtggcaacct tgtctctatg ccagctcagt 2580
 cccatcagag agcgagcgt acccacttct aaatagcaat ttcgccgttg aagaggaagg 2640
 gcaaaaccac tagaactctc catcttattt tcatgtatat gtgttcatgc gatcgctccg 2700
 gtgcccgtca gtgggcagag cgcacatcgc ccacagtccc cgagaagttg gggggagggg
 2760
 tgggcaattg aacgggtgcc tagagaaggt ggcgcgggggt aaactgggaa agtgatgtcg 2820
 tgtactggct ccgcctttt cccgaggggtg ggggagaacc gtatataagt gcagtagtgc 2880
 ccgtgaacgt tctttttcgc aacgggtttg ccgccagaac acagctgaag ctccgagggg 2940
 ctgcacatct tctttcacgc gcccgccgcc ctacctgagg ccgccatcca cgccggttga 3000
 gtcgcgttct gccgcctccc gcctgtggtg cctcctgaac tgcgtccgcc gtctaggtaa 3060
 gtttaaagct caggtcgaga ccgggccttt gtccggcgct cccttgagc ctacctagac 3120
 tcagccggct ctccacgctt tgctgacct tgcttgcctca actctacgtc tttgtttcgt 3180
 tttctgttct gcgccgttac agatccaagc tgtgaccggc gcctacctga gatcaccggc 3240
 gccacatgg cttcttacc tgacaccag catgcttctg ctttgacca ggctgccaga 3300
 tccaggggcc actccaacag gagaactgcc ctaagacca gaagacagca ggaagccact
 3360
 gaggtgaggc ctgagcagaa gatgccaaacc ctgctgaggg tgtacattga tggacctcat 3420
 ggcatgggca agaccaccac cactcaactg ctggtggcac tgggctccag ggatgacatt 3480
 gtgtatgtgc ctgagccaat gacctactgg agagtgtctag gagcctctga gaccttgcc 3540
 aacatctaca ccaccagca caggctggac caggagaaaa tctctgctgg agatgctgct 3600
 gtggtgatga cctctgcccc gatcacaatg ggaatgccct atgctgtgac tgatgctgtt 3660
 ctggctcctc acattggagg agaggctggc tcttctcatg cccctccacc tgccctgacc 3720

10
 20
 30
 40

ctgatctttg acagacaccc cattgcagcc ctgctgtgct acccagcagc aaggctacctc 3780
 atgggctcca tgaccccaca ggctgtgctg gcttttggg ccctgatccc tccaaccctc 3840
 cctggcacca acattgttct gggagcactg cctgaagaca gacacattga caggctggca 3900
 aagaggcaga gacctggaga gagactggac ctggccatgc tggctgcaat cagaagggtg
 3960
 tatggactgc tggcaaacac tgtgagatac ctccagtgtg gaggctcttg gagagaggac 4020
 tggggacagc tctctggaac agcagtgcc cctcaaggag ctgagcccca gtccaatgct 4080
 ggtccaagac cccacattgg ggacaccctg ttcaccctgt tcagagcccc tgagctgctg 4140
 gctcccaatg gagacctgta caatgtgttt gcctgggctc tggatgttct agccaagagg 4200
 ctgaggcca tgcatgtgtt catcctggac tatgaccagt ccctgtctgg atgcagagat 4260 10
 gctctgctgc aactaacctc tggcatggtg cagacccatg tgaccacccc tggcagcatc 4320
 cccaccatct gtgacctagc cagaaccttt gccagggaga tgggagaggc caactaaggc 4380
 gcgccactcg agcgctagct ggccagacat gataagatac attgatgagt ttggacaaac 4440
 cacaactaga atgcagtga aaaaatgctt tatttgtgaa atttgtgatg ctattgcttt 4500
 atttgtaacc attataagct gcaataaaca agttaacaac aacaattgca ttcattttat 4560
 gtttcagggt cagggggagg tgtgggagg ttttaaaagc aagtaaaacc tctacaaatg 4620
 tggatggaa ggcgcgcca attcgcccta tagtgagtcg tattacgtcg cgctcactgg 4680
 ccgtcgtttt acaacgtcgt gactgggaaa accctggcgt tacccaactt aatcgccttg 4740
 cagcacatcc ccctttcgcc agctggcgta atagcgaaga ggcccgcacc gaaacgcctt 4800
 tccaacagt tgcgcagcct gaatggcgaa tgggagcgcc ctgtagcggc gcattaagcg 4860 20
 cggcgggtgt ggtggttacg cgcagcgtga ccgctacact tgccagcgcc ctagcggccg 4920
 ctctttcgc tttcttccct tctttctcg ccacgttcgc cggctttccc cgtcaagctc 4980
 taaatcgggg gctcccttta gggttccgat ttagtgcttt acggcacctc gaccccaaaa 5040
 aacttgatta gggatgatgt tggcctgtag tgggcatag ccctgataga cggtttttcg 5100
 cccttgacg ttggagtcca cgttctttaa tagtggactc ttgttccaaa ctggaacaac 5160
 actcaacctt atctcggctt attcttttga tttataaggg atttgccga ttcggccta 5220
 ttggttaaaa aatgagctga tttacaacaaa atttaacgcg aattttaaca aaatattaac 5280
 gcttacaatt taggtggcac ttttcgggga aatgtgcgcg gaaccctat ttgtttattt 5340
 ttctaataac attcaaatat gtatccgctc atgagacaat aacctgata aatgcttcaa 5400
 taatattgaa aaaggaagag tatgagtatt caacatttcc gtgtcgcctt tattcccttt 5460 30
 tttgcggcat tttgccttcc tgtttttgct caccagaaa cgctggtgaa agtaaaagat 5520
 gctgaagatc agttgggtgc acgagtgggt tacatcgaac tggatctcaa cagcggtaag 5580
 atccttgaga gttttcggcc cgaagaactt tttccaatga tgagcacttt taaagtctg 5640
 ctatgtggcg cggatattat ccgtattgac gccgggcaag agcaactcgg tcgccgcata 5700
 cactattctc agaatgactt ggttgagtac tcaccagtca cagaaaagca tcttacggat 5760
 ggcatgacag taagagaatt atgcagtgct gccataacca tgagtataa cactgcggcc 5820
 aacttacttc tgacaacgat cggaggaccg aaggagctaa ccgctttttt gcacaacatg 5880
 ggggatcatg taactcgcct tgatcgttgg gaaccggagc tgaatgaagc cataccaaac 5940
 gacgagcgtg acaccacgat gcctgtagca atggcaacaa cgttgcgcaa actattaact 6000
 ggcaactac ttactctagc tccccggcaa caattaatag actggatgga ggcggataaa 6060 40
 gttgcaggac cacttctgcg ctcgccctt ccggctggct ggtttattgc tgataaatct 6120
 ggagccgggt agcgtggttc tcgcggtatc attgcagcac tggggccaga tggtaagccc 6180
 tcccgtatcg tagttatcta cagcagggg agtcaggcaa ctatggatga acgaaataga 6240
 cagatcgctg agatagggtc ctactgatt aagcattggt aactgtcaga ccaagtttac 6300
 tcatatatac tttagattga tttaaaactt catttttaat taaaaggat ctagggtgaag 6360
 atcctttttg ataatctcat gacaaaaac ctttaacgtg agttttcgtt cactgagcg 6420
 tcagaccccg tagaaaagat caaaggatct tcttgagatc cttttttct gcgcgtaac 6480
 tgctgcttgc aaacaaaaaa accaccgcta ccagcgggtg tttgtttgcc ggatcaagag 6540
 ctaccaactc tttttccgaa ggtaactggc ttcagcagag cgcagatacc aaatactgtt 6600
 ctctagtgt agccgtagtt aggccaccac ttcaagaact ctgtagcacc gcctacatac 6660 50

ctcgctctgc taatcctggt accagtggct gctgccagtg gcgataagtc gtgtcttacc 6720
 gggttggact caagacgata gttaccggat aaggcgcagc ggtcgggctg aacggggggt 6780
 tctgtcacac agcccagctt ggagcgaacg acctacaccg aactgagata cctacagcgt 6840
 gagctatgag aaagcgccac gcttcccga gggagaaagg cggacaggta tccggtaagc
 6900

ggcagggtcg gaacaggaga ggcacagagg gagcttccag ggggaaacgc ctggtatctt
 6960

tatagtccctg tggggttctg ccacctctga ctgagcgtc gattttgtg atgctcgtca 7020
 ggggggcgga gcctatggaa aaacgccagc aacgcggcct ttttacgggt cctggccttt 7080
 tgctggcctt ttgctcacat ggtctttcct gcgttatccc ctgattctgt ggataaccgt 7140
 attaccgctt ttgagtgagc tgataccgct cgccgcagcc gaacgaccga gcgagcagag 7200
 tcagtgagcg aggaagcggg gagcgcccaa tacgcaaacc gcctctcccc gcgcgttggc 7260
 cgattcatta atgcagctgg cacgacaggt ttcccgaact gaaagcggg agtgagcgca 7320
 acgcaattaa tgtgagttag ctactcatt aggcacccca ggctttacac tttatgcttc 7380
 cggctcgtat gttgtgtgga attgtgagcg gataacaatt tcacacagga aacagctatg 7440
 accatgatta cgccaagcgc gtcaattaac cctcactaaa ggaacaaaaa gctgttaatt 7500
 aa 7502

210 65

211 7778

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 Matrice PD1 locus_IL15_2A_sIL15Ra pCLS30513 full sequence

400 65

gactccccag acaggccctg gaaccccccc accttctccc cagccctgct cgtggtgacc 60
 gaaggggaca acgccacctt cacctgcagc ttctccaaca catcggagag ctctgtgcta 120
 aactggtacc gcatgagccc cagcaaccag acggacaagc tggccgcctt ccccgaggac 180
 cgcagccagc ccggccagga ctgccgcttc cgtgtcacac aactgcccaa cgggcggtgac 240
 ttccacatga gcgtggtcag ggcccggcgc aatgacagcg gcacctacct ctgtggggcc 300
 ggttctggcg tgaacagac tttgaatfff gaccttctca agttggcggg agacgtggag 360
 tccaaccag ggcccgttac cgggtccgcc accatggact ggacctggat tctgttcctc 420
 gtggctgctg ctacaagagt gcacagcggc attcatgtct tcattttggg ctgtttcagt 480
 gcagggcttc ctaaacagaga agccaactgg gtgaatgtaa taagtattt gaaaaaaatt 540
 gaagatctta ttcaatctat gcatattgat gctactttat atacggaaag tgatgttcac 600
 cccagttgca aagtaacagc aatgaagtgc tttctcttgg agttacaagt tatttactt 660
 gagtccggag atgcaagtat tcatgataca gtagaaaatc tgatcatcct agcaaacac 720
 agtttgtctt ctaatgggaa tgtaacagaa tctggatgca aagaatgtga ggaactggag 780
 gaaaaaaata ttaaagaatt tttgcagagt ttgtacata ttgtccaaat gttcatcaac 840
 acttctggaa gcggagctac taacttcagc ctgctgaagc aggctggaga cgtggaggag 900
 aaccctggac ctgggaccgg ctctgcaacc atggattgga cgtggatcct gtttctcgtg 960
 gcagctgcca caagagttca cagtatcacg tgccctcccc ccatgtccgt ggaacacgca 1020
 gacatctggg tcaagagcta cagcttgtag tccagggagc ggtacatttg taactctggt 1080
 ttcaagcgtg aagccggcac gtccagcctg acggagtgcg tgttgaacaa ggccacgaat 1140
 gtcgcccact ggacaacccc cagtctcaaa tgcattagag accctgccct ggttcaccaa 1200
 aggccagcgc caccctccac agtaacgacg gcaggggtga cccacagcc agagagcctc
 1260

tccccttctg gaaaagagcc cgcagcttca tctcccagct caaacacac agcggccaca 1320
 acagcagcta ttgtcccggg ctcccagctg atgccttcaa aatcaccttc cacaggaacc 1380
 acagagataa gcagtcatga gtctctccac ggcaccccct ctacagacaac agccaagaac 1440
 tgggaactca cagcatccgc ctcccaccag ccgccaggtg tgtatccaca gggccacagc 1500

10

20

30

40

50

gacaccactg agggcagagg cagcctgctg acctgcggcg acgtcgagga gaaccccggg
1560

cccatggggg caggtgccac cggccgcgcc atggacgggc cgcgcctgct gctgttgctg 1620
cttctggggg tgtcccttgg aggtgccaaag gaggcatgcc ccacaggcct gtacacacac 1680
agcggtgagt gctgcaaagc ctgcaacctg ggcgaggggtg tggcccagcc ttgtggagcc 1740
aaccagaccg tgtgtgagcc ctgcctggac agcgtgacgt tctccgacgt ggtgagcgcg 1800
accgagccgt gcaagccgtg caccgagtgc gtggggctcc agagcatgtc ggcgccgtgc 1860
gtggaggccg atgacgccgt gtgccgctgc gcctacggct actaccagga tgagacgact 1920
gggcgctgcg aggcgtgccg cgtgtgcgag gcgggctcgg gcctcgtgtt ctccctgccag 1980
gacaagcaga acaccgtgtg cgaggagtgc cccgacggca cgtattccga cgaggccaac 10
2040

cacgtggacc cgtgcctgcc ctgcaccgtg tgcgaggaca ccgagcgcca gctccgcgag 2100
tgcacacgct gggccgacgc cgagtgcgag gagatccctg gccgttggat tacacgggtcc 2160
acacccccag agggctcggg cagcacagcc cccagcacc aggagcctga ggcacctcca
2220

gaacaagacc tcatagccag cacggtggca ggtgtggtga ccacagtgat gggcagctcc 2280
cagcccgtgg tgacccgagg caccaccgac aacctatcc ctgtctattg ctccatcctg 2340
gctgctgtgg ttgtgggtct tgtggcctac atagccttca agaggtgatc tagagggccc 2400
gtttaaacc gctgatcagc ctgcactgtg ctttctagt gccagccatc tgttgtttgc 2460
ccctccccg tgccttcctt gaccctggaa ggtgccactc ccactgtcct ttccataata 2520 20
aatgaggaaa ttgcatcgca ttgtctgagt aggtgtcatt ctattctggg ggggtggggtg
2580
ggcagggaca gcaaggggga ggattgggaa gacaatagca ggcatgctgg ggatgcggtg
2640

ggctctatga ctagtggcga attcggcgca gatcaaagag agcctgcggg cagagctcag 2700
ggtgacaggt gcggcctcgg agggccccgg gcaggggtga gctgagccgg tccctggggtg
2760

ggtgtcccct cctgcacagg atcaggagct ccagggctcgt agggcagggg cccccagct 2820
ccagtccagg gctctgtcct gcacctgggg aatggtgacc ggcatctctg tccctctagct 2880
ctggaagcac cccagcccct ctagtctgcc ctaccccctg acctgacct tccacctga 2940
ccccgtccta acccctgacc ttggcgatc gctccgggtgc ccgtcagtgg gcagagcgca 3000 30
catcgcccac agtccccgag aagtggggg gaggggtcgg caattgaacg ggtgcctaga 3060
gaaggtggcg cggggtaaac tgggaaagt atgtcgtgta ctggctccgc ctttttccg 3120
aggggtgggg agaaccgtat ataagtgcag tagtcgccgt gaacgttctt ttcgcaacg 3180
ggtttgccgc cagaacacag ctgaagctt gaggggctcg catctctcct tcacgcgcc 3240
gccgcccctac ctgaggccgc catccacgcc ggttgagtgc cgttctgccg cctcccgcct 3300
gtggtgcctc ctgaactgcg tccgccgtct aggttaagtt aaagctcagg tcgagaccgg 3360
gcctttgtcc ggcgctccct tggagcctac ctgactcag ccggctctcc acgctttgcc 3420
tgaccctgct tgctcaactc tacgtctttg tttcgtttc tgttctgcgc cgttacagat 3480
ccaagctgtg accggcgctt acctgagatc accggcgcca ccatggcttc ttaccctgga 3540
caccagcatg cttctgcctt tgaccaggct gccagatcca ggggcccact caacaggaga 3600 40
actgccctaa gaccagaag acagcaggaa gccactgagg tgaggcctga gcagaagatg
3660

ccaaccctgc tgagggtgta cattgatgga cctcatggca tgggcaagac caccaccact 3720
caactgctgg tggcactggg ctccagggat gacattgtgt atgtgcctga gccaatgacc 3780
tactggagag tgctaggagc ctctgagacc attgccaaca tctacaccac ccagcacagg 3840
ctggaccagg gagaaatctc tgctggagat gctgctgtgg tgatgacctc tgcccagatc 3900
acaatgggaa tgccctatgc tgtgactgat gctgttctgg ctctcacat tggaggagag 3960
gctggctctt ctcatgcccc tccacctgcc ctgacctga tctttgacag acacccatt 4020
gcagcccctgc tgtgctacct agcagcaagg tacctcatgg gctccatgac cccacaggct 4080
gtgctggctt ttgtggccct gatccctcca acctccctg gcaccaacat tgttctggga 4140 50

gcactgcctg aagacagaca cattgacagg ctggcaaaga ggcagagacc tggagagaga
4200
ctggacctgg ccatgctggc tgcaatcaga aggggtgatg gactgctggc aaacactgtg 4260
agataacctcc agtgtggagg ctcttggaga gaggactggg gacagctctc tggaacagca 4320
gtgccccctc aaggagctga gccccagtcc aatgctggtc caagacccca cattggggac 4380
accctgttca cctgtttcag agccccctgag ctgctggctc ccaatggaga cctgtacaat 4440
gtgtttgcct gggctctgga tgttctagcc aagaggctga ggtccatgca tgtgttcatc 4500
ctggactatg accagtcccc tgctggatgc agagatgctc tgctgcaact aacctctggc 4560
atggtgcaga cccatgtgac caccctggc agcatcccca ccatctgtga cctagccaga 4620
acctttgcca gggagatggg agaggccaac taaggcgcgc cactcgagcg cttagctggcc 4680 10
agacatgata agatacattg atgagtttg acaaaccaca actagaatgc agtgaaaaaa 4740
atgctttatt tgtgaaattt gtgatgctat tgctttattt gtaaccatta taagctgcaa 4800
taaacaagtt aacaacaaca attgcattca ttttatgttt caggttcagg gggaggtgtg 4860
ggaggttttt taaagcaagt aaaacctcta caaatgtggt atggaaggcg cgcccaattc 4920
gccctatagt gagtcgtatt acgtcgcgct cactggccgt cgttttaca cgtcgtgact 4980
gggaaaacc tggcgttacc caacttaatc gccttgcagc acatccccct ttcgccagct 5040
ggcgtaatag cgaagaggcc cgcaccgaaa cgcccttccc aacagttgcg cagcctgaat 5100
ggcgaatggg agcgcctgt agcggcgc at taagcgcggc ggggtgtggtg gttacgcgca 5160
gctgaccgc tacacttggc agcgccttag cgcccgctcc tttcgtttc ttccttctc 5220
ttctgccac gttcgcggc tttccccgtc aagctctaaa tcgggggctc ccttaggggt 5280 20
tccgatttag tgctttacgg cacctcgacc caaaaaact tgattagggt gatggttggc 5340
ctgtagtggg ccatagccct gatagacgg ttttcgccct ttgacgttg agtccacgtt 5400
ctttaatagt ggactcttgt tccaaactgg aacaacactc aacctatct cggcttattc 5460
ttttgattta taagggattt tgccgatttc ggcctattgg ttaaaaaatg agctgattta 5520
aaaaaaattt aacgcgaatt ttaacaaaat attaacgctt acaatttagg tggcactttt 5580
cggggaatg tgcgcggaac ccctatttgt ttatttttct aaatacattc aaatatgtat 5640
ccgctcatga gacaataacc ctgataaatg ctcaataat attgaaaaag gaagagtatg 5700
agtattcaac atttccgtgt cgcccttatt ccctttttg cggcattttg ccttccgtt 5760
tttgctcacc cagaaacgct ggtgaaagta aaagatgctg aagatcagtt ggggtgcacga 5820
gtgggttaca tcgaactgga tctcaacagc ggtaagatcc ttgagagttt tcgccccgaa 5880 30
gaacgttttc caatgatgag cactttttaa gttctgctat gtggcgcggt attatcccgt 5940
attgacgccg ggcaagagca actcggctgc cgcatacact attctcagaa tgacttggtt 6000
gagtactcac cagtcacaga aaagcatctt acggatggca tgacagtaag agaattatgc 6060
agtgctgcca taacctgag tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga 6120
ggaccgaagg agctaaccgc ttttttgac aacatggggg atcatgtaac tcgccttgat 6180
cgttgggaac cggagctgaa tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgatgcct 6240
gtagcaatgg caacaacgtt gcgcaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc 6300
cggcaacaat taatagactg gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg 6360
gcccttccgg ctggctggtt tattgctgat aaatctggag ccggtgagcg tggttctcgc 6420
ggtatcattg cagcactggg gccagatggt aagccctccc gtatcgtagt tatctacacg 6480 40
acggggagtc aggcaactat ggatgaacga aatagacaga tcgctgagat aggtgcctca 6540
ctgattaagc attggttaact gtcagaccaa gtttactcat atatacttta gattgattta 6600
aaacttcatt tftaatttaa aaggatctag gtgaagatcc tttttgataa tctcatgacc 6660
aaaatccctt aacgtgagtt ttcgttccac tgagcgtcag accccgtaga aaagatcaaa 6720
ggatcttctt gagatccttt ttttctgctc gtaatctgct gcttgcaaac aaaaaacca 6780
ccgctaccag cgggtggtttg tttgccgat caagagctac caactctttt tccgaaggta 6840
actggcttca gcagagcgca gataccaaat actgttcttc tagttagcc gtagttaggc 6900
caccacttca agaactctgt agcaccgcct acatacctcg ctctgctaact cctgttacca 6960
gtggctgctg ccagtggcga taagtcgtgt cttaccgggt tggactcaag acgatagtta 7020
ccggataagg cgcagcggtc gggctgaacg gggggttcgt gcacacagcc cagcttggag 950

7080

cgaacgacct acaccgaact gagataccta cagcgtgagc tatgagaaag cgccacgctt 7140
cccgaaggga gaaaggcgga caggtatccg gtaagcggca gggtcggaac aggagagcgc

7200

acgaggggagc ttccaggggg aaacgcctgg tatctttata gtcctgtcgg gtttcgccac 7260
ctctgacttg agcgtcgatt tttgtgatgc tcgtcagggg ggcggagcct atggaaaaac 7320
gccagcaacg cggccttttt acggttcctg gccttttgct ggccttttgc tcacatggtc 7380
tttctgctg tttccctga ttctgtggat aaccgtatta ccgcctttga gtgagctgat 7440
accgctcgc gcagccgaac gaccgagcgc agcgagtcag tgagcgagga agcggagagc

7500

gccccaatagc caaaccgcct ctccccgcgc gttggccgat tcattaatgc agctggcagc 7560
acaggtttcc cgactggaaa gcgggcagtg agcgcaacgc aattaatgtg agttagctca 7620
ctcattaggc accccaggct ttacacttta tgcttccggc tcgtatgttg tgtggaattg 7680
tgagcggata acaatttcac acaggaaaca gctatgacca tgattacgcc aagcgcgtca 7740
attaaccctc actaaaggga acaaaagctg ttaattaa 7778

10

210 66

211 8177

212 DNA

213 artificial sequence

220

20

223 Matrice CD25 locus_IL12a_2A_IL12b pCLS30520 full sequence

400 66

gtttattatt cctgttccac agctattgtc tgccatataa aaacttaggc caggcacagt 60
ggctcacacc tgtaatccca gcactttgga aggccgaggc aggcagatca caaggtcagg 120
agttcgagac cagcctggcc aacatagcaa aaccccatct ctactaaaaa taaaaaatt 180
agccaggcat ggtggcgtgt gcactggttt agagtgagga ccacattttt ttggtgccgt 240
gttacacata tgaccgtgac tttgttacac cactacagga ggaagagtag aagaacaatc 300
ggttctggcg taaaacagac ttgaatttt gaccttctca agttggcggg agacgtggag 360
tccaaccag ggccatgtg gccccctggg tcagcctccc agccaccgcc ctacctgcc 420
gcggccacag gtctgcatcc agcggctcgc cctgtgtccc tgcagtgccg gctcagcatg 480 30
tgtccagcgc gcagcctcct cttgtggct accctggctc tcttgacca cctcagttg 540
gccagaaacc tcccgtggc cactccagac ccaggaatgt tccatgcct tcaccactcc 600
caaaacctgc tgagggccgt cagcaacatg ctccagaagg ccagacaaac tctagaattt 660
tacccttgca cttctgaaga gattgatcat gaagatatca caaaagataa aaccagcaca 720
gtggaggcct gtttaccatt ggaattaacc aagaatgaga gttgcctaaa ttccagagag 780
acctctttca taactaatgg gagttgcctg gcctccagaa agacctctt tatgatggc 840
ctgtgcctta gtagtattta tgaagacttg aagatgtacc aggtggagtt caagaccatg 900
aatgcaaagc ttctgatgga tcctaagagg cagatctttc tagatcaaaa catgctggca 960
gttattgatg agctgatgca ggccctgaat ttcaacagtg agactgtgcc acaaaaatcc 1020
tcccttgaag aaccggattt ttataaaact aaaatcaagc tctgcatact tttcatgct 1080 40
ttcagaattc gggcagtgac tattgataga gtgatgagct atctgaatgc ttccggaagc 1140
ggagctacta acttcagcct gctgaagcag gctggagacg tggaggagaa ccctggacct 1200
atgtgtcacc agcagttggt catctcttgg tttccctgg ttttcttggc atctcccctc 1260
gtggccatat gggaactgaa gaaagatgtt tatgtcgtag aattggattg gtatccggat 1320
gcccctggag aatgggtgg ctcacctgt gacaccctg aagaagatgg tatcacctgg 1380
accttggacc agagcagtga ggtcttaggc tctggcaaaa ccctgacct ccaagtcaaa 1440
gagtttggag atgctggcca gtacacctgt cacaaaggag gcgaggttct aagccattcg 1500
ctctgctgc ttcacaaaaa ggaagatgga atttggtcca ctgatatttt aaaggaccag 1560
aaagaaccca aaaataagac ctttctaaga tgcgaggcca agaattattc tggacgtttc 1620
acctgctggt ggctgacgac aatcagctact gatttgacat tcagtgctcaa aagcagcaga 1680 50

ggctcttctg acccccaagg ggtgacgtgc ggagctgcta cactctctgc agagagagtc 1740
 agaggggaca acaaggagta tgagtactca gtggagtgcc aggaggacag tgcctgccca
 1800

gctgctgagg agagtctgcc cattgaggtc atggtggatg ccgttcacaa gctcaagtat 1860
 gaaaactaca ccagcagctt ctcatcagg gacatcatca aacctgacct acccaagaac 1920
 ttgcagctga agccattaaa gaattctcgg cagggtggagg tcagctggga gtacctgac 1980
 acctggagta ctccacattc ctacttctcc ctgacattct gcgttcaggt ccagggcaag 2040
 agcaagagag aaaagaaaga tagagtcttc acggacaaga cctcagccac ggtcatctgc 2100
 cgcaaaaatg ccagcattag cgtgcgggcc caggaccgct actatagctc atcttggagc 2160
 gaatgggcat ctgtgccctg cagtgagggc agaggcagcc tctgacctg cggcgacgtc 2220 10
 gaggagaacc ccgggccccat gggggcaggt gccaccggcc gcgcatgga cgggccgcgc
 2280

ctgctgctgt tctgcttct gggggtgtcc cttggaggtg ccaaggaggc atgccccaca 2340
 ggctgtaca cacacagcgg tgagtgtctc aaagcctgca acctgggcca ggggtgtggcc 2400
 cagccttgtg gagccaacca gaccgtgtgt gagcctgcc tggacagcgt gacgttctcc 2460
 gacgtggtga gcgacaccga gccgtgcaag ccgtgcaccg agtgcgtggg gctccagagc
 2520

atgtcggcgc cgtgcgtgga ggccgatgac gccgtgtgcc gctgcgccta cggctactac 2580
 caggatgaga cgactgggcg ctgcgagggc tgccgcgtgt gcgaggcggg ctcgggcctc
 2640

gtgttctcct gccaggacaa gcagaacacc gtgtgagagg agtgcgccga cggcacgtat 2700
 tccgacgagg ccaaccacgt ggaccctgtc ctgccctgca ccgtgtgcca ggacaccgag 2760
 cgccagctcc gcgagtgcac acgctgggcc gacgccgagt gcgaggagat ccctggccgt 2820
 tggattacac ggtccacacc cccagagggc tcggacagca cagccccag caccagggag 2880
 cctgaggcac ctccagaaca agacctata gccagcacgg tggcaggtgt ggtgaccaca 2940
 gtgatgggca gctccagcc cgtggtgacc cgaggcacca ccgacaacct catcctgtc 3000
 tattgctcca tcctggctgc tgtggtgtg ggtctgtgg cctacatagc cttcaagagg 3060
 tgaaaaacca aaagaacaag aatttcttgg taagaagccg ggaacagaca acagaagtca 3120
 tgaagcccaa gtgaaatcaa aggtgctaaa tggtcgcca ggagacatcc gttgtgcttg 3180
 cctgcgtttt ggaagctctg aagtcacatc acaggacacg gggcagtgcc aacctgtct 3240 30
 ctatgccagc tcagtcccat cagagagcga gcgctacca cttctaata gcaatttgc 3300
 cgttgaagag gaagggcaaa accactagaa ctctccatct tatttcatg tataatgtgt 3360
 catgcgatcg ctccggtgcc cgtcagtggt cagagcgcac atcgcaccaca gtccccgaga 3420
 agttgggggg aggggtcggc aattgaacgg gtgcctagag aaggtggcgc ggggtaaact
 3480

gggaaagtga tctcgtgtac tggctccgcc ttttcccga ggggtggggga gaaccgtata 3540
 taagtgcagt agtcgccgtg aacgttcttt ttcgcaacgg gttgcccgc agaacacagc 3600
 tgaagcttcg aggggctcgc atctctcctt cacgcgcccg ccgccctacc tgaggccgcc 3660
 atccacgccg gttgagtcgc gttctgcgc ctcccgcctg tggtgccctc tgaactgcgt 3720
 ccgccgtcta ggtaagttta aagctcaggt cgagaccggg ctttgtccg gcgctccctt 3780 40
 ggagcctacc tagactcagc cggctctcca cgcttgcct gaccctgctt gctcaactct 3840
 acgtctttgt ttgctttct gttctgcgc gttacagatc caagctgtga ccggcgccca 3900
 cctgagatca ccggcgccac catggcttct taccctggac accagcatgc ttctgccttt 3960
 gaccaggctg ccagatccag gggccactcc aacaggagaa ctgccctaag acccagaaga
 4020

cagcaggaag cactgaggt gaggcctgag cagaagatgc caaccctgct gaggggtgtac 4080
 attgatggac ctcatggcat gggcaagacc accaccactc aactgctggt ggcactgggc 4140
 tccagggatg acattgtgta tgtgcctgag ccaatgacct actggagagt gctaggagcc 4200
 tctgagacca ttgccaacat ctacaccacc cagcacaggc tggaccaggg agaaatctct 4260
 gctggagatg ctgctgtggt gatgacctt gccagatca caatgggaat gccctatgct 4320 50

gtgactgatg ctgttctggc tcctcacatt ggaggagagg ctggctcttc tcatgcccct 4 380
 ccacctgccc tgacctgat ctttgacaga caccaccttg cagccctgct gtgctacca 4 440
 gcagcaaggt acctcatggg ctccatgacc ccacaggctg tgctggcttt tgtggccctg 4 500
 atccctcaa cctccctgg caccaacatt gttctgggag cactgcctga agacagacac 4 560
 attgacaggc tggcaaagag gcagagacct ggagagagac tggacctggc catgctggct 4 620
 gcaatcagaa ggggtgtatg actgctggca aacactgtga gatacctcca gtgtggaggc 4 680
 tcttggagag aggactgggg acagctctct ggaacagcag tgccccctca aggagctgag 4 740
 cccagtcca atgctggctc aagaccccac attggggaca cctgtttcac cctgttcaga 4 800
 gccccgtagc tgctggctcc caatggagac ctgtacaatg tgtttgcctg ggctctggat 4 860
 gttctagcca agaggctgag gtccatgcat gtgttcatcc tggactatga ccagttccct 4 920 10
 gctggatgca gagatgctct gctgcaacta acctctggca tggtgacagac ccatgtgacc 4 980
 accctggca gcatccccac catctgtgac ctagccagaa ctttgccag ggagatggga 5 040
 gaggccaact aaggcgcgcc actcgagcgc tagctggcca gacatgataa gatacattga 5 100
 tgagtttga caaaccacaa ctagaatgca gtgaaaaaaaa tgctttattt gtgaaattt 5 160
 tgatgctatt gctttattt taaccattat aagctgcaat aaacaagtta acaacaacaa 5 220
 ttgcattcat tttatgtttc aggttcaggg ggagggtgtg gagggttttt aaagcaagta 5 280
 aaacctctac aaatgtggtg tggaaaggcg gcccaattcg cctatagt agtcgtatta 5 340
 cgtcgcgctc actggccgct gttttacaac gtcgtgactg ggaaaacct ggctgttacc 5 400
 aacttaatcg cttgacagca catccccctt tcgccagctg gcgtaatagc gaagaggccc 5 460
 gcaccgaaac gcccttcca acagttgcg agcctgaatg gcgaatggga gcgcccgtga 5 520 20
 gcggcgcatf aagcgcggcg ggtgtggtg ttacgcgcag cgtgaccgct aacttgcca 5 580
 gcgcccctagc gcccgctcct ttcgctttct tcccttcctt tctcgccacg ttcgcccgt 5 640
 tccccgtca agctctaaat cgggggctcc ctttaggggt ccgatttagt gctttacggc 5 700
 acctgacct caaaaaactt gattaggggt atggttggcc ttagtgggc catagccctg 5 760
 atagacgggt tttcgccctt tgacgttggg gtccacgttc tttaatagt gactcttgtt 5 820
 ccaaactgga acaacactca accctatctc ggtctattct tttgatttat aagggatttt 5 880
 gccgatttcg gcctattggt taaaaaatga gctgatttaa caaaaattta acgcaattt 5 940
 taacaaaata ttaacgctta caatttaggt ggcacttttc ggggaaatgt gcgcggaacc 6 000
 cctatttggt ttttttcta aatacattca aatatgtatc cgctcatgag acaataacct 6 060
 tgataaatgc ttcaataata ttgaaaaagg aagagtatga gtattcaaca tttccgtgtc 6 120 30
 gcccttattc cttttttgc ggcattttgc cttcctgttt ttgctcacc agaaacgctg 6 180
 gtgaaagtaa aagatgctga agatcagttg ggtgcacgag tgggttacat cgaactggat 6 240
 ctcaacagcg gtaagatcct tgagagtttt cgccccgaag aacgttttcc aatgatgagc 6 300
 acttttaaag ttctgctatg tggcgcggta ttatcccgta ttgacgcccgg gcaagagcaa 6 360
 ctcggtcgcc gcatacacta ttctcagaat gacttgggtg agtactcacc agtcacagaa 6 420
 aagcatctta cggatggcat gacagtaaga gaattatgca gtgctgcat aacctgagt 6 480
 gataacactg cggccaactt acttctgaca acgatcggag gaccgaagga gctaaccgct 6 540
 tttttgcaca acatggggga tcatgtaact cgccctgac gttgggaacc ggagctgaat 6 600
 gaagccatac caaacgacga gcgtgacacc acgatgcctg tagcaatggc aacaacgttg 6 660
 cgaaaactat taactggcga actacttact ctagcttccc ggcaacaatt aatagactgg 6 720 40
 atggaggcgg ataaagtgc aggaccactt ctgcgctcgg cccttccggc tggctggttt 6 780
 attgctgata aatctggagc cggtgagcgt gtttctcgcg gtatcattgc agcactgggg 6 840
 ccagatggta agccctccc tatcgtagt atctacacga cggggagtca ggcaactatg 6 900
 gatgaacgaa atagacagat cgctgagata ggtgcctcac tgattaagca ttggtaactg 6 960
 tcagaccaag ttactcata tatactttag attgatttaa aacttcattt ttaatttaa 7 020
 aggatctagg tgaagatcct ttttgataat ctcatgacca aaatccctta acgtgagttt 7 080
 tcgttccact gagcgtcaga ccccgtagaa aagatcaaag gatcttcttg agatcctttt 7 140
 tttctgcgcg taatctgctg ctgcaacaa aaaaaaccac cgctaccagc ggtggtttgt 7 200
 ttgccggatc aagagctacc aactcttttt ccgaaggtaa ctggcttcag cagagcgcag 7 260
 ataccaaata ctgttcttct agtgtagccg tagttaggcc accacttcaa gaactctgta 7 320 50

gcaccgccta catacctcgc tctgctaate ctgttaccag tggctgctgc cagtggcgat 7380
 aagtcgtgct ttaccggggt ggactcaaga cgatagttac cggataaggc gcagcggctc 7440
 ggctgaacgg ggggttcgtg cacacagccc agcttggagc gaacgaccta caccgaactg 7500
 agatacctac agcgtgagct atgagaaagc gccacgcttc ccgaaggag aaaggcggac 7560
 aggtatccgg taagcggcag ggtcggaaaca ggagagcgcga cgagggagct tccaggggga
 7620

aacgcctggt atctttatag tcctgtcggg tttcgccacc tctgacttga gcgtcgattt 7680
 ttgtgatgct cgtcaggggg gcgagccta tggaaaaacg ccagcaacgc ggccttttta 7740
 cggttcctgg ccttttgctg gccttttgc cecatggtct ttcctgcgtt atcccctgat 7800
 tctgtggata accgtattac cgcctttgag tgagctgata ccgctcggc cagccgaacg 7860
 accgagcgcga gcgagtcagt gagcggaggaa gcgagagcgc cccaatacgc aaaccgcctc
 7920

tccccgcgcg ttggccgatt cattaatgca gctggcacga caggtttccc gactggaaag 7980
 cgggcagtga gcgcaacgca attaatgtga gtagctcac tcattaggca ccccaggctt 8040
 tacactttat gcttccggct cgtatgttgt gtggaattgt gagcggataa caatttcaca 8100
 caggaaacag ctatgacat gattacgcca agcgcgtcaa ttaaccctca ctaaagggaa 8160
 caaagctgt taattaa 8177

210 67

211 6349

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 Matrice PD1 locus_IL12a_2A_IL12b pCLS30511 full sequence

400 67

tcgcgcggtt cggatgatgac ggtgaaaacc tctgacacat gcagctcccg gagacgggtca 60
 cagcttgtct gtaagcggat gccgggagca gacaagcccg tcagggcgcg tcagcgggtg 120
 ttggcgggtg tcggggctgg cttactatg cggcatcaga gcagattgta ctgagagtgc 180
 accatatgcg gtgtgaaata ccgcacagat gcgtaaggag aaaataccgc atcaggcgcc 240
 attcgcatt caggctgcgc aactgttggg aagggcgatc ggtgcgggccc tcttcgctat 300
 tacgccagct ggcgaaaggg ggatgtgctg caaggcgatt aagttgggta acgccagggt 360
 tttcccagtc acgacgttgt aaaacgacgg ccagtgaatt cgagctcggg acctcgcgaa 420
 tgcattctaga tgactcccca gacaggccct ggaaccccc caccttctcc ccagccctgc 480
 tcgtgggtgac cgaaggggac aacgccacct tcacctgcag cttctccaac acatcggaga 540
 gcttcgtgct aaactggtac cgcatgagcc ccagcaacca gacggacaag ctggccgcct 600
 tccccgagga ccgcagccag cccggccagg actgcccgtt ccgtgtcaca caactgccca 660
 acgggcgtga cttccacatg agcgtggtca gggcccggcg caatgacagc ggcacctacc 720
 tctgtggggc cggttctggc gtgaaacaga ctttgaattt tgaccttctc aagttggcgg 780
 gagacgtgga gtccaacca gggcccatgt ggccccctgg gtcagcctcc cagccaccgc 840
 cctcacctgc cgcggccaca ggtctgcac cagcggctcg cctgtgtcc ctgcagtgcc 900
 ggctcagcat gtgtccagcg cgcagcctcc tcctgtggc tacctggtc ctctggacc 960
 acctcagttt ggccagaaac ctccccgtgg ccaactccaga ccaggaatg ttcccatgcc 1020
 ttcaccactc ccaaaacctg ctgagggccg tcagcaacat gctccagaag gccagacaaa 1080
 ctctagaatt ttacccttgc acttctgaag agattgatca tgaagatat acaaaagata 1140
 aaaccagcac agtggaggcc tgtttacct tggaaattaac caagaatgag agttgcctaa 1200
 attccagaga gaccttttc ataactaatg ggagttgcct ggcctccaga aagacctctt 1260
 ttatgatggc cctgtgcctt agtagtattt atgaagactt gaagatgtac caggtggagt 1320
 tcaagacat gaatgcaaag cttctgatgg atcctaagag gcagatcttt ctgatcaaa 1380
 acatgctggc agttattgat gagctgatgc aggccctgaa tttcaacagt gagactgtgc 1440
 cacaaaaatc ctcccttgaa gaaccggatt tttataaaac taaaatcaag ctctgcatac 1500
 ttcttcatgc tttcagaatt cgggcagtga ctattgatag agtgatgagc tatctgaatg 1560

10

20

30

40

50

cttccggaag cggagctact aacttcagcc tgctgaagca ggctggagac gtggaggaga 1620
 accctggacc tatgtgtcac cagcagttgg tcatctcttg gttttccctg gtttttctgg 1680
 catctcccct cgtggccata tgggaactga agaaagatgt ttatgtcgtg gaattggatt 1740
 ggtatccgga tgcccctgga gaaatgggtg tcttcacctg tgacaccctt gaagaagatg 1800
 gtatcacctg gaccttggac cagagcagtg aggtcttagg ctctggcaaa accctgacca 1860
 tccaagtcaa agagtttggg gatgctggcc agtacacctg tcacaaagga ggcgaggttc 1920
 taagccattc gctcctgctg cttcacaaaa aggaagatgg aatttgggtc actgatattt 1980
 taaaggacca gaaagaacc aaaaataaga cttttctaag atgcgaggcc aagaattatt 2040
 ctggacgttt cacctgctgg tggctgacga caatcagtac tgatttgaca ttcagtgatc 2100
 aaagcagcag aggcctcttct gacccccaaag gggtgacgtg cggagctgct acactctctg 2160 10
 cagagagagt cagaggggac aacaaggagt atgagtactc agtggagtgc caggaggaca
 2220
 gtgcctgccc agctgctgag gagagtctgc ccattgaggt catggtggat gccgttcaca 2280
 agctcaagta tgaaaactac accagcagct tcttcatcag ggacatcatc aaacctgacc 2340
 cacccaagaa ctgacagctg aagccattaa agaattctcg gcaggtggag gtcagctggg 2400
 agtacctga cacctggagt actccacatt cctacttctc cctgacattc tgcgttcagg 2460
 tccagggcaa gagcaagaga gaaaagaaag atagagtctt cacggacaag acctcagcca
 2520
 cggctcatctg ccgcaaaaat gccagcatta gcgtgcgggc ccaggaccgc tactatagct 2580
 catcttggag cgaatgggca tctgtgccct gcagtgaggg cagagggcagc ctgctgacct 2640 20
 gcggcgacgt cgaggagaac cccggggcca tgggggcagg tgccaccggc cgcgcatgg
 2700
 acgggcccgc cctgctgctg ttgctgcttc tgggggtgtc cttggaggt gccaaaggagg 2760
 catgccccac aggcctgtac acacacagcg gtgagtgtcg caaagcctgc aaacctgggcg 2820
 aggggtgtggc ccagccttgt ggagccaacc agaccgtgtg tgagccctgc ctggacagcg 2880
 tgacgttctc cgacgtggtg agcgcgaccg agccgtgcaa gccgtgcacc gagtgcgtgg 2940
 ggctccagag catgtcggcg ccgtgcgtgg aggccgatga cgccgtgtgc cgctgcgcct 3000
 acggctacta ccaggatgag acgactgggc gctgcgagggc gtgccgcgtg tgcgagggcg
 3060
 gctcgggcct cgtgttctcc tgccaggaca agcagaacac cgtgtgcgag gagtgcctcg 3120 30
 acggcacgta ttccgacgag gccaaaccag tggaccctgt cctgccctgc accgtgtgcg 3180
 aggacaccga gcgccagctc cgcgagtga cacgctgggc cgacgccgag tgcgaggaga
 3240
 tccttgcccg ttggattaca cgggtccacac ccccagaggg ctccggacagc acagccccca 3300
 gcaccagga gcctgaggca cctccagaac aagacctcat agccagcacg gtggcaggtg 3360
 tggtgaccac agtgatgggc agctcccagc ccgtggtgac ccgaggcacc accgacaacc 3420
 tcatccctgt ctattgctcc atcctggctg ctgtggttgt gggctcttgt gcctacatag 3480
 cttcaagag gtgatctaga gggcccgttt aaaccgctg atcagcctcg actgtgcctt 3540
 ctagtggcca gccatctgtt gtttgcccct ccccgtgcc ttccttgacc ctggaaggtg 3600
 cactccac tgtcctttcc taataaatg aggaaattgc atcgcattgt ctgagtaggt 3660 40
 gtcattctat tctggggggg ggggtggggc aggacagcaa gggggaggat tgggaagaca 3720
 atagcaggca tgctggggat gcgggtgggct ctatgactag tggcgaattc ggcgcagatc 3780
 aaagagagcc tgcgggcaga gctcagggtg acaggtgcgg cctcggaggc cccggggcag
 3840
 ggggtgagctg agccggctct ggggtgggtg tcccctcctg cacaggatca ggagctccag 3900
 ggtcgtaggg cagggacccc ccagctccag tccagggctc tgcctgcac ctggggaatg 3960
 gtgaccggca tctctgtcct ctagctctgg aagcaccca gccctctag tctgccctca 4020
 cccctgacc tgaccctcca cctgacccc gtcctaacc ctgaccttg atcggatccc 4080
 gggcccgtcg actgcagagg cctgcatgca agcttggcgt aatcatggtc atagctgttt 4140
 cctgtgtgaa attgttatcc gctcacaatt ccacacaaca tacgagccgg aagcataaag 4200 50

tgtaaagcct ggggtgccta atgagtgagc taactcacat taattgcggtt gcgctcactg 4 260
 cccgctttcc agtcgggaaa cctgtcgtgc cagctgcatt aatgaatcgg ccaacgcgcg 4 320
 gggagaggcg gtttgcgtat tgggcgctct tccgcttccct cgctcactga ctcgctgcg 4 380
 tcggtcgttc ggctgcggcg agcggtatca gctcactcaa aggcggtaat acggttatcc 4 440
 acagaatcag gggataacgc aggaaagaac atgtgagcaa aaggccagca aaaggccagg
 4500

aaccgtaaaa aggccgcggtt gctggcggtt ttccataggc tccgcccccc tgacgagcat 4 560
 cacaaaaatc gacgctcaag tcagaggtgg cgaaaccoga caggactata aagataccag 4 620
 gcgtttcccc ctggaagctc cctcgtgcg cctcctgttc cgaccctgcc gcttaccgga 4 680
 tacctgtccg cctttctccc ttcgggaagc gtggcggtt ctcatagctc acgctgtagg 4 740 10
 tatctcagtt cgggtgtagg cgttcgctcc aagctgggct gtgtgcacga accccccgtt 4 800
 cagccccgacc gctgcgctt atccggtaac tatcgtcttg agtccaacc ggtaaagacac 4 860
 gacttatcgc cactggcagc agccactggt aacaggatta gcagagcgag gtatgtaggc 4 920
 ggtgctacag agttcttgaa gtgggtggcct aactacggct aactagaag aacagtatft 4 980
 ggtatctgcg ctctgctgaa gccagttacc ttcggaaaaa gagttggtag ctcttgatcc 5 040
 ggcaaaaaaa ccaccgctgg tagcgggtgt tttttgttt gcaagcagca gattacgcgc 5 100
 agaaaaaaag gatctcaaga agatcctttg atcttttcta cggggtctga cgctcagtgg 5 160
 aacgaaaact cacgtaagg gattttggtc atgagattat caaaaaggat cttcacctag 5 220
 atccttttaa attaaaaatg aagtttttaa tcaatctaaa gtatatatga gtaaacttgg 5 280
 tctgacagtt accaatgctt aatcagtgag gcacctatct cagcgatctg tctatttcgt 5 340 20
 tcatccatag ttgcctgact ccccgctcgt tagataacta cgatacggga gggcttacca 5 400
 tctggccccca gtgctgcaat gataccgcga gaccacgct caccggctcc agatttatca 5 460
 gcaataaacc agccagccgg aaggggccgag cgcagaagtg gtcttgcaac tttatccgcc 5 520
 tccatccagt ctattaattg ttgccgggaa gctagagtaa gtagtccgcc agttaatagt 5 580
 ttgcgcaacg ttgttgccat tgctacaggc atcgtgggtg cacgctcgtc gtttggtatg 5 640
 gcttcattca gctccggtc ccaacgatca aggcgagtta catgatcccc catgtttgtg 5 700
 aaaaaagcgg ttagctcctt cggctcctcc atcgttgtca gaagtaagtt ggccgcagtg 5 760
 ttatcactca tggttatggc agcactgcat aattcttta ctgtcatgcc atccgtaaga 5 820
 tgcttttctg tgactgggtga gtactcaacc aagtcattct gagaatagtg tatgcgggca 5 880
 ccgagttgct ctgcccggc gtcaatacgg gataatacgg cgccacatag cagaacttta 5 940 30
 aaagtgctca tcattggaaa acgttcttcg gggcgaaaac tctcaaggat cttaccgctg 6 000
 ttgagatcca gttcgatgta acccactcgt gcaccaact gatcttcagc atcttttact 6 060
 ttcaccagcg tttctgggtg agcaaaaaca ggaaggcaaa atgccgcaaa aaagggaata 6 120
 agggcgacac ggaaatgttg aatactcata ctcttcttt ttcaatatta ttgaagcatt 6 180
 tatcagggtt attgtctcat gagcggatac atatttgaat gtatttagaa aaataaacia 6 240
 ataggggttc cgcgcacatt tccccgaaaa gtgccacctg acgtctaaga aaccattatt 6 300
 atcatgacat taacctataa aataggcgt atcacgaggc ctttctgc 6 349

210 68

211 2489

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 HLA E trimer matrix (VMAPRTLFL peptide) inserted at the B2m locus

400 68

cacttagcat ctctggggcc agtctgcaaa gcgagggggc agccttaatg tgctccagc 60
 ctgaagtctt agaatgagcg cccgggtgtc caagctgggg cgcgcacccc agatcggagg 120
 gcgcccgatgt acagacagca aactcaccca gtctagtgca tgcttctta aacatcacga 180
 gactctaaga aaaggaaact gaaaacggga aagtcctct ctctaacctg gactgctgc 240
 gctggcttgg agacaggtga cggctcctgc gggccttgc ctgattggct gggcacgcgt 300
 ttaatataag tggaggcgtc gcgctggcgg gcattcctga agctgacagc attcggggccg 360 50

10

20

30

40

50

```

agatgtctcg ctccgtggcc ttagctgtgc tcgcgctact ctctcttagc ggcctcgaag 420
ctgttatggc tccgcgact ttattcttag gtggtggcgg atccggtggt ggcggttctg 480
gtggtggcgg ctccatccag cgtacgccca aaattcaagt ctacagccga catcctgcag 540
agaacggcaa atctaatttc ctgaactgct atgtatcagg ctttcaccct agcgatatag 600
aagtggacct gctgaaaaac ggagagagga tagaaaaggc cgaacacagc gacctctcct 660
ttccaagga ctggagcttt tatcttctgt attatactga atttacaccc acggaaaaag 720
atgagtatgc gtgccgagta aaccacgtca cgctgtcaca gcccaaaata gtaaaatggg 780
atcgcgacat ggggtggtggc ggttctggtg gtggcggttag tggcgggcga ggaagcggtg 840
gtggcggttc cggatctcac tcttgaagt atttccacac ttccgtgtcc cggcccggcc 900
gcggggagcc ccgcttcac tctgtgggct acgtggacga caccagttc gtgcgcttcg 960 10
acaacgacgc cgcgagtccg aggatggtgc cgcgggcgcc gtggatggag caggaggggg
1020
cagagtattg ggaccgggag acacggagcg ccagggacac cgcacagatt ttccgagtga 1080
acctgcggac gctgcgcggc tactacaatc agagcgaggc cgggtctcac acctgcagt 1140
ggatgcatgg ctgcgagctg gggcccgaca ggcgcttcc cgcgggtat gaacagttcg 1200
cctacgacgg caaggattat ctaccctga atgaggacct gcgctcctgg accgcggtgg 1260
acacggcggc tcagatctcc gagcaaaagt caaatgatgc ctctgaggcg gagcaccaga 1320
gagcctacct ggaagacaca tgcgtggagt ggctccacaa atacctggag aaggggaagg 1380
agacgctgct tcacctggag ccccaaaaga cacacgtgac tcaccacccc atctctgacc 1440
atgaggccac cctgagggtgc tgggctctgg gcttctaccc tgcggagatc aactgacct 1500 20
ggcagcagga tggggagggc catacccagg acacggagct cgtggagacc aggctgcag
1560
gggatggaac cttccagaag tgggcagctg tgggtggtgcc ttctggagag gagcagagat 1620
acacgtgcca tgtgcagcat gaggggctac ccgagcccgt caccctgaga tggaaagccgg 1680
cttcccagcc caccatcccc atcgtgggca tcattgctgg cctggttctc cttggatctg 1740
tggctctctg agctgtggtt gctgctgtga tatggaggaa gaagagctca ggtggaaaag 1800
gagggagcta ctataaggct gagtggagcg acagtgccca ggggtctgag tctcacagct 1860
tgtaactgtg ctttctagtt gccagccatc tgttgtttgc cctcccccg tgccttcctt 1920
gaccctggaa ggtgccactc ccactgtcct ttctaataa aatgaggaaa ttgcatcgca 1980
ttgtctgagt aggtgtcatt ctattctggg ggggtggggtg gggcaggaca gcaaggggga 2040 30
ggattgggaa gacaatagca ggcatgctgg ggatgcgggtg ggctctatgt ctctttctgg
2100
cctggaggct atccagcgtg agtctctcct accctcccgc tctggtcctt cctctcccgc 2160
tctgcaccct ctgtggccct cgctgtgctc tctcgtcccg tgacttccct tctccaagtt 2220
ctccttggtg gcccgccgtg gggctagtcc agggctggat ctcggggaag cggcgggggtg 2280
gcctgggagt ggggaagggg gtgcgcaccc gggacgcgcg ctacttgccc ctttcggcgg 2340
ggagcagggg agaccttgg cctacggcga cgggagggtc gggacaaagt ttagggcgtc
2400
gataagcgtc agagcgccga ggttggggga gggtttctct tccgctcttt cgcggggcct 2460
ctggctcccc cagcgcagct ggagtgggg 2489
210 69 40
211 2289
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 HLA E trimer matrix (VMAPRTLFL peptide)
400 69
cgcgcacccc agatcggagg gcgccgatgt acagacagca aactcaccca gtctagtgca 60
tgccttctta aacatcacga gactctaaga aaaggaaact gaaaacggga aagtccctct 120
ctctaacctg gcaactgcgtc gctggcttgg agacagggtga cggctccctgc gggccttgtc 180
ctgattggct gggcacgcgt ttaatataag tggaggcgtc gcgctggcgg gcattcctga 240 50

```

```

agctgacagc attcggggccg agatgtctcg ctccgtggcc ttagctgtgc tcgcgctact 300
ctctcttagc ggcctcgaag ctgttatggc tccgcggact ttattcttag gtgggtggcgg 360
atccgggtggt ggcggttctg gtgggtggcgg ctccatccag cgtacgccca aaattcaagt 420
ctacagccga catcctgcag agaacggcaa atctaatttc ctgaactgct atgtatcagg 480
ctttcaccct agcgatatag aagtggacct gctgaaaaac ggagagagga tagaaaaggt 540
cgaacacagc gacctctcct ttccaagga ctggagcttt tatcttctgt attatactga 600
attacaccc acggaaaaag atgagtatgc gtgccgagta aaccacgtca cgctgtcaca 660
gccccaaaata gtaaaatggg atcgcgacat gggtggtggc ggttctggtg gtggcggtag 720
tgccggcgga ggaagcggtg gtggcggttc cggatctcac tccttgaagt atttccacac 780
ttcgtgtcc cggcccggcc gcggggagcc ccgcttcac tctgtgggct acgtggacga 840 10
caccagttc gtgcgcttcg acaacgacgc cgcgagtcg aggatggtgc cgcgggcgcc 900
gtggatggag caggaggggt cagagtattg ggaccgggag acacggagcg ccagggacac
960
cgcacagatt ttccgagtga acctgcggac gctgcgcggc tactacaatc agagcggaggc 1020
cgggtctcac accctgcagt ggatgcatgg ctgcgagctg gggcccgaca ggcgcttctt 1080
ccgcgggtat gaacagttcg cctacgacgg caaggattat ctaccctga atgaggacct 1140
gcgctcctgg accgcggtgg acacggcggc tcagatctcc gagcaaaagt caaatgatgc 1200
ctctgaggcg gagcaccaga gagcctacct ggaagacaca tgcgtggagt ggctccacaa 1260
atacctggag aaggggaagg agacgctgct tcacctggag cccccaaaga cacacgtgac 1320
tcaccacccc atctctgacc atgaggccac cctgaggtgc tgggctctgg gcttctaccc 1380 20
tgccgagatc aactgacct ggcagcagga tggggagggc catacccagg acacggagct
1440
cgtggagacc aggcctgcag gggatggaac ctccagaag tgggcagctg tgggtggtgcc 1500
ttctggagag gagcagagat acacgtgcca tgtgcagcat gaggggctac ccgagcccgt 1560
caccctgaga tgaagccgg ctccagcc caccatcccc atcgtgggca tcattgctgg 1620
cctggttctc ctggatctg tggctctctg agctgtggtt gctgctgtga tatggaggaa 1680
gaagagctca ggtggaaaag gagggagcta ctataaggct gagtggagcg acagtgccca
1740
ggggtctgag tctcacagct tgtaactgtg ctttctagt gccagccatc tgttgtttgc 1800
ccctcccccg tgccttctt gaccctggaa ggtgccactc ccaactgtcct ttccataata 1860 30
aatgaggaaa ttgcatcgca ttgtctgagt aggtgtcatt ctattctggg ggggtggggtg
1920
gggcaggaca gcaaggggga ggattgggaa gacaatagca ggcatgctgg ggatgcggtg
1980
ggctctatgt ctctttctgg cctggaggct atccagcgtg agtctctcct accctcccgc 2040
tctggtcctt cctctcccgc tctgcacct ctgtggccct cgctgtgctc tctcgctccg 2100
tgacttccct tctccaagtt ctcttggtg gccgcctgtg gggctagtcc agggctggat 2160
ctcggggaag cggcggggtg gcctgggagt ggggaagggg gtgcgcaccc gggacgcgcg
2220
ctacttggcc ctttcggcgg ggagcagggg agaccttgg cctacggcga cgggagggtc 2280
gggacaaag 2289 40
210 70
211 2489
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 HLA E trimer matrix (VMAPRTLIL peptide) inserted at the B2m locus
400 70
cacttagcat ctctggggcc agtctgcaa gcgagggggc agccttaatg tgcctccagc 60
ctgaagtctt agaatgagcg cccggtgtcc caagctgggg cgcgcacccc agatcggagg 120
gcccgatgt acagacagca aactcaccca gtctagtga tgccttctta aacatcacga 180 50

```

gactctaaga aaaggaaact gaaaacggga aagtccctct ctctaacctg gcaactgcgtc 240
gctggcctgg agacagggtga cggtccttgc gggccttgc ctgattggct gggcacgcgt 300
ttaatataag tggaggcgtc gcgctggcgg gcattcctga agctgacagc attcgggccg 360
agatgtctcg ctccgtggcc ttagctgtgc tcgcgctact ctctcttagc ggcctcgaag 420
ctgttatggc tccgcggact ttaatttttag gtggtggcgg atccgggtggg ggcggttctg 480
gtggtggcgg ctccatccag cgtacgcca aaattcaagt ctacagccga catcctgcag 540
agaacggcaa atctaatttc ctgaactgct atgtatcagg ctttcaccct agcgatatag 600
aagtggacct gctgaaaaac ggagagagga tagaaaagg cgaacacagc gacctctcct 660
ttccaagga ctggagcttt tatcttctgt attatactga atttacacc acggaaaaag 720
atgagtatgc gtgccgagta aaccacgtca cgctgtcaca gcccaaaata gtaaaatggg 780 10
atcgcgacat ggggtgggtggc ggttctgggt gtggcggtag tggcggcggg ggaagcgggtg 840
gtggcggttc cggatctcac tccttgaagt atttccacac ttccgtgtcc cggcccggcc 900
gcggggagcc cgccttcac tctgtgggt acgtggacga caccagttc gtgcgcttcg 960
acaacgacgc cgcgagtccg aggatgggtgc cgcgggccc gtggatggag caggaggggg
1020

cagagtattg ggaccgggag acacggagcg ccagggacac cgcacagatt ttccgagtga 1080
acctgcggac gctgcgcggc tactacaatc agagcgaggc cgggtctcac accctgcagt 1140
ggatgcatgg ctgcgagctg gggcccgaca ggcgcttcc cgcgggtat gaacagttcg 1200
cctacgacgg caaggattat ctacacctga atgaggacct gcgctcctgg accgcgggtgg 1260
acacggcggc tcagatctcc gagcaaaagt caaatgatgc ctctgaggcg gagcaccaga 1320 20
gagcctacct ggaagacaca tgcgtggagt ggctccacaa atacctggag aaggggaagg 1380
agacgtgct tcacctggag ccccaaaaga cacacgtgac tcaccacccc atctctgacc 1440
atgaggccac cctgagggtgc tgggctctgg gcttctacc tgcggagatc aactgacct 1500
ggcagcagga tggggagggc catacccagg acacggagct cgtggagacc aggcttgcag
1560

gggatggaac cttccagaag tgggcagctg tgggtgggtgcc ttctggagag gagcagagat 1620
acacgtgccca tgtgcagcat gaggggctac ccgagcccgt caccctgaga tggaaagccgg 1680
cttcccagcc caccatcccc atcgtgggca tcattgctgg cctggttctc cttggatctg 1740
tggctctctgg agctgtggtt gctgctgtga tatggaggaa gaagagctca ggtggaaaag 1800
gagggagcta ctataaggct gagtggagcg acagtgccca ggggtctgag tctcacagct 1860 30
tgtaactgtg ctttctagtt gccagccatc tfttgtttgc ccctcccccg tgccttcctt 1920
gaccctggaa ggtgccactc ccactgtcct ttctaataa aatgaggaaa ttgcatcgca 1980
ttgtctgagt aggtgtcatt ctattctggg ggggtggggtg gggcaggaca gcaaggggga 2040
ggattgggaa gacaatagca ggcattgctgg ggatgcgggtg ggctctatgt ctctttctgg 2100
cctggaggct atccagcgtg agtctctcct accctcccgc tctggctcct cctctcccgc 2160
tctgcacct ctgtggcct cgctgtgctc tctcgctccg tgacttccct tctccaagtt 2220
ctccttgggtg gcccgccgtg gggctagtcc agggctggat ctcggggaag cggcgggggtg 2280
gcctgggagt ggggaagggg gtgcgcaccc gggacgcgcg ctacttgccc ctttcggcgg 2340
ggagcagggg agacctttg cctacggcga cgggaggggtc gggacaaaagt ttagggcgtc
2400 40

gataagcgtc agagcgcga ggttggggga gggtttctct tccgctcttt cgcggggcct 2460
ctggctcccc cagcgcagct ggagtgggg 2489

- 210 71
- 211 2289
- 212 DNA
- 213 artificial sequence
- 220
- 223 HLA-E trimer matrix (VMAPRTLIL peptide)
- 400 71

cgcgaccccc agatcggagg gcgccgatgt acagacagca aactcaccca gtctagtgca 60 50

tgccttctta aacatcacga gactctaaga aaaggaaact gaaaacggga aagtccctct 120
 ctctaacctg gcactgcgtc gctggcttgg agacaggtga cggtcctgc gggccttgtc 180
 ctgattggct gggcacgcgt ttaatataag tggaggcgtc gcgctggcgg gcattcctga 240
 agctgacagc attcgggccc agatgtctcg ctccgtggcc ttagctgtgc tcgcgctact 300
 ctctcttagc ggcctcgaag ctgttatggc tccgcggact ttaattttag gtgggtggcgg 360
 atccgggtgt ggcggttctg gtgggtggcgg ctccatccag cgtacgcca aaattcaagt 420
 ctacagccga catcctgcag agaacggcaa atctaattc ctgaactgct atgtatcagg 480
 ctttaccct agcgatatag aagtggacct gctgaaaaac ggagagagga tagaaaaggt 540
 cgaacacagc gacctctct tttccaagga ctggagcttt tatcttctgt attatactga 600
 atttacacc acggaaaaag atgagtatgc gtgccgagta aaccacgtca cgctgtcaca 660 10
 gccccaaaata gtaaaatggg atcgcgacat ggggtgtggc ggttctgggtg gtggcggtag 720
 tggcggcggga ggaagcgggtg gtggcggttc cggatctcac tccttgaagt atttccacac 780
 ttccgtgtcc cggcccggcc gcggggagcc ccgcttcac tctgtgggct acgtggacga 840
 caccagttc gtgcgcttcg acaacgacgc cgcgagtccg aggatgggtgc cgcgggccc 900
 gtggatggag caggaggggt cagagtattg ggaccgggag acacggagcg ccaggggacac 960
 cgcacagatt ttccgagtga acctgcggac gctgcgccc tactacaatc agagcggaggc 1020
 cgggtctcac acctgcagt ggatgcatgg ctgcgagctg gggcccgaca ggcgcttct 1080
 ccgcggttat gaacagttcg cctacgacgg caaggattat ctaccctga atgaggacct 1140
 gcgctcctgg accgcgggtg acacggcggc tcagatctcc gagcaaaagt caaatgatgc 1200 20
 ctctgaggcg gagcaccaga gagcctacct ggaagacaca tgcgtggagt ggctccaca 1260
 atacctggag aaggggaagg agacgctgct tcacctggag ccccaaaaga cacacgtgac 1320
 tcaccacccc atctctgacc atgaggccac cctgagggtgc tgggctctgg gcttctacc 1380
 tgcggagatc aactgacct ggcagcagga tggggagggc catacccagg acacggagct 1440
 cgtggagacc aggcctgcag gggatggaac ctccagaag tgggcagctg tgggtgggtgc 1500
 ttctggagag gagcagagat acacgtgcca tgtgcagcat gaggggctac ccgagcccgt 1560
 caccctgaga tggaaagccg cttcccagcc caccatcccc atcgtgggca tcattgctgg 1620
 cctggttctc ctgggatctg tggctctctg agctgtggtt gctgctgtga tatggaggaa 1680
 gaagagctca ggtggaaaag gagggagcta ctataaggct gagtggagcg acagtgccca 1740 30
 ggggtctgag tctcacagct tgtaactgtg ctttctagt gccagccatc tgttgtttgc 1800
 cctcccccg tgccttctt gacctggaa ggtgccactc ccaactgtcct ttcctaataa 1860
 aatgaggaaa ttgcatcgca ttgtctgagt aggtgtcatt ctattctggg ggggtgggtg 1920
 gggcaggaca gcaaggggga ggattgggaa gacaatagca ggcatgctgg ggatgcggtg 1980
 ggctctatgt ctcttctgg cctggaggct atccagcgtg agtctctct acctcccgc 2040
 tctggctctt cctctcccgc tctgcacct ctgtggccct cgctgtgctc tctcgctccg 2100
 tgacttccct tctccaagtt ctcttgggtg gccgcgctg gggctagtcc agggctggat 2160
 ctgggggaag cggcggggtg gcctgggagt ggggaagggg gtgcgcacc gggacgcgcg 2220 40
 ctacttggcc ctttcggcgg ggagcagggg agaccttgg cctacggcga cgggagggtc 2280
 gggacaaag 2289
 210 72
 211 2531
 212 DNA
 213 artificial sequence
 220
 223 UL18Trimer matrix_Actine peptide inserted at the B2m locus
 400 72

cacttagcat ctctggggcc agtctgcaaa gcgagggggc agccttaatg tgcctccagc 60
ctgaagtctt agaatgagcg cccgggtgtcc caagctgggg cgcgcacccc agatcggagg 120
gcgccgatgt acagacagca aactcaccca gtctagtgca tgccttctta aacatcacga 180
gactctaaga aaaggaaact gaaaacggga aagtccctct ctctaacctg gcactgctc 240
gctggccttg agacagggtga cggtccttgc gggccttgtc ctgattggct gggcacgcgt 300
ttaatataag tggaggcgtc gcgctggcgg gcattcctga agctgacagc attcggggccg 360
agatgtctcg ctccgtggcc ttagctgtgc tcgctact ctctcttagc ggcctcgaag 420
ctgccctgcc ccacgccatt ttgctggctcg gtgggtggcg atccgggtgt ggcggttctg 480
gtgggtggcg ctccatccag cgtacgcca aaattcaagt ctacagccga catcctgcag 540
agaacggcaa atctaatttc ctgaactgct atgtatcagg ctttcaccct agcgatatag 600 10
aagtggacct gctgaaaaac ggagagagga tagaaaagg cgaacacagc gacctctcct 660
ttccaagga ctggagcttt tatcttctgt attatactga atttacacc acggaaaaag 720
atgagtatgc gtgccgagta aaccacgtca cgctgtcaca gcccaaaata gtaaaatggg 780
atcgcgacat ggggtgggtggc ggttctgggt gtggcggtag tggcggcgga ggaagcgggtg 840
gtggcggttc cggatctatg cacgtgctga gatacggata taccggcatc ttcgacgata 900
catcccatat gactctgacc gtggctggga ttttgacgg acagcacttc tttacatacc 960
atgtgaacag ctccgataag gcttctagtc gagcaaatgg caccatctca tggatggcca 1020
acgtgagcgc agcctacccc acatatctgg acggagaacg cgctaaaggc gatctgatct 1080
tcaatcagac cgagcagaac ctgctggagc tggaaattgc tctggggtag aggtctcaga 1140
gtgtcctgac atggactcac gaatgtaata ccacagagaa cgggagcttc gtggcaggat 1200 20
atgagggctt tgggtgggac ggagaaacac tgatggagct gaaggataat ctgactctgt 1260
ggaccggccc taactacgaa atcagctggc tgaagcagaa caagacttac atcgacggaa 1320
agatcaaaaa catcagcgag ggcgatacta ccatccagcg caattacctg aagggcaact 1380
gcaccagtg gagcgtgatc tactctgggt tccagacacc tgtcactcac ccagtggta 1440
aagggggagt gcgaaaccag aatgacaacc gggccgaggc cttctgtaca tcctacggct 1500
tctttcccgg ggagatcaat attacttta tccattacgg caacaaggcc cccgacgatt 1560
ctgagcctca gtgcaatccc ctgctgccta cttcagatgg cacatttcac caggggtgct 1620
acgtcgctat cttctgcaat cagaactata cttgccgggt gacccatggg aactggactg 1680
tggaaatccc aatttcagtc accagccccg acgattcaag ctccggagag gtgccagatc 1740
accccaccgc aaataagaga tacaacacca tgacaatctc tagtgtgctg ctggccctgc 1800 30
tgctgtgctc actgctgttc gcttttctgc attacttcac aactctgaag cagtatctgc 1860
ggaacctggc atttgcttg cggtacagaa aagtgagatc aagctgactg tgccttctag 1920
ttgccagcca tctgttgttt gccctcccc cgtgccttcc ttgaccctgg aaggtgccac 1980
tcccactgtc ctttctaata aaaatgagga aattgcatcg cattgtctga gtaggtgtca 2040
ttctattctg gggggtgggg tggggcagga cagcaagggg gaggattggg aagacaatag 2100
caggcatgct ggggatgctg tgggctctat gtctcttct ggctggagg ctatccagcg 2160
tgagtctctc ctaccctccc gctctggctc ttctctccc gctctgcacc ctctgtggcc 2220
ctgctgtgct tctctcgtc cgtgacttcc cttctccaag ttctccttgg tggcccggcc 2280
tggggctagt ccagggctgg atctcgggga agcggcgggg tggcctggga gtggggaagg 2340 40
gggtgctcac ccgggacgcg cgctacttgc ccctttcggc ggggagcagg ggagacctt 2400
ggcctacggc gacgggaggg tcgggacaaa gtttagggcg tcgataagcg tcagagcgcc 2460
gagggtgggg gagggtttct cttccgctct ttccgggggc ctctggctcc cccagcgcag 2520
ctggagtggg g 2531

- 210 73
- 211 2331
- 212 DNA
- 213 artificial sequence
- 220

10

20

30

40

50

223 UL18Trimer matrix _Actine peptide
400 73

cgcgaccccc agatcggagg gcgccgatgt acagacagca aactcaccca gtctagtgca 60
 tgccttctta aacatcacga gactctaaga aaaggaaact gaaaacggga aagtccctct 120
 ctctaacctg gcaactgcgtc gctggcttgg agacaggtga cggtccttgc gggccttgtc 180
 ctgattggct gggcacgcgt ttaatataag tggaggcgtc gcgctggcgg gcattcctga 240
 agctgacagc attcgggccc agatgtctcg ctccgtggcc ttagctgtgc tcgcgctact 300
 ctctcttagc ggccctgaag ctgccctgcc ccacgccatt ttgcggctcg gtggtggcgg 360
 atccggtggt ggcggttctg gtggtggcgg ctccatccag cgtacgccca aaattcaagt 420
 ctacagccga catcctgcag agaacggcaa atctaatttc ctgaactgct atgtatcagg 480 10
 ctttcaccct agcgatatag aagtggacct gctgaaaaac ggagagagga tagaaaagg 540
 cgaacacagc gacctctct tttccaagga ctggagcttt tatcttctgt attatactga 600
 atttacaccc acggaaaaag atgagtatgc gtgccgagta aaccacgtca cgctgtcaca 660
 gcccaaaata gtaaaatggg atcgcgacat ggggtggtgg ggttctggtg gtggcggtag 720
 tggcggcggg ggaagcgggt gtggcgggtc cggatctatg cacgtgctga gatacggata 780
 taccggcatc ttcgacgata catccatat gactctgacc gtggtcggga ttttgacgg 840
 acagcacttc ttacatacc atgtgaacag ctccgataag gcttctagtc gagcaaattg 900
 caccatctca tggatggcca acgtgagcgc agcctacccc acatatctgg acggagaacg 960
 cgctaaaggc gatctgatct tcaatcagac cgagcagaac ctgctggagc tggaaattgc 1020
 tctggggtag aggtctcaga gtgtcctgac atggactcac gaatgtaata ccacagagaa 1080 20
 cgggagcttc gtggcaggat atgagggctt tgggtgggac ggagaaacac tgatggagct 1140
 gaaggataat ctgactctgt ggaccggccc taactacgaa atcagctggc tgaagcagaa 1200
 caagacttac atcgacggaa agatcaaaaa catcagcagag ggcgatacta ccatccagcg 1260
 caattacctg aagggaact gcacccagtg gagcgtgatc tactctgggt tccagacacc 1320
 tgtcactcac ccagtgggtca aagggggagt gcgaaaccag aatgacaacc gggccgagggc
 1380

cttctgtaca tcctacggct tctttcccgg ggagatcaat attactttta tccattacgg 1440
 caacaaggcc cccgacgatt ctgagcctca gtgcaatccc ctgctgccta cttcagatgg 1500
 cacatttcac caggggtgct acgtcgtat cttctgcaat cagaactata cttgccgggt 1560
 gacccatggg aactggactg tggaaatccc aatttcagtc accagccccg acgattcaag 1620 30
 ctccggagag gtgccagatc accccaccgc aaataagaga tacaacacca tgacaatctc 1680
 tagtgtgctg ctggccctgc tgctgtgccc actgctgttc gcttttctgc attacttcac 1740
 aactctgaag cagtatctgc ggaacctggc atttgcctgg cggtacagaa aagtgagatc 1800
 aagctgactg tgccttctag ttgccagcca tctgttgttt gccctcccc cgtgccttcc 1860
 ttgaccctgg aaggtgccac tcccactgtc ctttctaata aaaatgagga aattgcatcg 1920
 cattgtctga gtaggtgtca ttctattctg gggggtgggg tggggcagga cagcaagggg 1980
 gaggattggg aagacaatag caggcatgct ggggatgccc tgggctctat gtctctttct 2040
 ggccctggagg ctatccagcg tgagtctctc ctaccctccc gctctgggtcc ttcctctccc 2100
 gctctgcacc ctctgtggcc ctgctgtgc tctctcgtc cgtgacttcc cttctccaag 2160
 ttctccttgg tggcccgccg tggggctagt ccagggctgg atctcgggga agcggcgggg 2220 40
 tggcctggga gtggggaagg ggggtgcgcac ccgggacgcg cgctacttgc cctttcggc 2280
 ggggagcagg ggagacctt ggccctacggc gacgggaggg tcgggacaaa g 2331

210 74
 211 2531
 212 DNA
 213 artificial sequence

220
 223 UL18Trimer matrix _HLACw peptide inserted at the B2m locus
 400 74

cacttagcat ctctggggcc agtctgcaaa gcgagggggc agccttaatg tgccctccagc 60 50

ctgaagtcct agaatgagcg cccggtgtcc caagctgggg cgcgcacccc agatcggagg 120
gcccgatgt acagacagca aactcaccca gtctagtca tgccttcta aacatcacga 180
gactctaaga aaaggaaact gaaaacggga aagtcctct ctctaacctg gactgcgtc 240
gctggcttgg agacaggga cggtcctgc gggccttgc ctgattggct gggcacgct 300
ttaatataag tggaggcgtc gcgctggcg gcatcctga agctgacagc attcgggccg 360
agatgtctcg ctccgtggcc ttagctgtgc tcgctact ctctcttagc ggcctcgaag 420
ctgttatggc tccgcgact ttaattttag gtggtggcg atccggtggg ggcggttctg 480
gtggtggcg ctccatccag cgtacgcca aaattcaagt ctacagccga catcctgcag 540
agaacggcaa atctaatttc ctgaactgct atgtatcagg ctttcaccct agcgatatag 600
aagtggacct gctgaaaaac ggagagagga tagaaaagg cgaacacagc gacctctct 660 10
ttccaagga ctggagcttt tatcttctgt attatactga atttacacc acggaaaaag 720
atgagtatgc gtgccgagta aaccacgtca cgctgtcaca gcccataata gtaaatggg 780
atcgcgacat ggggtgggtg ggttctgggt gtggcggtag tggcggcgga ggaagcgggtg 840
gtggcgggtc cggatctatg cacgtgtga gatacggata taccggcatc ttcgacgata 900
catcccatat gactctgacc gtggctggga ttttgacgg acagcacttc ttacatacc 960
atgtgaacag ctccgataag gcttctagtc gagcaaatgg caccatctca tggatggcca 1020
acgtgagcgc agcctacccc acatatctgg acggagaacg cgctaaaggc gatctgatct 1080
tcaatcagac cgagcagaac ctgctggagc tggaaattgc tctggggtag aggtctcaga 1140
gtgtcctgac atggactcac gaatgtaata ccacagagaa cgggagcttc gtggcaggat 1200
atgagggctt tgggtgggac ggagaaacac tgatggagct gaaggataat ctgactctgt 1260 20
ggaccggccc taactacgaa atcagctggc tgaagcagaa caagacttac atcgacggaa 1320
agatcaaaaa catcagcgag ggcgatacta ccatccagcg caattacctg aagggaact 1380
gcaccagtg gagcgtgatc tactctgggt tccagacacc tgcactcac ccagtggta 1440
aagggggagt gcgaaaccag aatgacaacc gggccgaggc cttctgtaca tcctacggct 1500
tctttcccgg ggagatcaat attacttta tccattacgg caacaaggcc cccgacgatt 1560
ctgagcctca gtgcaatccc ctgctgccta cttcgatgg cacattcac caggggtgct 1620
acgtcgtat cttctgcaat cagaactata cttgccgggt gacctggg aactggactg 1680
tggaaatccc aatttcagtc accagccccg acgattcaag ctccggagag gtgccagatc 1740
acccaccgc aaataagaga tacaacacca tgacaatctc tagtgtgtct ctggccctgc 1800
tgctgtgccc actgctgttc gctttctgc attacttcac aactctgaag cagtatctgc 1860 30
ggaacctggc atttgcctgg cggtagagaa aagtgagatc aagctgactg tgccttctag 1920
ttgccagcca tctgttgtt gccctcccc cgtgccttc ttgacctgg aaggtgccac 1980
tcccactgtc cttcctaata aaaatgagga aattgcatcg cattgtctga gtaggtgtca 2040
ttctattctg gggggtgggg tggggcagga cagcaagggg gaggattggg aagacaatag 2100
caggcatgct ggggatgccc tgggctctat gtctcttct ggccctggagg ctatccagcg 2160
tgagtctctc ctaccctccc gctctggctc ttctctccc gctctgcacc ctctgtggcc 2220
ctcgtgtgc tctctcgtc cgtgacttc cttctccaag ttctccttgg tggcccggcc 2280
tggggctagt ccagggctgg atctcgggga agcggcgggg tggcctggga gtggggaagg
2340
gggtgcccac ccgggacgcg cgctacttgc ccctttcggc ggggagcagg ggagaccttt 2400 40
ggcctacggc gacgggaggg tcgggacaaa gtttagggcg tcgataagcg tcagagcgcc
2460
gaggttgggg gagggtttct cttccgctct ttcgcggggc ctctggctcc cccagcgcag 2520
ctggagtggg g 2531
210 75
211 2331
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 UL18Trimer matrix _HLACw peptide 50

400 75

cgcgaccccc agatcggagg gcgccgatgt acagacagca aactcaccca gtctagtgca 60
 tgccttctta aacatcacga gactctaaga aaaggaaact gaaaacggga aagtccctct 120
 ctctaacctg gcaactgcgtc gctggcttgg agacagggtga cggtcctctgc gggccttctc 180
 ctgattggct gggcacgcgt ttaatataag tggaggcgtc gcgctggcgg gcattcctga 240
 agctgacagc attcggggccg agatgtctcg ctccgtggcc ttagctgtgc tcgcgctact 300
 ctctcttagc ggcctcgaag ctggtatggc tccgcggact ttaattttag gtggtggcgg 360
 atccgggtgtt ggcggttctg gtggtggcgg ctccatccag cgtacgcca aaattcaagt 420
 ctacagccga catcctgcag agaacggcaa atctaattt ctgaactgct atgtatcagg 480
 ctttcaccct agcgatatag aagtggacct gctgaaaaac ggagagagga tagaaaaggt 540 10
 cgaacacagc gacctctct tttccaagga ctggagcttt tatcttctgt attatactga 600
 atttacacc acggaaaaag atgagtatgc gtgccgagta aaccacgtca cgctgtcaca 660
 gccccaaaata gtaaaatggg atcgcgacat ggggtgggtg ggttctgggt gtggcggtag 720
 tggcggcggga ggaagcgggt gtggcgggtc cggatctatg cacgtgctga gatacggata 780
 taccggcatc ttcgacgata catccatat gactctgacc gtggtcggga tttttgacgg 840
 acagcacttc ttacatacc atgtgaacag ctccgataag gcttctagtc gagcaaattg 900
 caccatctca tggatggcca acgtgagcgc agcctacccc acatatctgg acggagaacg 960
 cgctaaaggc gatctgatct tcaatcagac cgagcagaac ctgctggagc tggaaattgc 1020
 tctggggtac aggtctcaga gtgtcctgac atggactcac gaatgtaata ccacagagaa 1080
 cgggagcttc gtggcaggat atgagggctt tgggtgggac ggagaaacac tgatggagct 1140 20
 gaaggataat ctgactctgt ggaccggccc taactacgaa atcagctggc tgaagcagaa 1200
 caagacttac atcgacggaa agatcaaaaa catcagcagag ggcgatacta ccatccagcg 1260
 caattacctg aagggcaact gcacccagtg gagcgtgatc tactctgggt tccagacacc 1320
 tgtcactcac ccagtgggtca aagggggagt gcgaaaccag aatgacaacc gggccgaggc 1380

cttctgtaca tcctacggct tctttcccgg ggagatcaat attactttta tccattacgg 1440
 caacaaggcc cccgacgatt ctgagcctca gtgcaatccc ctgctgccta ctttcgatgg 1500
 cacatttcac caggggtgct acgtcgtat cttctgcaat cagaactata cttgccgggt 1560
 gacccatggg aactggactg tggaaatccc aatttcagtc accagccccg acgattcaag 1620
 ctccggagag gtgccagatc accccaccgc aaataagaga tacaacacca tgacaatctc 1680 30
 tagtgtgctg ctggccctgc tgctgtgccc actgctgttc gcttttctgc attacttcac 1740
 aactctgaag cagtatctgc ggaacctggc atttgcctgg cggtacagaa aagtgagatc 1800
 aagctgactg tgccttctag ttgccagcca tctgtttgtt gccctcccc cgtgccttcc 1860
 ttgaccctgg aaggtgccac tcccactgtc ctttctaat aaaatgagga aattgcatcg 1920
 cattgtctga gtaggtgtca ttctattctg ggggggtgggg tggggcagga cagcaagggg 1980
 gaggattggg aagacaatag caggcatgct ggggatgcgg tgggctctat gtctctttct 2040
 ggcttgagg ctatccagcg tgagtctctc ctaccctccc gctctgggtc ttctctccc 2100
 gctctgcacc ctctgtggcc ctcgctgtgc tctctcgtc cgtgacttcc cttctccaag 2160
 ttctccttgg tggcccgcgg tggggctagt ccagggctgg atctcgggga agcggcgggg 2220
 tggcctggga gtggggaagg ggggtgcgac ccgggacgcg cgctacttgc ccctttcggc 2280 40
 ggggagcagg ggagacctt ggccctacggc gacgggaggg tcgggacaaa g 2331

210 76

211 2531

212 DNA

213 artificial sequence

220

223 UL18Trimer matrix _HLAG peptide inserted at the B2m locus

400 76

cacttagcat ctctggggcc agtctgcaaa gcgagggggc agccttaatg tgctccagc 60
 ctgaagtcct agaatgagcg cccgggtgtcc caagctgggg cgcgaccccc agatcggagg 120 50

gcgccgatgt acagacagca aactcaccga gtctagtgc tgccttctta aacatcacga 180
gactctaaga aaaggaaact gaaaacggga aagtcctct ctctaacctg gcactgcgtc 240
gctggcttgg agacagggtga cggtccttgc gggccttgtc ctgattggct gggcacgcgt 300
ttaatataag tggaggcgct gcgctggcgg gcattcctga agctgacagc attcggggccg 360
agatgtctcg ctccgtggcc ttagctgtgc tcgcgctact ctctcttagc ggcctcgaag 420
ctgttatggc tccgcggaact ttattcttag gtgggtggcg atccgggtgg ggcggttctg 480
gtgggtggcg ctccatccag cgtacgccc aaattcaagt ctacagccga catcctgcag 540
agaacggcaa atctaatttc ctgaactgct atgtatcagg ctttcaccct agcgatatag 600
aagtggacct gctgaaaaac ggagagagga tagaaaagg cgaacacagc gacctctcct 660
tttccaagga ctggagcttt tatcttctgt attatactga atttacacc acggaaaaag 720 10
atgagtatgc gtgccgagta aaccacgtca cgctgtcaca gcccaaaata gtaaaatggg 780
atcgcgacat ggggtgggtgc ggttctgggt gtggcggtag tggcggcgga ggaagcgggtg 840
gtggcgggtc cggatctatg cacgtgctga gatacggata taccggcctc ttcgacgata 900
catcccatat gactctgacc gtggctcggga ttttgacgg acagcacttc ttacataacc 960
atgtgaacag ctccgataag gcttctagtc gagcaaatgg caccatctca tggatggcca 1020
acgtgagcgc agcctacccc acatatctgg acggagaacg cgctaaaggc gatctgatct 1080
tcaatcagac cgagcagaac ctgctggagc tggaaattgc tctggggtag aggtctcaga 1140
gtgtcctgac atggactcac gaatgtaata ccacagagaa cgggagcttc gtggcaggat 1200
atgagggctt tgggtgggac ggagaaacac tgatggagct gaaggataat ctgactctgt 1260
ggaccggccc taactacgaa atcagctggc tgaagcagaa caagacttac atcgacggaa 1320 20
agatcaaaaa catcagcgag ggcgatacta ccatccagcg caattacctg aagggaact 1380
gcaccagtg gagcgtgatc tactctgggt tccagacacc tgcactcac ccagtggta 1440
aagggggagt gcgaaaccag aatgacaacc gggccgaggc cttctgtaca tcctacggct 1500
tctttcccgg ggagatcaat attactttta tccattacgg caacaaggcc cccgacgatt 1560
ctgagcctca gtgcaatccc ctgctgccta cttcgatgg cacatttcac caggggtgct 1620
acgtcgctat cttctgcaat cagaactata cttgccgggt gacccatggg aactggactg 1680
tggaaatccc aatttcagtc accagccccg acgattcaag ctccggagag gtgccagatc 1740
accccaccgc aaataagaga tacaacacca tgacaatctc tagtgtgctg ctggccctgc 1800
tgctgtgccc actgctgttc gcttttctgc attacttcac aactctgaag cagtatctgc 1860
ggaacctggc atttgcttgg cggtagagaa aagtgagatc aagctgactg tgccttctag 1920 30
ttgccagcca tctgttgttt gcccctcccc cgtgccttcc ttgacctgg aagggtccac 1980
tcccactgtc ctttctaata aaaatgagga aattgcatcg cattgtctga gtaggtgtca 2040
ttctattctg gggggtgggg tggggcagga cagcaagggg gaggattggg aagacaatag 2100
caggcatgct ggggatgccc tgggctctat gtctcttctt ggccctggagg ctatccagcg 2160
tgagtctctc ctaccctccc gctctgttcc ttcctctccc gctctgcacc ctctgtggcc 2220
ctcgtgtgct tctctcgtc cgtgacttcc cttctccaag ttctccttgg tggcccggcg 2280
tggggctagt ccagggctgg atctcgggga agcggcgggg tggcctggga gtggggaagg
2340
gggtgcgcac ccgggacgcg cgctacttgc ccctttcggc ggggagcagg ggagaccttt 2400
ggcctacggc gacgggaggg tcgggacaaa gtttagggcg tcgataagcg tcagagcgcc 40
2460
gagggtgggg gagggtttct cttccgctct ttcgcggggc ctctggctcc cccagcgcag 2520
ctggagtggg g 2531
210 77
211 2331
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 UL18Trimer matrix_HLAG peptide
400 77 50

```

cgcgaccccc agatcggagg gcgccgatgt acagacagca aactcaccca gtctagtgca 60
tgccttctta aacatcacga gactctaaga aaaggaaact gaaaacggga aagtccctct 120
ctctaacctg gcactgcgtc gctggcttgg agacagggtga cggtcacctgc gggccttgtc 180
ctgattggct gggcacgcgt ttaatataag tggaggcgtc gcgctggcgg gcattcctga 240
agctgacagc attcgggccg agatgtctcg ctccgtggcc ttagctgtgc tcgcgctact 300
ctctcttagc ggcctcgaag ctgttatggc tccgcggact ttattcttag gtgggtggcgg 360
atccggtggt ggcggttctg gtgggtggcgg ctccatccag cgtacgcca aaattcaagt 420
ctacagccga catcctgcag agaacggcaa atctaattc ctgaactgct atgtatcagg 480
ctttcacct agcgatatag aagtggacct gctgaaaaac ggagagagga tagaaaaggt 540
cgaacacagc gacctctcct tttccaagga ctggagcttt tatcttctgt attatactga 600 10
atttacacc acggaaaaag atgagtatgc gtgccgagta aaccacgtca cgctgtcaca 660
gccccaaata gtaaaatggg atcgcgacat ggggtggggc ggttctgggt gtggcggtag 720
tggcggcgga ggaagcgggt gtggcgggtc cggatctatg cacgtgctga gatacggata 780
taccggcatc ttcgacgata catccatat gactctgacc gtggtcggga tttttgacgg 840
acagcacttc tttacatacc atgtgaacag ctccgataag gcttctagtc gagcaaattg 900
caccatctca tggatggcca acgtgagcgc agcctacccc acatatctgg acggagaacg 960
cgctaaaggc gatctgatct tcaatcagac cgagcagaac ctgctggagc tggaaattgc 1020
tctggggtag aggtctcaga gtgtcctgac atggactcac gaatgtaata ccacagagaa 1080
cgggagcttc gtggcaggat atgagggctt tgggtggggc ggagaaacac tgatggagct 1140
gaaggataat ctgactctgt ggaccggccc taactacgaa atcagctggc tgaagcagaa 1200 20
caagacttac atcgacggaa agatcaaaaa catcagcgag ggcgatacta ccatccagcg 1260
caattacctg aagggcaact gcacccagtg gagcgtgatc tactctgggt tccagacacc 1320
tgtcactcac ccagtggtca aagggggagt gcgaaaccag aatgacaacc gggccgaggg
1380
cttctgtaca tcctacggct tctttcccgg ggagatcaat attactttta tccattacgg 1440
caacaaggcc cccgacgatt ctgagcctca gtgcaatccc ctgctgccta ccttcgatgg 1500
cacatttcac caggggtgct acgtcgctat cttctgcaat cagaactata cttgccgggt 1560
gacccatggg aactggactg tggaaatccc aatttcagtc accagccccg acgattcaag 1620
ctccggagag gtgccagatc accccaccgc aaataagaga tacaacacca tgacaatctc 1680
tagtgtgctg ctggccctgc tgctgtgccc actgctgttc gcttttctgc attacttcac 1740 30
aactctgaag cagtatctgc ggaacctggc atttgcctgg cggtacagaa aagtgagatc 1800
aagctgactg tgccttctag ttgccagcca tctgttgttt gccctcccc cgtgccttc 1860
ttgaccctgg aagtgccac tcccactgtc ctttctaata aaaatgagga aattgcatcg 1920
cattgtctga gtaggtgtca ttctattctg ggggggtgggg tggggcagga cagcaagggg 1980
gaggattggg aagacaatag caggcatgct ggggatgccc tgggctctat gtctctttct 2040
ggcctggagg ctatccagcg tgagtctctc ctaccctccc gctctgggcc ttcctctccc 2100
gctctgcacc ctctgtggcc ctgctgtgc tctctcgctc cgtgacttcc cttctccaag 2160
ttctccttgg tggcccgcg tggggctagt ccagggctgg atctcgggga agcggcgggg 2220
tggcctggga gtggggaagg ggggtgcgac ccgggacgcg cgctacttgc cctttcggc 2280
ggggagcagg ggagacctt ggccctacggc gacgggaggg tcgggacaaa g 2331 40
210 78
211 47
212 DNA
213 artificial sequence
220
223 TALEN target B2m1
400 78
tccgtggcct tagctgtgct cgcgctactc tctctttctg gcctgga 47
210 79
211 47

```

212 DNA
213 artificial sequence
220
223 TALEN target B2m2
400 79

ttagctgtgc tcgcgctact ctctctttct ggccctggagg ctatcca 47
210 80
211 936
212 PRT
213 artificial sequence 10
220
223 pCLS31134 right TALEN B2m1
400 80

Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Tyr Pro Tyr Asp
1 5 10 15
Val Pro Asp Tyr Ala Ile Asp Ile Ala Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr
20 25 30
Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val
35 40 45
Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr His Ala His 20
50 55 60
Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val
65 70 75 80
Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Ala
85 90 95
Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala
100 105 110
Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp
115 120 125
Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Val 30
130 135 140
Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn
145 150 155 160
Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys
165 170 175
Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
180 185 190
His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
195 200 205
Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys 40
210 215 220
Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
225 230 235 240
Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
245 250 255
Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala
260 265 270
Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
275 280 285
Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala 50

290 295 300
 Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 305 310 315 320
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
 325 330 335
 Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 340 345 350
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
 355 360 365
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu 10
 370 375 380
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 385 390 395 400
 Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala
 405 410 415
 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 420 425 430
 Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
 435 440 445
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala 20
 450 455 460
 His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly
 465 470 475 480
 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 485 490 495
 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 500 505 510
 Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val
 515 520 525
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala 30
 530 535 540
 Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 545 550 555 560
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
 565 570 575
 Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 580 585 590
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
 595 600 605
 Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val 40
 610 615 620
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln
 625 630 635 640
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 645 650 655
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 660 665 670
 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala
 675 680 685
 Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala 50

690 695 700
 Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg
 705 710 715 720
 Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Gly Asp Pro Ile Ser Arg
 725 730 735
 Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg
 740 745 750
 His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile
 755 760 765
 Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu 10
 770 775 780
 Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser
 785 790 795 800
 Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr
 805 810 815
 Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro
 820 825 830
 Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr
 835 840 845
 Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser 20
 850 855 860
 Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly
 865 870 875 880
 Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn
 885 890 895
 Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile
 900 905 910
 Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn
 915 920 925
 Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp 30
 930 935
 210 81
 211 936
 212 PRT
 213 artificial sequence
 220
 223 pCLS31135 left TALEN B2m1
 400 81
 Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Tyr Pro Tyr Asp 40
 1 5 10 15
 Val Pro Asp Tyr Ala Ile Asp Ile Ala Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr
 20 25 30
 Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val
 35 40 45
 Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr His Ala His
 50 55 60
 Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val
 65 70 75 80
 Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Ala
 85 90 95 50

Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala
 100 105 110
 Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp
 115 120 125
 Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Val
 130 135 140
 Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn
 145 150 155 160
 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys
 165 170 175 10
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 180 185 190
 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly
 195 200 205
 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 210 215 220
 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 225 230 235 240
 Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val
 245 250 255 20
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala
 260 265 270
 Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 275 280 285
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala
 290 295 300
 Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 305 310 315 320
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
 325 330 335 30
 Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 340 345 350
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
 355 360 365
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 370 375 380
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 385 390 395 400
 Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala
 405 410 415 40
 Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 420 425 430
 Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
 435 440 445
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 450 455 460
 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly
 465 470 475 480
 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys
 485 490 495 50

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 500 505 510
 Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val
 515 520 525
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
 530 535 540
 Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu
 545 550 555 560
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala
 565 570 575
 Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 580 585 590
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val
 595 600 605
 Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 610 615 620
 Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln
 625 630 635 640
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 645 650 655
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 660 665 670
 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala
 675 680 685
 Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala
 690 695 700
 Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg
 705 710 715 720
 Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Gly Asp Pro Ile Ser Arg
 725 730 735
 Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg
 740 745 750
 His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile
 755 760 765
 Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu
 770 775 780
 Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser
 785 790 795 800
 Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr
 805 810 815
 Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro
 820 825 830
 Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr
 835 840 845
 Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser
 850 855 860
 Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly
 865 870 875 880
 Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn
 885 890 895

10

20

30

40

50

Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile
 900 905 910
 Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn
 915 920 925
 Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp
 930 935
 210 82
 211 936
 212 PRT
 213 artificial sequence 10
 220
 223 pCLS31136 right TALEN B2m2
 400 82
 Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Tyr Pro Tyr Asp
 1 5 10 15
 Val Pro Asp Tyr Ala Ile Asp Ile Ala Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr
 20 25 30
 Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val
 35 40 45
 Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr His Ala His 20
 50 55 60
 Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val
 65 70 75 80
 Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Ala
 85 90 95
 Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala
 100 105 110
 Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp
 115 120 125
 Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Val 30
 130 135 140
 Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn
 145 150 155 160
 Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
 165 170 175
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
 180 185 190
 His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Ile Gly
 195 200 205
 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val Leu Cys 40
 210 215 220
 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
 225 230 235 240
 Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 245 250 255
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
 260 265 270
 Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 275 280 285
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala 50

290 295 300
 Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 305 310 315 320
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
 325 330 335
 Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 340 345 350
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln
 355 360 365
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu 10
 370 375 380
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 385 390 395 400
 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala
 405 410 415
 Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly
 420 425 430
 Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys
 435 440 445
 Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala 20
 450 455 460
 His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly
 465 470 475 480
 Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
 485 490 495
 Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
 500 505 510
 Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 515 520 525
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala 30
 530 535 540
 Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
 545 550 555 560
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
 565 570 575
 Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 580 585 590
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
 595 600 605
 Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val 40
 610 615 620
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
 625 630 635 640
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 645 650 655
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 660 665 670
 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala
 675 680 685
 Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala 50

690 695 700
 Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg
 705 710 715 720
 Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Gly Asp Pro Ile Ser Arg
 725 730 735
 Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg
 740 745 750
 His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile
 755 760 765
 Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu 10
 770 775 780
 Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser
 785 790 795 800
 Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr
 805 810 815
 Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro
 820 825 830
 Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr
 835 840 845
 Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser 20
 850 855 860
 Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly
 865 870 875 880
 Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn
 885 890 895
 Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile
 900 905 910
 Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn
 915 920 925
 Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp 30
 930 935
 210 83
 211 936
 212 PRT
 213 artificial sequence
 220
 223 pCLS31137 left TALEN B2m2
 400 83
 Met Gly Asp Pro Lys Lys Lys Arg Lys Val Ile Asp Tyr Pro Tyr Asp 40
 1 5 10 15
 Val Pro Asp Tyr Ala Ile Asp Ile Ala Asp Leu Arg Thr Leu Gly Tyr
 20 25 30
 Ser Gln Gln Gln Gln Glu Lys Ile Lys Pro Lys Val Arg Ser Thr Val
 35 40 45
 Ala Gln His His Glu Ala Leu Val Gly His Gly Phe Thr His Ala His
 50 55 60
 Ile Val Ala Leu Ser Gln His Pro Ala Ala Leu Gly Thr Val Ala Val
 65 70 75 80
 Lys Tyr Gln Asp Met Ile Ala Ala Leu Pro Glu Ala Thr His Glu Ala
 85 90 95 50

Ile Val Gly Val Gly Lys Gln Trp Ser Gly Ala Arg Ala Leu Glu Ala
100 105 110

Leu Leu Thr Val Ala Gly Glu Leu Arg Gly Pro Pro Leu Gln Leu Asp
115 120 125

Thr Gly Gln Leu Leu Lys Ile Ala Lys Arg Gly Gly Val Thr Ala Val
130 135 140

Glu Ala Val His Ala Trp Arg Asn Ala Leu Thr Gly Ala Pro Leu Asn
145 150 155 160

Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys
165 170 175 10

Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala
180 185 190

His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly
195 200 205

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
210 215 220

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn
225 230 235 240

Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu Pro Val
245 250 255 20

Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala
260 265 270

Ser Asn Gly Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu
275 280 285

Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala
290 295 300

Ile Ala Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala
305 310 315 320

Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
325 330 335 30

Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
340 345 350

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

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

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

Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala
405 410 415 40

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

Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Lys
435 440 445

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

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

Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys
485 490 495 50

Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His
 500 505 510
 Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val
 515 520 525
 Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu Gln Val Val Ala Ile Ala
 530 535 540
 Ser Asn Ile Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Ala Leu Leu
 545 550 555 560
 Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val Val Ala
 565 570 575 10
 Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val Gln Arg
 580 585 590
 Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Gln Gln Val
 595 600 605
 Val Ala Ile Ala Ser Asn Asn Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu Thr Val
 610 615 620
 Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr Pro Glu
 625 630 635 640
 Gln Val Val Ala Ile Ala Ser His Asp Gly Gly Lys Gln Ala Leu Glu
 645 650 655 20
 Thr Val Gln Arg Leu Leu Pro Val Leu Cys Gln Ala His Gly Leu Thr
 660 665 670
 Pro Gln Gln Val Val Ala Ile Ala Ser Asn Gly Gly Gly Arg Pro Ala
 675 680 685
 Leu Glu Ser Ile Val Ala Gln Leu Ser Arg Pro Asp Pro Ala Leu Ala
 690 695 700
 Ala Leu Thr Asn Asp His Leu Val Ala Leu Ala Cys Leu Gly Gly Arg
 705 710 715 720
 Pro Ala Leu Asp Ala Val Lys Lys Gly Leu Gly Asp Pro Ile Ser Arg
 725 730 735 30
 Ser Gln Leu Val Lys Ser Glu Leu Glu Glu Lys Lys Ser Glu Leu Arg
 740 745 750
 His Lys Leu Lys Tyr Val Pro His Glu Tyr Ile Glu Leu Ile Glu Ile
 755 760 765
 Ala Arg Asn Ser Thr Gln Asp Arg Ile Leu Glu Met Lys Val Met Glu
 770 775 780
 Phe Phe Met Lys Val Tyr Gly Tyr Arg Gly Lys His Leu Gly Gly Ser
 785 790 795 800
 Arg Lys Pro Asp Gly Ala Ile Tyr Thr Val Gly Ser Pro Ile Asp Tyr
 805 810 815 40
 Gly Val Ile Val Asp Thr Lys Ala Tyr Ser Gly Gly Tyr Asn Leu Pro
 820 825 830
 Ile Gly Gln Ala Asp Glu Met Gln Arg Tyr Val Glu Glu Asn Gln Thr
 835 840 845
 Arg Asn Lys His Ile Asn Pro Asn Glu Trp Trp Lys Val Tyr Pro Ser
 850 855 860
 Ser Val Thr Glu Phe Lys Phe Leu Phe Val Ser Gly His Phe Lys Gly
 865 870 875 880
 Asn Tyr Lys Ala Gln Leu Thr Arg Leu Asn His Ile Thr Asn Cys Asn
 885 890 895 50

Gly Ala Val Leu Ser Val Glu Glu Leu Leu Ile Gly Gly Glu Met Ile
 900 905 910
 Lys Ala Gly Thr Leu Thr Leu Glu Glu Val Arg Arg Lys Phe Asn Asn
 915 920 925
 Gly Glu Ile Asn Phe Ala Ala Asp
 930 935
 210 84
 211 338
 212 PRT
 213 artificial sequence 10
 220
 223 HLAG1
 400 84
 Met Val Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Phe Leu Leu Leu Ser Gly Ala
 1 5 10 15
 Leu Thr Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
 20 25 30
 Ser Ala Ala Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala
 35 40 45
 Met Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ser 20
 50 55 60
 Ala Cys Pro Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Val Glu Gln Glu Gly
 65 70 75 80
 Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Glu Thr Arg Asn Thr Lys Ala His Ala Gln
 85 90 95
 Thr Asp Arg Met Asn Leu Gln Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
 100 105 110
 Glu Ala Ser Ser His Thr Leu Gln Trp Met Ile Gly Cys Asp Leu Gly
 115 120 125
 Ser Asp Gly Arg Leu Leu Arg Gly Tyr Glu Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly 30
 130 135 140
 Lys Asp Tyr Leu Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala
 145 150 155 160
 Asp Thr Ala Ala Gln Ile Ser Lys Arg Lys Cys Glu Ala Ala Asn Val
 165 170 175
 Ala Glu Gln Arg Arg Ala Tyr Leu Glu Gly Thr Cys Val Glu Trp Leu
 180 185 190
 His Arg Tyr Leu Glu Asn Gly Lys Glu Met Leu Gln Arg Ala Asp Pro
 195 200 205
 Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro Val Phe Asp Tyr Glu Ala Thr 40
 210 215 220
 Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu Ile Ile Leu Thr
 225 230 235 240
 Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Val Glu Leu Val Glu
 245 250 255
 Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val
 260 265 270
 Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu
 275 280 285
 Gly Leu Pro Glu Pro Leu Met Leu Arg Trp Lys Gln Ser Ser Leu Pro 50

223 HLAG3
 400 86
 Met Val Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Phe Leu Leu Leu Ser Gly Ala
 1 5 10 15
 Leu Thr Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
 20 25 30
 Ser Ala Ala Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala
 35 40 45
 Met Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ser
 50 55 60 10
 Ala Cys Pro Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Val Glu Gln Glu Gly
 65 70 75 80
 Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Glu Thr Arg Asn Thr Lys Ala His Ala Gln
 85 90 95
 Thr Asp Arg Met Asn Leu Gln Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
 100 105 110
 Glu Ala Lys Gln Ser Ser Leu Pro Thr Ile Pro Ile Met Gly Ile Val
 115 120 125
 Ala Gly Leu Val Val Leu Ala Ala Val Val Thr Gly Ala Ala Val Ala
 130 135 140 20
 Ala Val Leu Trp Arg Lys Lys Ser Ser Asp
 145 150
 210 87
 211 246
 212 PRT
 213 artificial sequence
 220
 223 HLAG4
 400 87
 Met Val Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Phe Leu Leu Leu Ser Gly Ala 30
 1 5 10 15
 Leu Thr Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
 20 25 30
 Ser Ala Ala Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala
 35 40 45
 Met Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ser
 50 55 60
 Ala Cys Pro Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Val Glu Gln Glu Gly
 65 70 75 80
 Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Glu Thr Arg Asn Thr Lys Ala His Ala Gln 40
 85 90 95
 Thr Asp Arg Met Asn Leu Gln Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
 100 105 110
 Glu Ala Ser Ser His Thr Leu Gln Trp Met Ile Gly Cys Asp Leu Gly
 115 120 125
 Ser Asp Gly Arg Leu Leu Arg Gly Tyr Glu Gln Tyr Ala Tyr Asp Gly
 130 135 140
 Lys Asp Tyr Leu Ala Leu Asn Glu Asp Leu Arg Ser Trp Thr Ala Ala
 145 150 155 160
 Asp Thr Ala Ala Gln Ile Ser Lys Arg Lys Cys Glu Ala Ala Asn Val 50

Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp Ala Ala Val Val
 260 265 270
 Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His Val Gln His Glu
 275 280 285
 Gly Leu Pro Glu Pro Leu Met Leu Arg Trp Ser Lys Glu Gly Asp Gly
 290 295 300
 Gly Ile Met Ser Val Arg Glu Ser Arg Ser Leu Ser Glu Asp Leu
 305 310 315
 210 89
 211 227 10
 212 PRT
 213 artificial sequence
 220
 223 HLAG6
 400 89
 Met Val Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Phe Leu Leu Leu Ser Gly Ala
 1 5 10 15
 Leu Thr Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
 20 25 30
 Ser Ala Ala Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala 20
 35 40 45
 Met Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ser
 50 55 60
 Ala Cys Pro Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Val Glu Gln Glu Gly
 65 70 75 80
 Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Glu Thr Arg Asn Thr Lys Ala His Ala Gln
 85 90 95
 Thr Asp Arg Met Asn Leu Gln Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
 100 105 110
 Glu Ala Lys Pro Pro Lys Thr His Val Thr His His Pro Val Phe Asp 30
 115 120 125
 Tyr Glu Ala Thr Leu Arg Cys Trp Ala Leu Gly Phe Tyr Pro Ala Glu
 130 135 140
 Ile Ile Leu Thr Trp Gln Arg Asp Gly Glu Asp Gln Thr Gln Asp Val
 145 150 155 160
 Glu Leu Val Glu Thr Arg Pro Ala Gly Asp Gly Thr Phe Gln Lys Trp
 165 170 175
 Ala Ala Val Val Val Pro Ser Gly Glu Glu Gln Arg Tyr Thr Cys His
 180 185 190
 Val Gln His Glu Gly Leu Pro Glu Pro Leu Met Leu Arg Trp Ser Lys 40
 195 200 205
 Glu Gly Asp Gly Gly Ile Met Ser Val Arg Glu Ser Arg Ser Leu Ser
 210 215 220
 Glu Asp Leu
 225
 210 90
 211 116
 212 PRT
 213 artificial sequence
 220 50

223 HLAG7
 400 90
 Met Val Val Met Ala Pro Arg Thr Leu Phe Leu Leu Leu Ser Gly Ala
 1 5 10 15
 Leu Thr Leu Thr Glu Thr Trp Ala Gly Ser His Ser Met Arg Tyr Phe
 20 25 30
 Ser Ala Ala Val Ser Arg Pro Gly Arg Gly Glu Pro Arg Phe Ile Ala
 35 40 45
 Met Gly Tyr Val Asp Asp Thr Gln Phe Val Arg Phe Asp Ser Asp Ser
 50 55 60
 Ala Cys Pro Arg Met Glu Pro Arg Ala Pro Trp Val Glu Gln Glu Gly
 65 70 75 80
 Pro Glu Tyr Trp Glu Glu Glu Thr Arg Asn Thr Lys Ala His Ala Gln
 85 90 95
 Thr Asp Arg Met Asn Leu Gln Thr Leu Arg Gly Tyr Tyr Asn Gln Ser
 100 105 110
 Glu Ala Ser Glu
 115

10

20

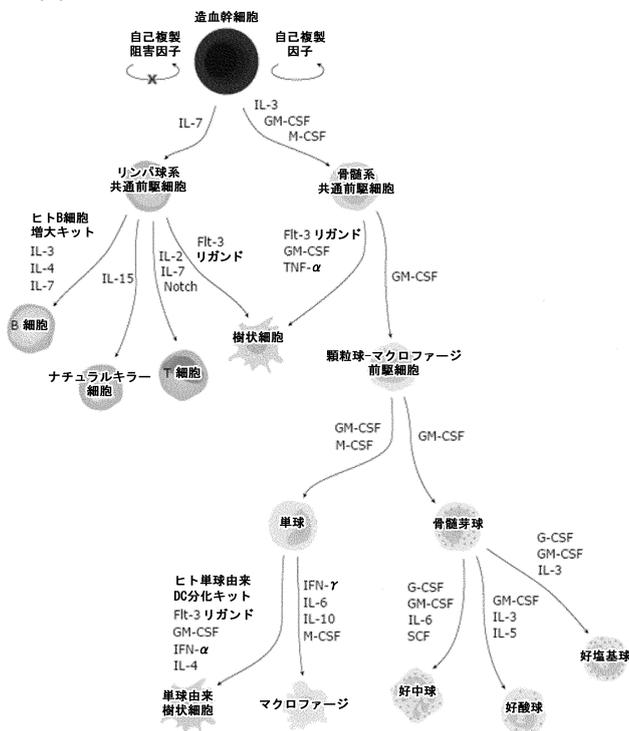
30

40

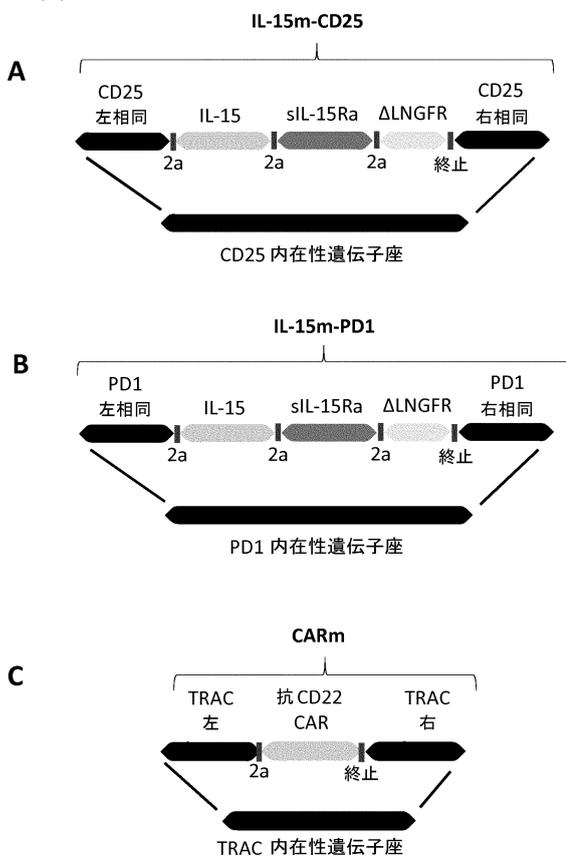
50

【 図 面 】

【 図 1 】



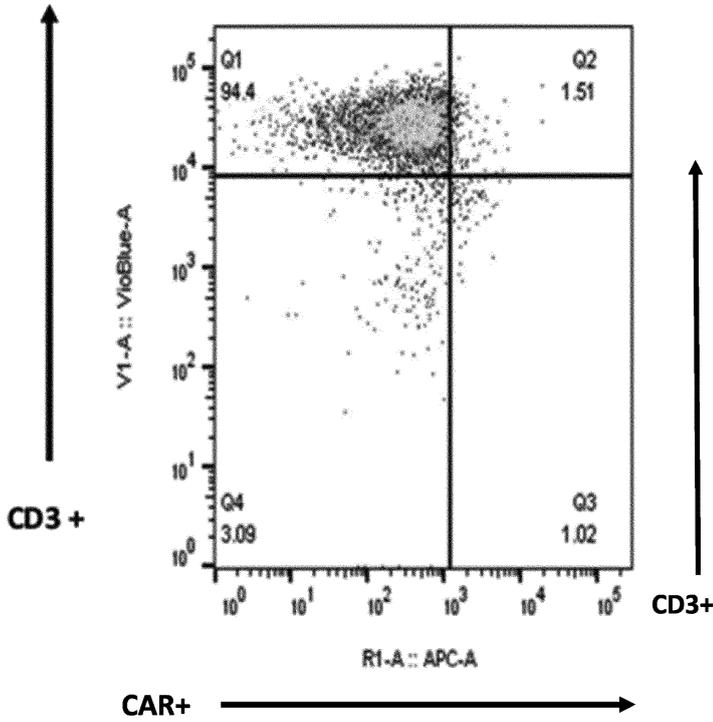
【 図 2 】



50

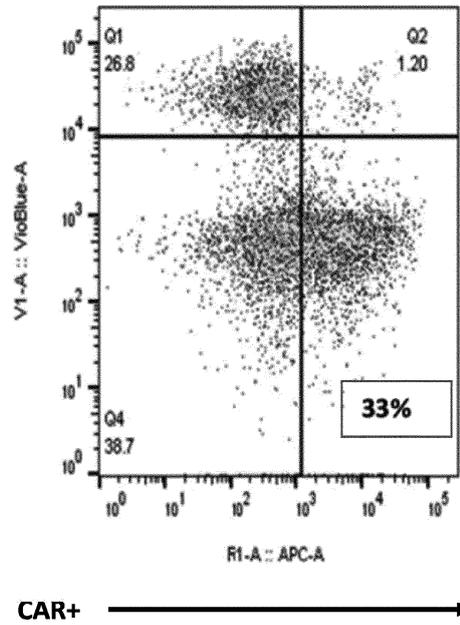
【 図 3 A 】

モックトランスフェクト



【 図 3 B 】

+ TALEN(登録商標)TRAC
 + TALEN(登録商標)PD1
 + CARm
 +IL15m-PD1

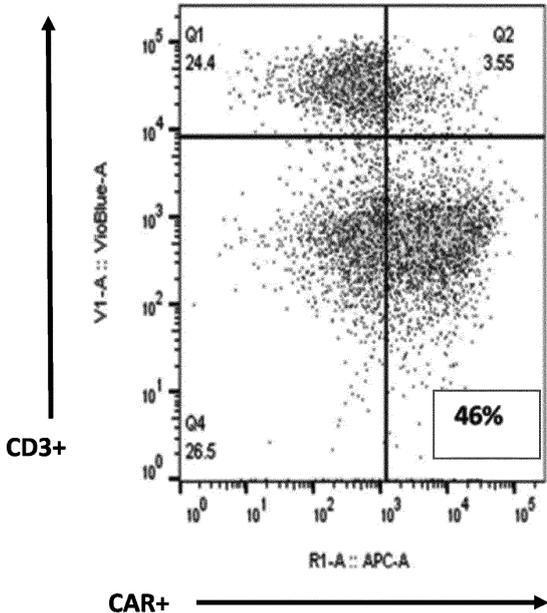


10

20

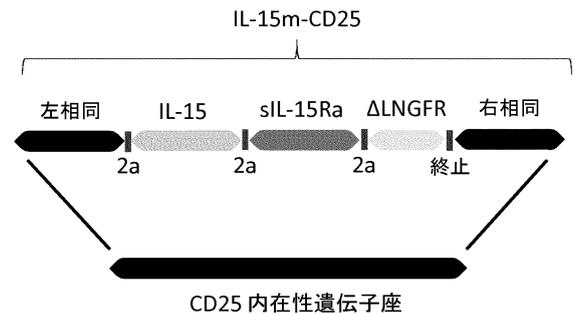
【 図 3 C 】

+ TALEN(登録商標)TRAC
 + TALEN(登録商標)CD25
 + CARm
 +IL15m-CD25



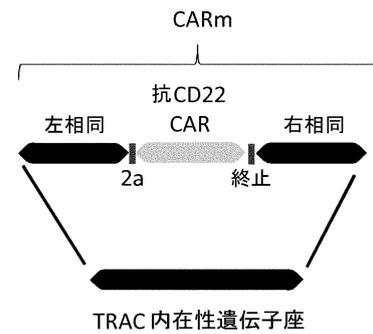
【 図 4 】

A



30

B

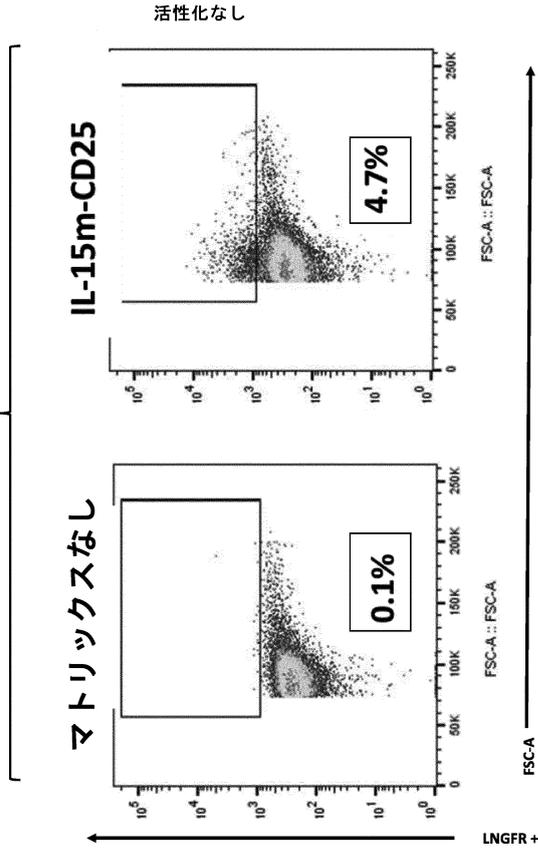


40

50

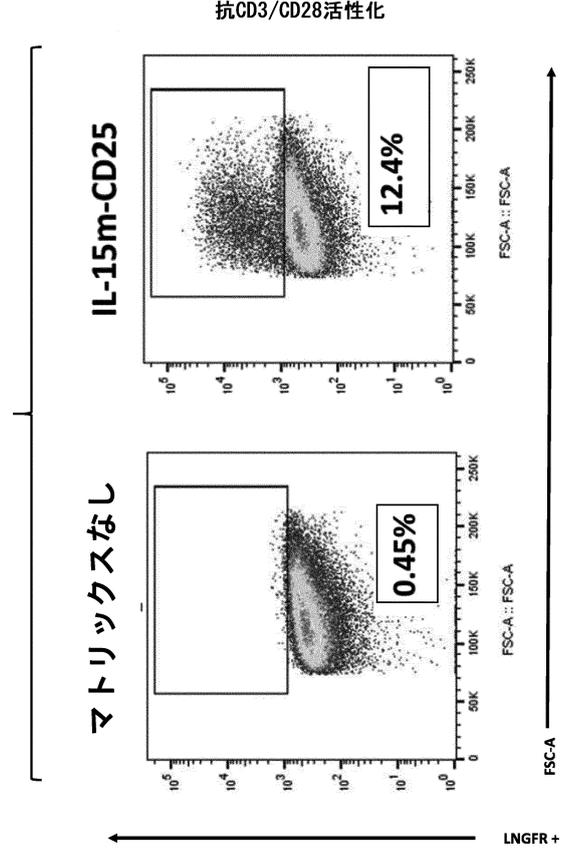
【 図 5 - 1 】

LNGFR 発現
+ TALEN(登録商標)TRACおよびTALEN(登録商標)CD25



【 図 5 - 2 】

LNGFR 発現
+ TALEN(登録商標)TRACおよびTALEN(登録商標)CD25

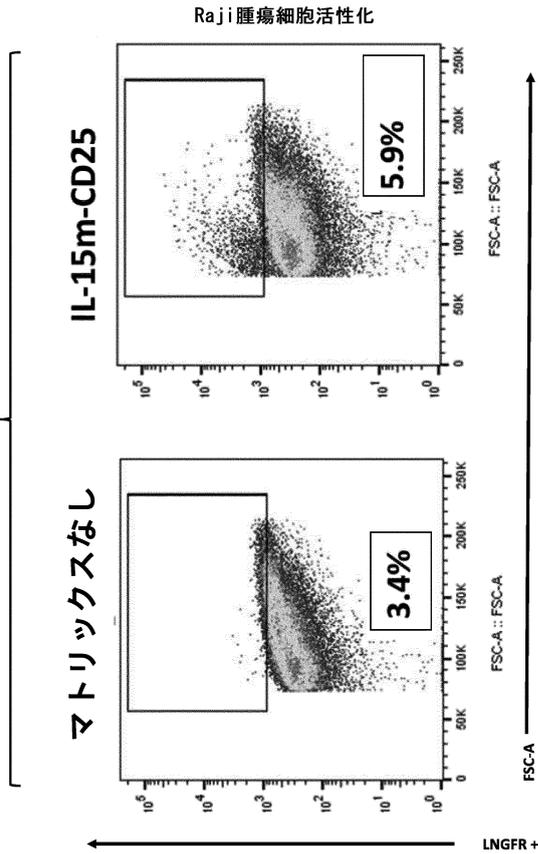


10

20

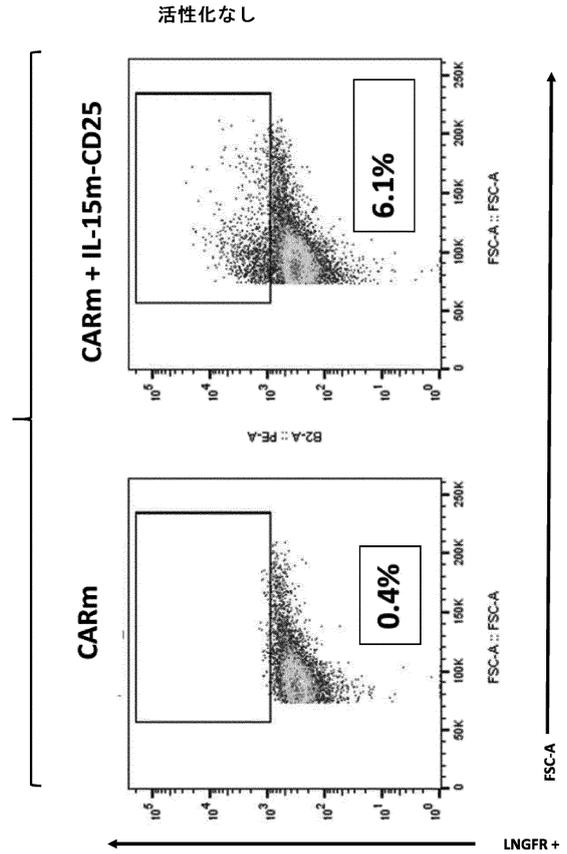
【 図 5 - 3 】

LNGFR 発現
+ TALEN(登録商標)TRACおよびTALEN(登録商標)CD25



【 図 6 - 1 】

LNGFR 発現
+ TALEN(登録商標)TRACおよびTALEN(登録商標)CD25

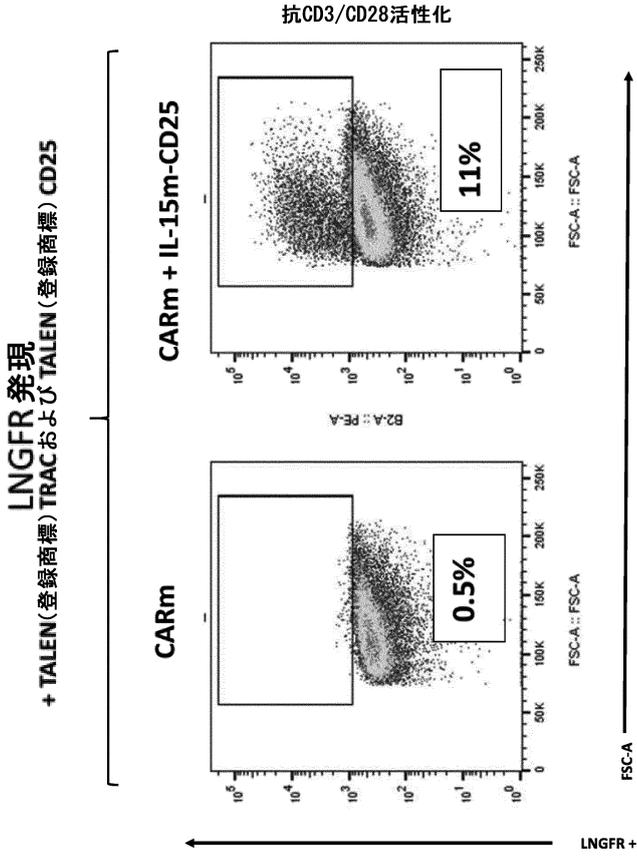


30

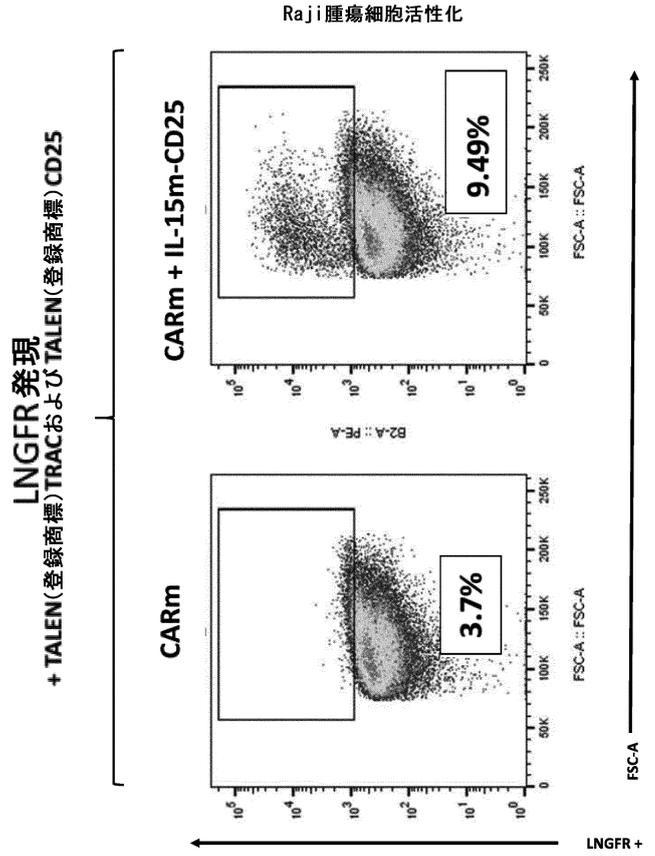
40

50

【 図 6 - 2 】



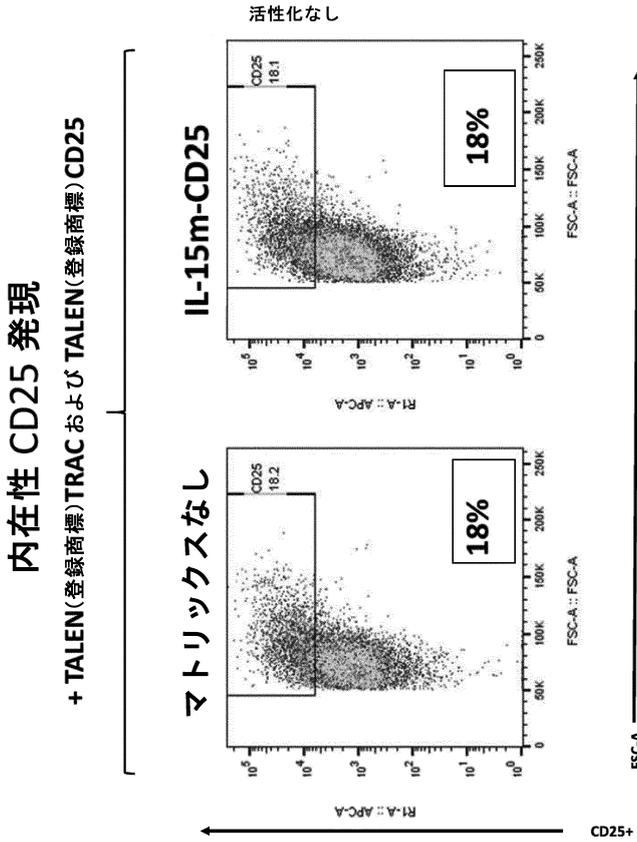
【 図 6 - 3 】



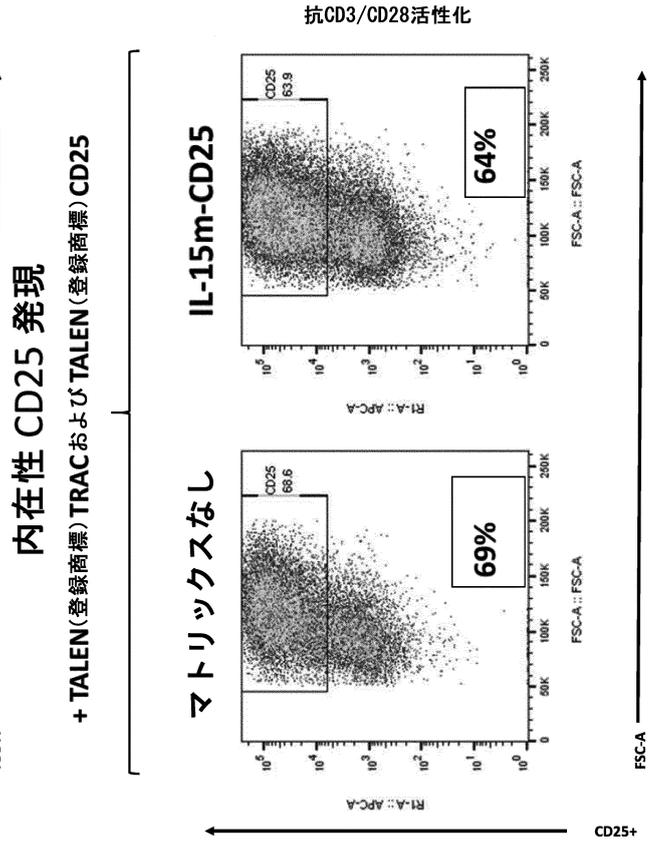
10

20

【 図 7 - 1 】



【 図 7 - 2 】



30

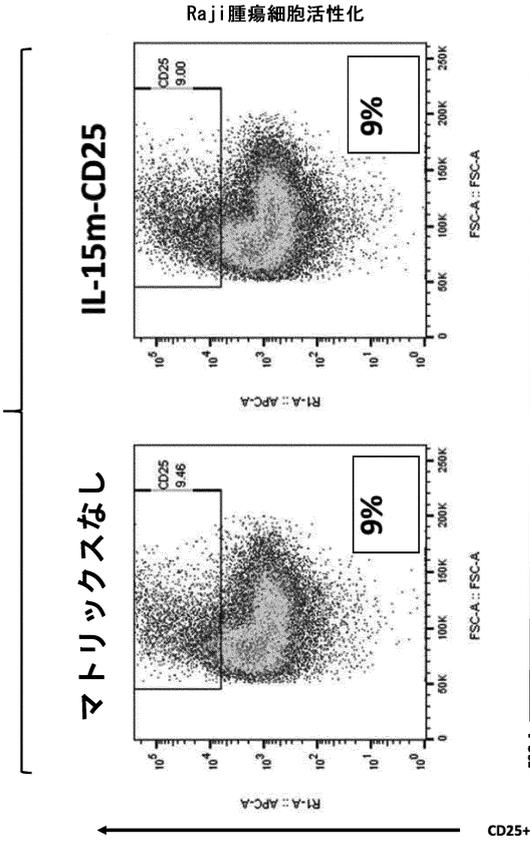
40

50

【 図 7 - 3 】

内在性 CD25 発現

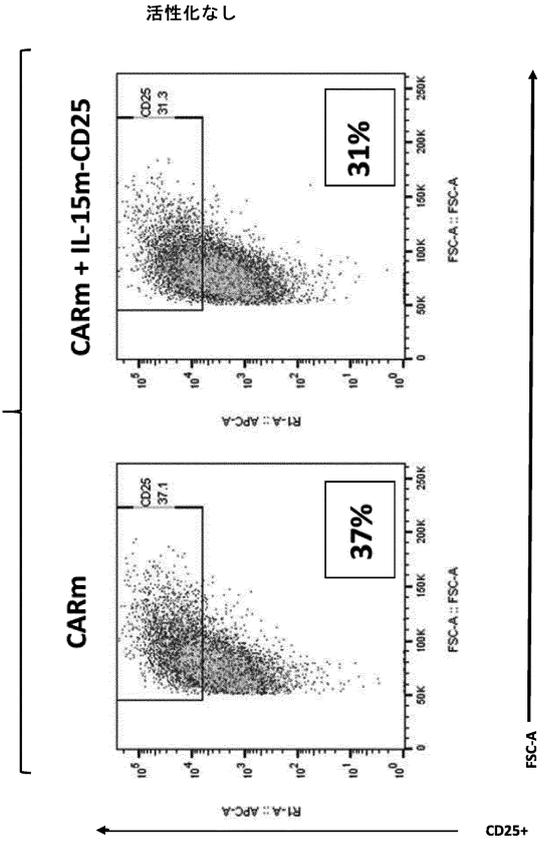
+ TALEN(登録商標)TRACおよびTALEN(登録商標)CD25



【 図 8 - 1 】

内在性 CD25 発現

+ TALEN(登録商標)TRACおよびTALEN(登録商標)CD25



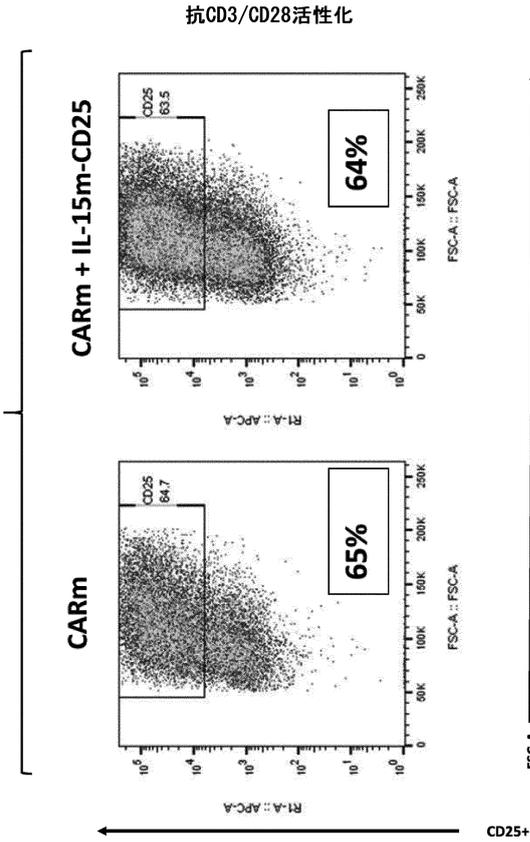
10

20

【 図 8 - 2 】

内在性 CD25 発現

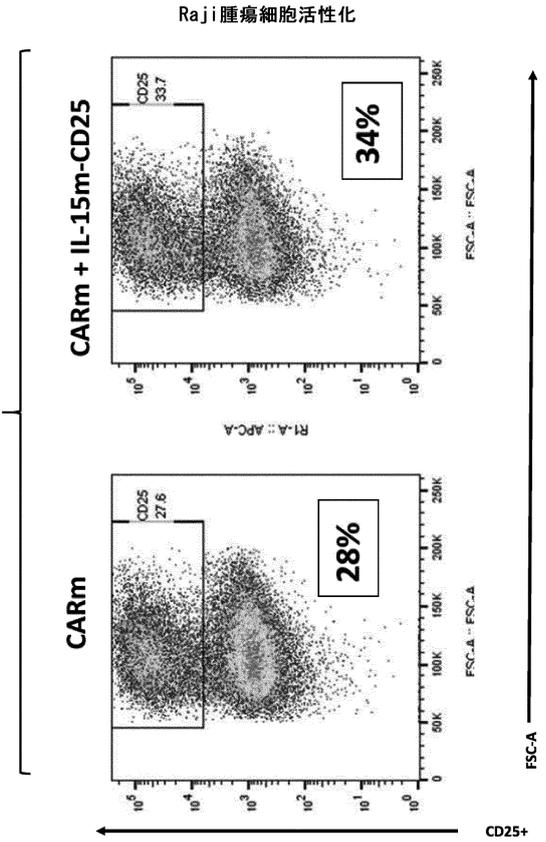
+ TALEN(登録商標)TRACおよびTALEN(登録商標)CD25



【 図 8 - 3 】

内在性 CD25 発現

+ TALEN(登録商標)TRACおよびTALEN(登録商標)CD25

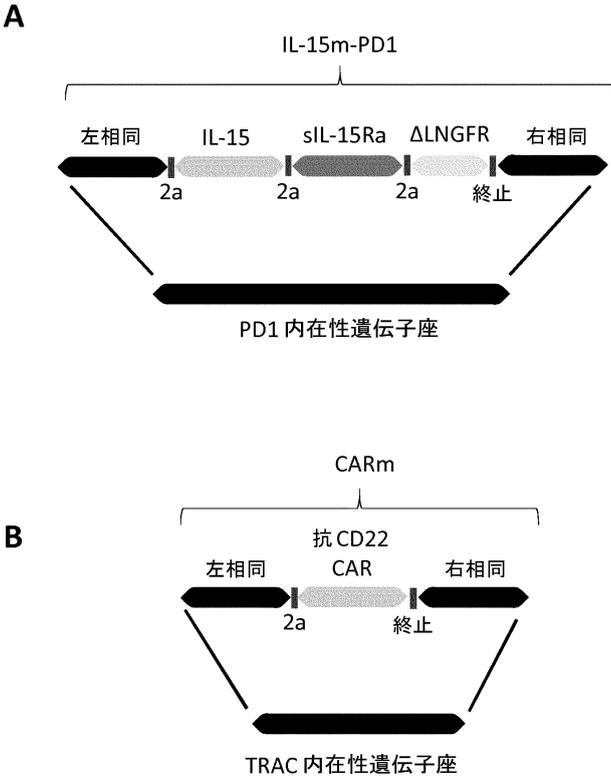


30

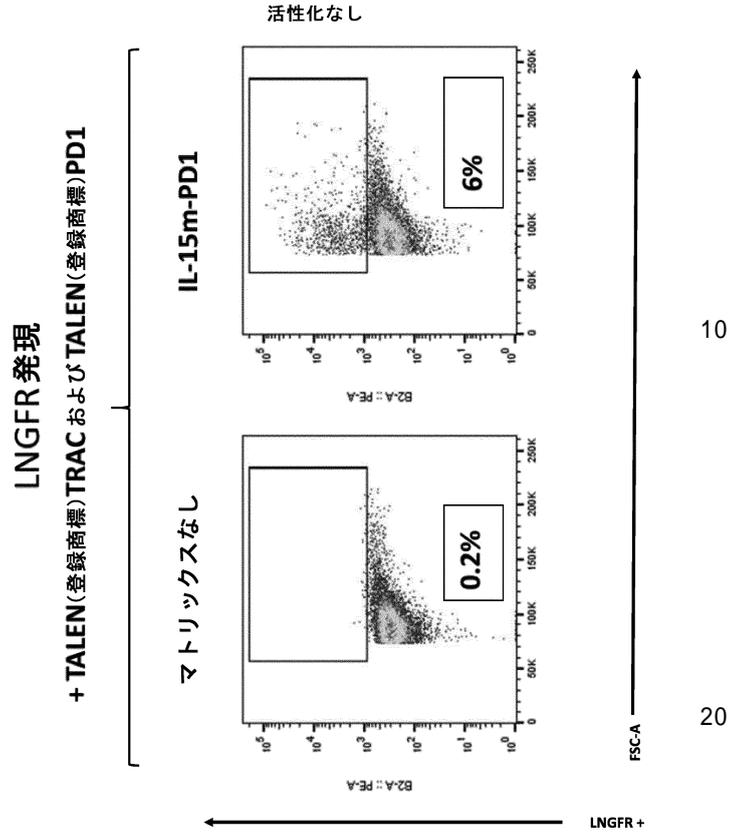
40

50

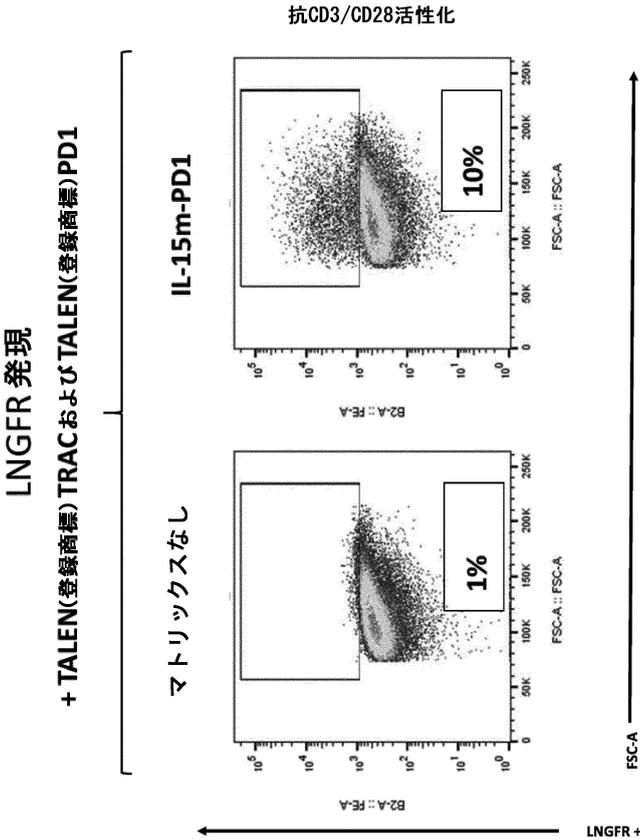
【 図 9 】



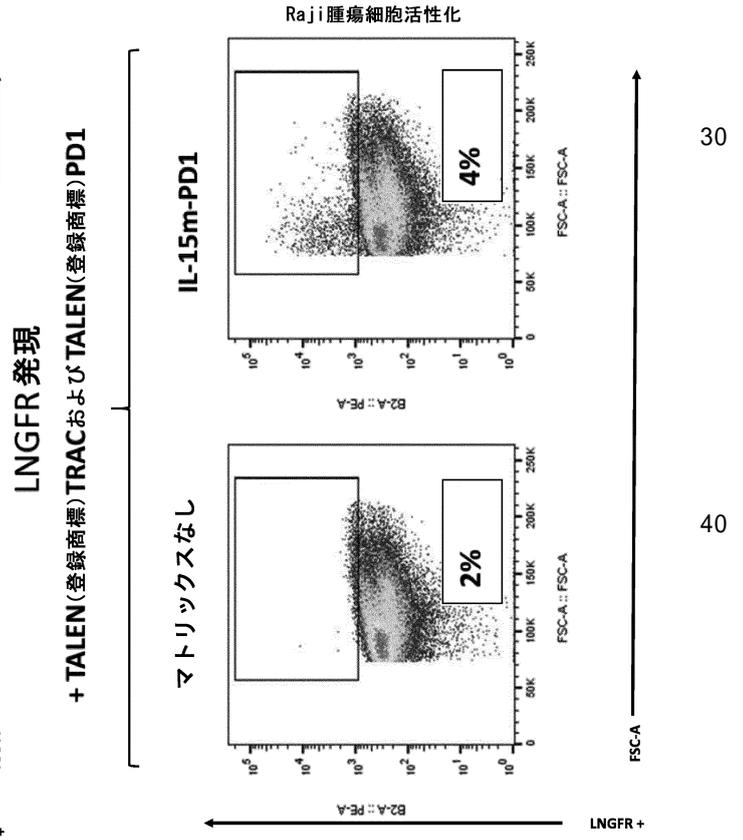
【 図 10 - 1 】



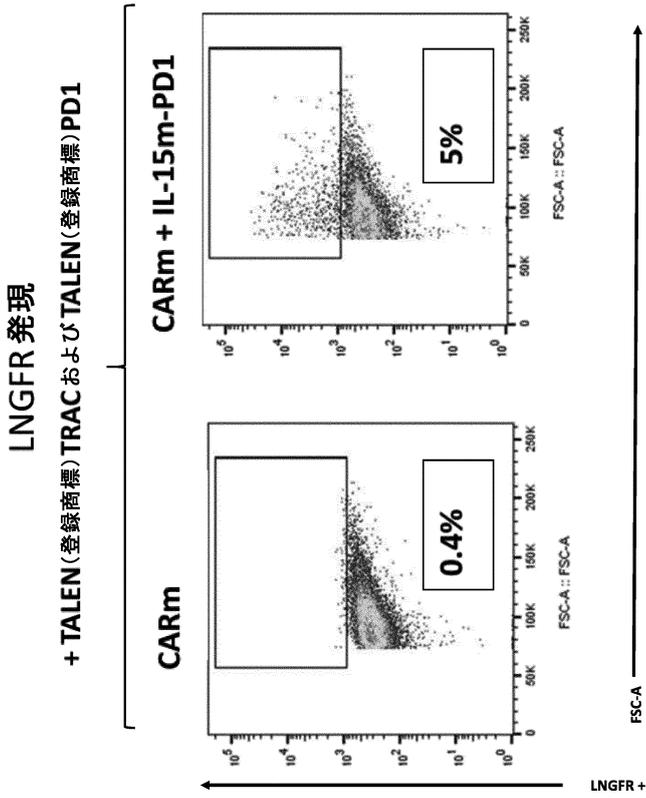
【 図 10 - 2 】



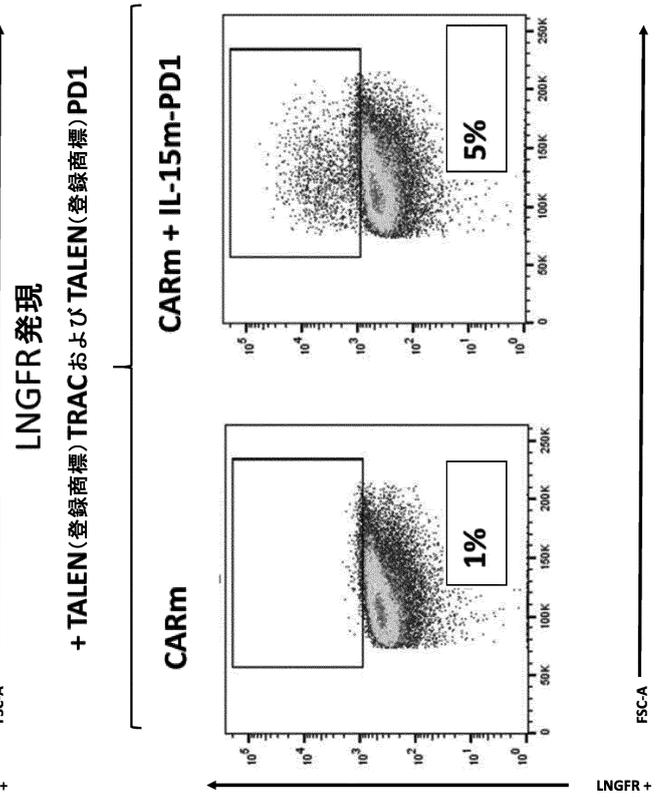
【 図 10 - 3 】



【 図 1 1 - 1 】



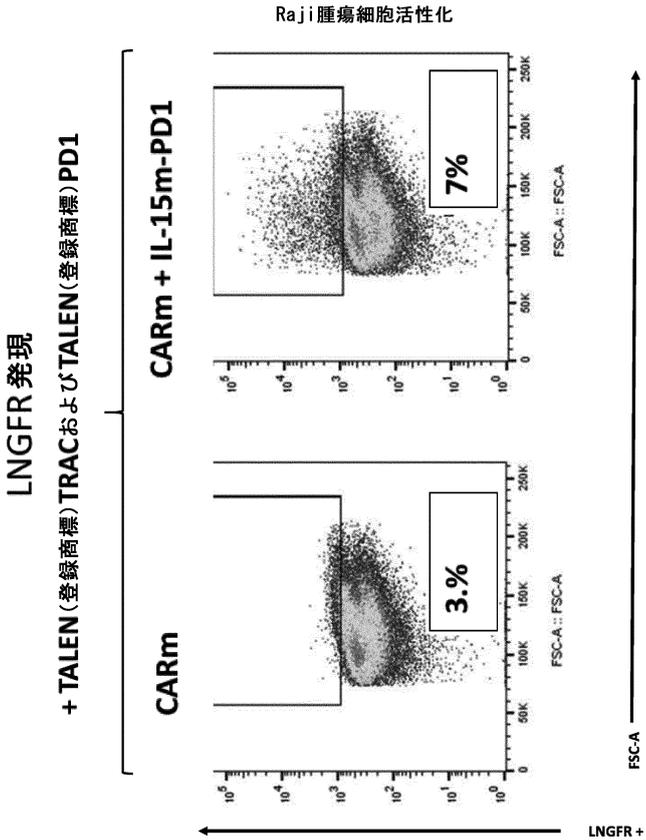
【 図 1 1 - 2 】



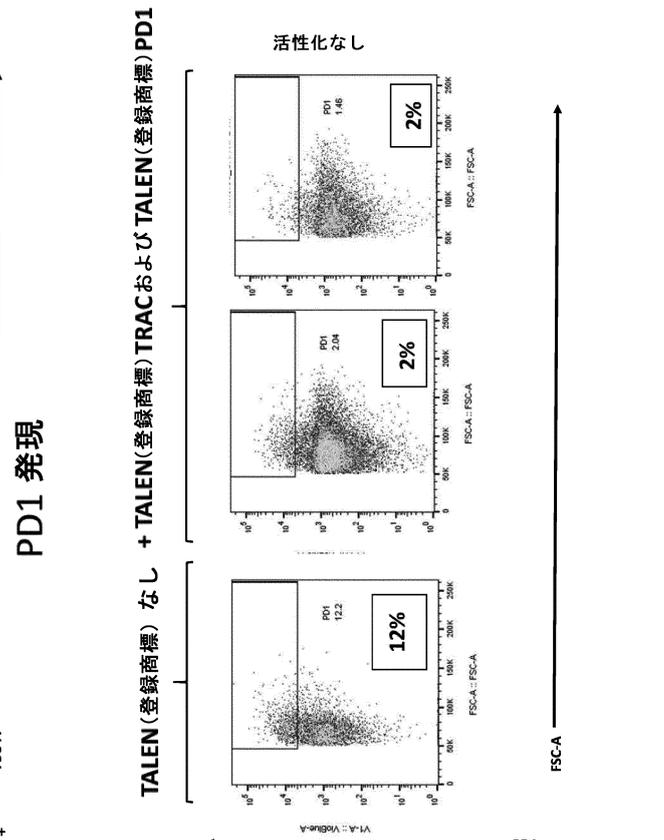
10

20

【 図 1 1 - 3 】



【 図 1 2 - 1 】

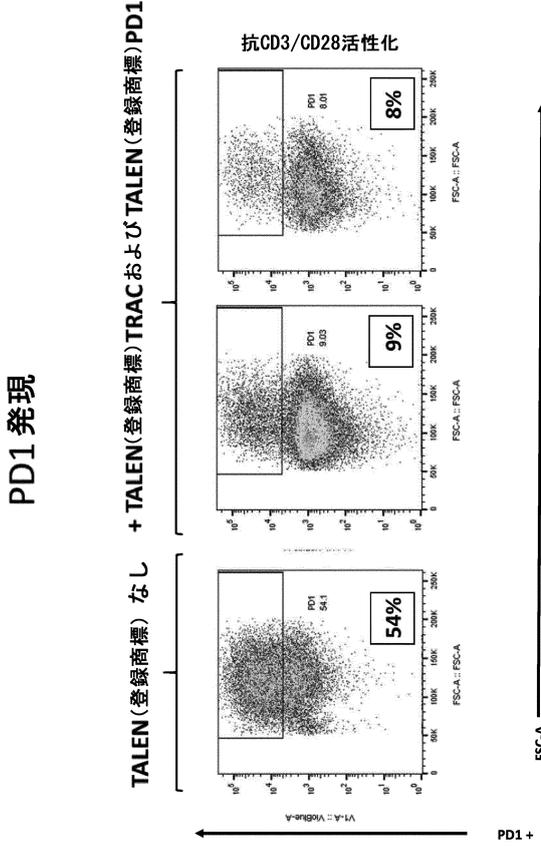


30

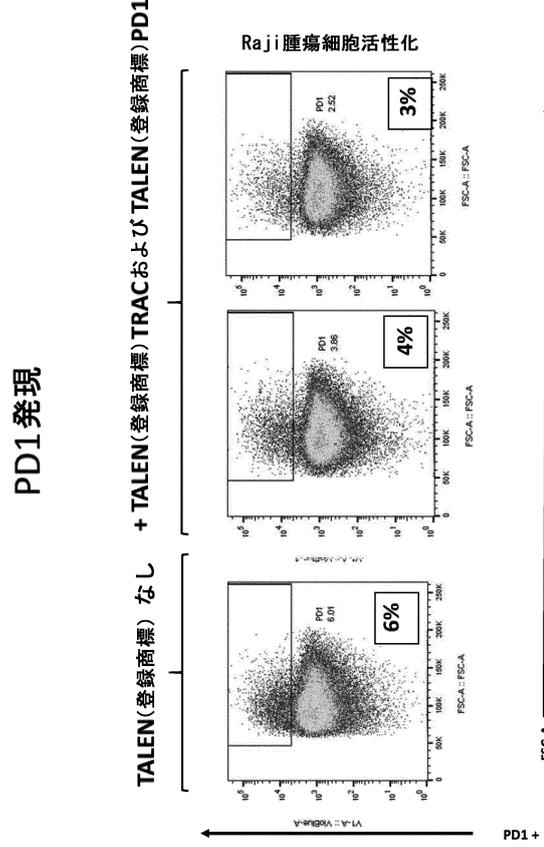
40

50

【 図 1 2 - 2 】



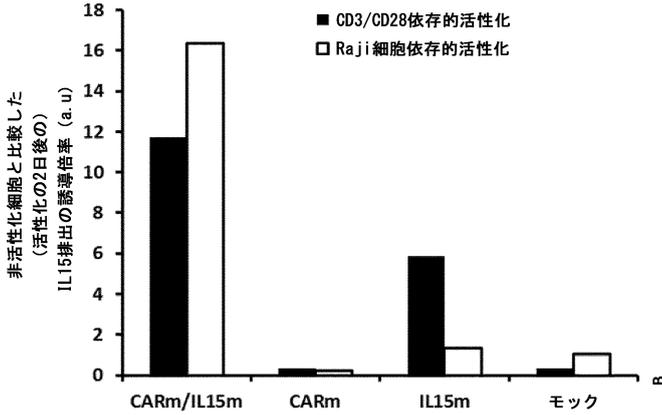
【 図 1 2 - 3 】



10

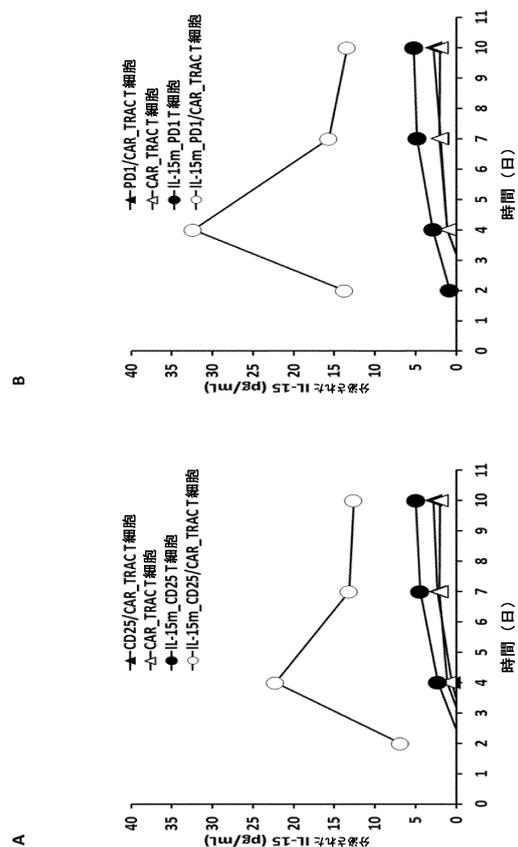
20

【 図 1 3 】



30

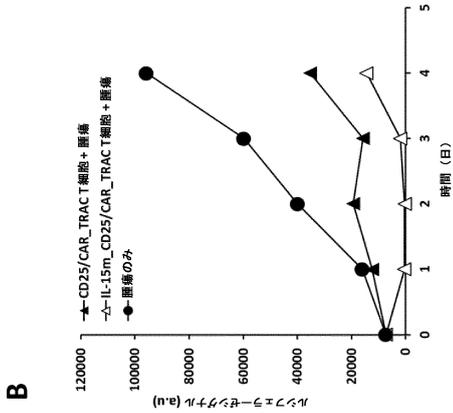
【 図 1 4 】



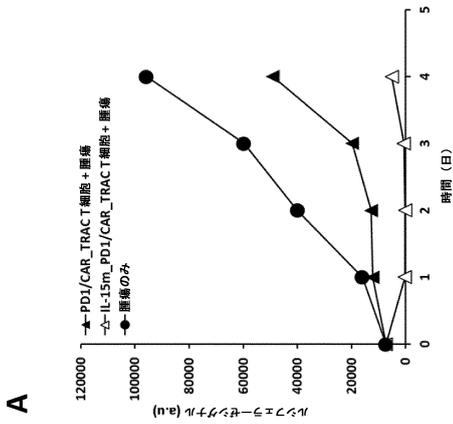
40

50

【 図 1 5 】

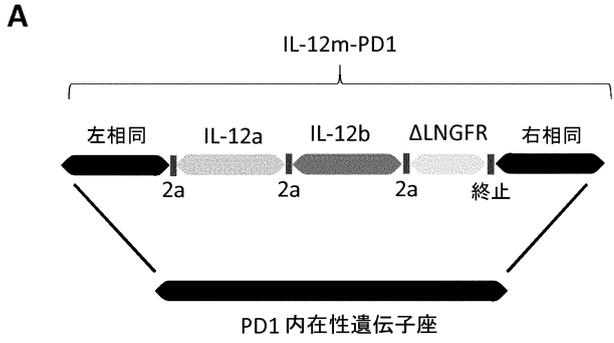


B

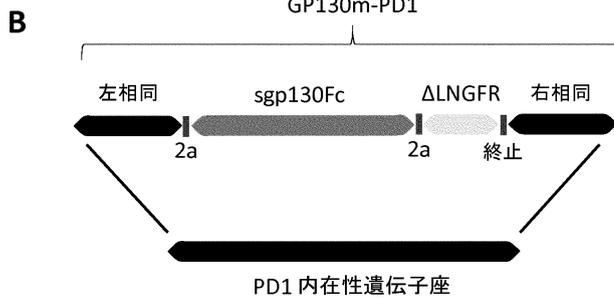


A

【 図 1 6 】

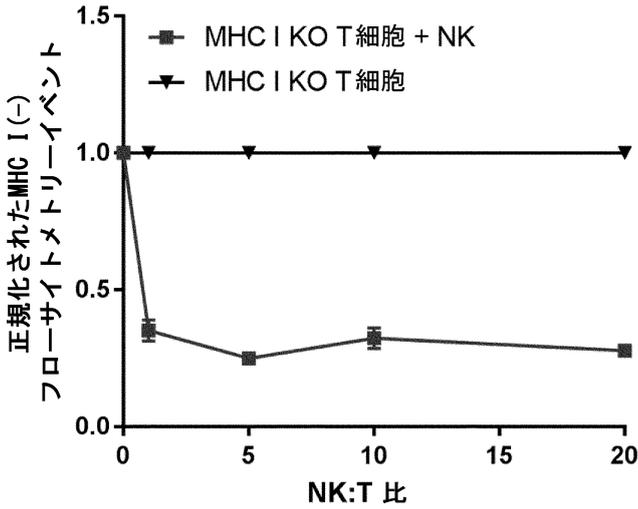


10

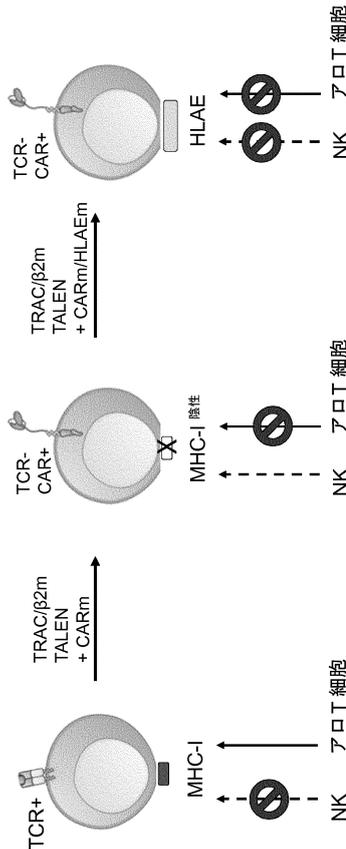


20

【 図 1 7 】



【 図 1 8 】



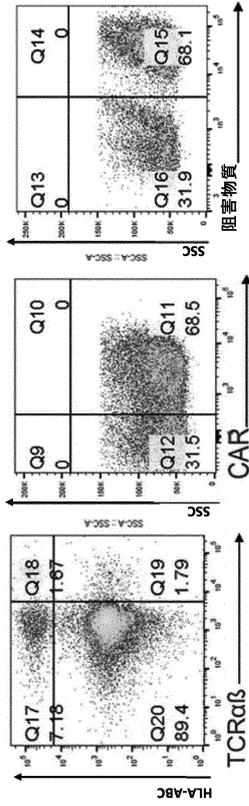
30

40

50

【 図 2 1 - 3 】

TRAC TALEN(登録商標)+CAR



10

20

TRAC/B2M TALEN(登録商標)+阻害物質

【 配列表 】

2023055884000001.app

30

40

50

【手続補正書】

【提出日】令和5年3月3日(2023.3.3)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

細胞免疫療法用の操作された初代免疫細胞を調製するための方法であって、
T細胞を含む細胞の集団を提供する工程；

10

該T細胞のある割合中に、

(i) 少なくとも1種類のNK細胞阻害物質をコードするように、選択された内在性遺伝子座に組み込まれる外来性ポリヌクレオチド配列を含む、少なくとも1種類の核酸；

(ii) 該選択された内在性遺伝子座を特異的に標的とする、少なくとも1種類の配列特異的試薬

を導入する工程

を含み、該外来性ポリヌクレオチド配列が、該内在性遺伝子座中への標的指向遺伝子組込みによって挿入される、前記方法。

【手続補正2】

20

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】配列表

【補正方法】変更

【補正の内容】

【配列表】

2023055884000001.xml

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

		F I		
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	T
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	Q
C 1 2 N	15/09 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N
C 1 2 N	15/12 (2006.01)	A 6 1 P	37/04	
C 1 2 N	15/33 (2006.01)	C 1 2 N	15/09	1 0 0
C 1 2 N	15/13 (2006.01)	C 1 2 N	15/12	
C 1 2 N	15/62 (2006.01)	C 1 2 N	15/33	
		C 1 2 N	15/13	
		C 1 2 N	15/62	Z

弁理士 刑部 俊

(74)代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048

弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506

弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100205707

弁理士 小寺 秀紀

(74)代理人 100114340

弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100121072

弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ビュッセル ブライアン

アメリカ合衆国 1 0 0 0 3 ニューヨーク州 ニューヨーク イースト テンス ストリート 7 0
アパートメント 4 エイチ

(72)発明者 ドゥシャトー フィリップ

フランス共和国 9 1 2 1 0 ドラヴェイユ ケ デ ダームス バトー ファウエン

(72)発明者 ジュイレラット アレクサンドル

アメリカ合衆国 1 0 0 2 8 ニューヨーク州 ニューヨーク イースト エイティセカンド ストリ
ート 4 4 4 # 5 エイ

(72)発明者 ポアロ ローラン

フランス共和国 7 5 0 2 0 パリ リュー ドゥ ラ リユニオン 1 0

(72)発明者 ヴァルトン ジュリアン

アメリカ合衆国 1 0 0 0 9 ニューヨーク州 ニューヨーク イースト トゥウェルフス ストリート
5 3 3 アpartment ナンバー 5 ディー